



Studi perbandingan metode oksidasi enzimatis terhadap aktivitas antioksidan ekstrak air teh kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.)

Brigita Ratna Harsanti*, Sulvi Purwayantie, Dzul Fadly

Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

Article history

Diterima:

27 Juni 2022

Diperbaiki:

16 Agustus 2022

Disetujui:

19 Agustus 2022

Keyword

Antioxidant activity;

Alkaloid;

Enzymatic oxidation;

Flavonoid;

Kratom;

Phenol total;

ABSTRACT

*One of the kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) products in Kapuas Hulu is fermented kratom tea powder, produced by the enzymatic oxidation process, which is very different from the processing of black tea. Until now, there has been no research on the manufacture of fermented kratom tea powder using the black tea enzymatic oxidation method. This study aimed to determine the differences between the enzymatic oxidation method to the antioxidant activity of water extract kratom tea. The technique used in this study was a comparative method to compare the data obtained from water extract kratom tea. The treatments compared were the manufacture of fermented kratom tea powder with the enzymatic oxidation method of the Kapuas Hulu community and the enzymatic oxidation method of black tea. The parameters tested in this study consisted of phenol content, flavonoid content, alkaloid content, and antioxidant activity. The study showed that the phenol and alkaloid contents were higher in product of black tea methods (199.22 mg GAE/g and 44.73%) than Kapuas Hulu traditional methods (50.45 mg GAE/g and 40.68%). Flavonoid content was higher in Kapuas Hulu traditional methods (169.32 mg QE/g) than black tea methods (48.77 mg QE/g). The difference was found in the antioxidant activity of the water extract kratom tea produced by two different enzymatic oxidation methods. The enzymatic oxidation of the black tea method was found to higher antioxidant activity of water extract kratom tea.*



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email : brigitaratnaharsanti@gmail.com

DOI 10.21107/agrointek.v18i2.15165

PENDAHULUAN

Tanaman kratom di Indonesia banyak dijumpai tumbuh di Kabupaten Kapuas Hulu, Provinsi Kalimantan Barat (Nugraha *et al.* 2018). Masyarakat di beberapa wilayah Kabupaten Kapuas Hulu memanfaatkan kratom sebagai sajian seperti teh dengan cara merebus daun kratom segar atau bubuk daun kratom. Konsumsi teh kratom ditujukan untuk menambah stamina, mengatasi nyeri, rematik, asam urat, hipertensi, gejala stroke, diabetes, susah tidur, luka, diare, batuk, kolesterol, tifus, dan menambah nafsu makan (Wahyono *et al.* 2019).

Manfaat teh kratom yang sangat banyak untuk pengobatan dikarenakan terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, fenol, alkaloid, tanin, dan saponin (Novindriani *et al.* 2013). Senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan yang sangat diperlukan untuk menangkap radikal bebas agar dapat melindungi sel dan jaringan dari stres oksidatif yang berhubungan dengan penyakit kronis (Rimbach *et al.* 2005; Marlina 2007).

Hasil wawancara dari PEKRINDO (Perkumpulan Pengusaha Kratom Indonesia) pada 8 September 2021 menyebutkan bahwa terdapat dua jenis bubuk teh kratom yang diproduksi oleh masyarakat Kapuas Hulu, yaitu bubuk teh kratom non fermentasi (bubuk hijau) dan bubuk teh kratom fermentasi (bubuk merah). PEKRINDO juga menyebutkan bahwa sejak tahun 2016 sudah terdapat permintaan untuk bubuk teh kratom fermentasi yang mencapai 300 kg per bulan.

Bubuk teh kratom fermentasi diproduksi melalui proses oksidasi enzimatis. Masyarakat di Kapuas Hulu telah melakukan proses oksidasi enzimatis untuk menghasilkan bubuk teh kratom fermentasi. Proses tersebut diawali dengan memasukkan daun kratom segar ke dalam kantong plastik bening hingga setengah dari kapasitas kantong, kemudian kantong dipenuhi dengan udara. Kantong tersebut diikat rapat dan dijemur 3-7 hari tergantung cuaca, sehingga didapatkan daun kratom yang berwarna coklat. Setelah itu, daun kratom yang sudah melalui proses oksidasi enzimatis dikeluarkan dari kantong dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 1-3 jam tergantung cuaca. Proses berikutnya adalah daun kratom tersebut dihaluskan sehingga diperoleh bubuk teh kratom fermentasi.

Proses oksidasi enzimatis yang dilakukan masyarakat di Kapuas Hulu sangat berbeda dengan pengolahan teh hitam pada umumnya yang juga melalui proses oksidasi enzimatis dan waktu pengolahannya lebih singkat. Proses oksidasi enzimatis yang telah dilakukan oleh masyarakat di Kapuas Hulu untuk menghasilkan bubuk teh kratom fermentasi membutuhkan waktu yang cukup lama karena sangat bergantung pada cuaca dan sinar matahari.

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan metode baru dalam pembuatan teh kratom fermentasi yang dapat dilakukan dalam waktu lebih singkat serta dapat mempertahankan aktivitas antioksidannya.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kratom segar dan bubuk teh kratom fermentasi yang diperoleh dari PEKRINDO, Kalimantan Barat. Bahan yang digunakan untuk analisis adalah etanol, akuades, metanol, reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3), asam galat, asam asetat, amonium hidroksida (NH_4OH), natrium nitrit (NaNO_2), aluminium klorida (AlCl_3), natrium hidroksida (NaOH), kuersetin, asam askorbat (vitamin C), reagen DPPH, aluminium foil, plastik *zip lock*, *cup* plastik, kertas saring dan plastik *wrap*.

Alat yang digunakan adalah tampah, *cool box*, loyang, blender, termometer, tabung reaksi, gelas ukur, gelas beaker, mikropipet, pipet tetes, pipet ukur, timbangan digital, timbangan analitik, oven, *magnetic stirrer*, penganas air, *vortex*, ayakan 80 *mesh*, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan uji deskriptif untuk mengetahui pengaruh metode oksidasi enzimatis terhadap bubuk teh kratom fermentasi yang dihasilkan dari dua metode berbeda, yaitu bubuk teh kratom hasil oksidasi enzimatis metode masyarakat Kapuas Hulu dan metode teh hitam. Penelitian ini dilakukan dengan 10 ulangan, sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Pengkodean dinyatakan sebagai berikut:

a1= metode masyarakat Kapuas Hulu (Metode KH)

a2= metode teh hitam (Metode TH)

Data yang diperoleh kemudian akan dianalisis menggunakan uji-t dengan taraf kepercayaan 95%.

Pelaksanaan Penelitian

Pemetikan Daun Kratom

Daun kratom dipetik pada bagian tangkai dengan menyisakan 4-6 pucuk daun pada setiap ranting.

Pembuatan Bubuk Teh Kratom

Proses oksidasi enzimatis diawali dengan pelayuan daun kratom selama 24 jam pada suhu ruang dan sesekali dibolak-balik agar proses pelayuan merata. Daun kratom yang telah layu, kemudian dilanjutkan dengan proses penggulungan. Proses penggulungan dilakukan dengan cara menggilas daun teh diatas tampah menggunakan tangan sampai sebagian besar cairan sel terperas keluar. Proses tersebut dapat dilakukan selama ± 10 menit di atas tampah sebanyak 3 kali pengulangan. Proses oksidasi enzimatis dilakukan selama 3 jam pada suhu ruang hingga daun berubah warna menjadi kecokelatan. Oksidasi enzimatis dihentikan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 1,5 jam, kemudian diblender untuk menghasilkan bubuk daun teh kratom. Bubuk teh kratom fermentasi yang dibuat menggunakan metode masyarakat di Kabupaten Kapuas Hulu diperoleh dari PEKRINDO Kalimantan Barat.

Pembuatan Ekstrak Air Teh Kratom

Pembuatan ekstrak air teh kratom diawali dengan menimbang bubuk teh kratom sebanyak 15g dan dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan 150ml air. Setelah itu, diinfusa dengan cara memanaskan menggunakan pemanas air pada suhu 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk. Setelah 15 menit, larutan infusa diambil dan disaring selagi panas melalui kertas saring. Proses ini diulangi sebanyak dua kali dengan residu dan pelarut yang sama sehingga total ekstraksi adalah 3 kali. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

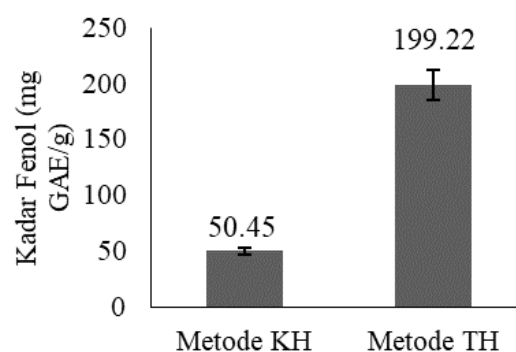
Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap ekstrak air teh kratom yang meliputi uji kadar fenol, uji kadar flavonoid, uji kadar alkaloid dan uji aktivitas antioksidan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji-t.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kadar Fenol

Hasil pengujian kadar fenol ekstrak air teh kratom disajikan pada Gambar 1. Kadar fenol pada ekstrak air teh kratom metode TH lebih tinggi daripada ekstrak air teh kratom metode KH. Kadar fenol ekstrak air teh kratom metode TH dan KH masing-masing yaitu sebesar $199,22 \pm 13,64$ mg GAE/g dan $50,45 \pm 3,05$ mg GAE/g. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Yoga *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa lamanya proses oksidasi enzimatis menyebabkan kadar fenol pada teh herbal daun bambu tabah berkurang. Pengaruh adanya oksigen dan suhu tinggi akan mengoksidasi senyawa fenol karena adanya ikatan tak jenuh dalam struktur molekulnya (Mahardani and Yuanita 2021).



Gambar 1 Kadar Fenol Ekstrak Air Teh Kratom

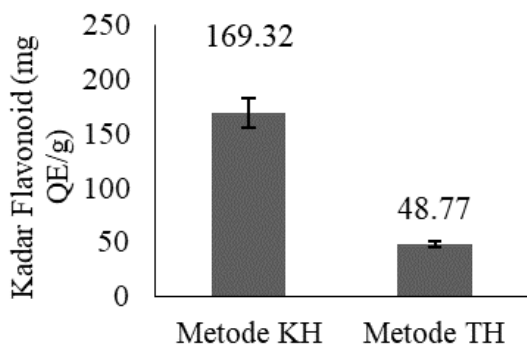
Proses oksidasi enzimatis metode KH dan proses pengeringannya membutuhkan waktu berhari-hari dengan suhu yang tidak stabil. Penurunan kadar fenol diduga disebabkan karena sifat senyawa fenol yang tidak tahan panas dan dapat rusak oleh panas (Wibisono *et al.* 2020). Suhu optimum untuk mempertahankan kadar fenol adalah 60°C . Pengeringan dengan suhu lebih dari 60°C akan merusak senyawa fenol dan kadarnya cenderung menurun (Sari *et al.* 2012). Menurut Liyana and Shahidi (2005), kandungan senyawa fenol menurun seiring dengan peningkatan suhu yang lebih tinggi, hal ini disebabkan terjadinya dekomposisi senyawa fenol.

Proses oksidasi enzimatis metode TH berlangsung di dalam ruangan dengan suhu lebih stabil. Pengeringan pada metode TH dilakukan menggunakan oven yang juga memiliki suhu stabil dan terpusat sehingga pemanasannya dapat merata serta menyeluruh sehingga kadar fenol yang dihasilkan tinggi (Suhesti 2019). Kadar fenol

yang tinggi juga dapat disebabkan karena adanya proses oksidasi enzimatis yang lebih baik pada metode TH. Selama proses oksidasi enzimatis terjadi peningkatan konsentrasi asam galat karena banyak katekin galat yang diubah menjadi katekin non galat dengan melepaskan asam galat bebas sebelum membentuk *theaflavin* (Kim *et al.* 2011).

Analisis Kadar Flavonoid

Hasil pengujian kadar flavonoid ekstrak air teh kratom disajikan pada Gambar 2. Hasil menunjukkan bahwa kadar flavonoid ekstrak air teh kratom yang dibuat menggunakan metode KH yaitu sebesar $169,32 \pm 13,61$ mg QE/g, lebih tinggi daripada ekstrak air teh kratom yang dibuat dengan metode TH yaitu sebesar $48,77 \pm 2,27$ mg QE/g. Hasil penelitian ini sesuai pernyataan bahwa proses oksidasi merupakan salah satu proses yang dapat menyebabkan berkurangnya kandungan flavonoid pada teh (Lelita *et al.* 2013).



Gambar 2 Kadar Flavonoid Ekstrak Air Teh Kratom

Flavonoid utama dalam teh adalah katekin (Habiburrohman and Sukohar, 2018). Katekin merupakan senyawa yang diperlukan untuk terjadinya proses oksidasi enzimatis, dimana katekin mengalami perubahan menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Fulder 2004). Berdasarkan penelitian Gogineni *et al.* (2014), kratom juga diketahui mengandung salah satu jenis katekin yaitu epikatekin. Proses oksidasi enzimatis berawal dari proses keluarnya cairan pada sel daun saat penggulungan, cairan tersebut mengandung senyawa flavonoid yang berada pada vakuola daun akan diubah menjadi *theaflavin* dan *thearubigin* (Liem and Herawati 2021).

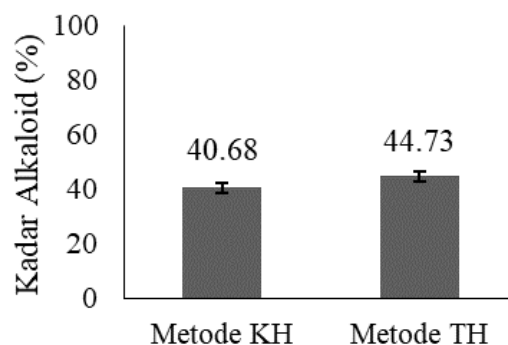
Pembuatan teh kratom fermentasi menggunakan metode KH tidak melalui tahap penggulungan dan hanya melalui proses penjemuran, sedangkan metode TH melalui tahap penggulungan. Saat penjemuran terjadi proses penurunan kadar air pada daun, disamping itu

terjadi juga peningkatan pada permeabilitas membran sel daun sehingga enzim polifenol oksidase dengan flavonoid tercampur. Oksidasi enzimatis berpotensi untuk terjadi namun tidak optimal jika dibandingkan dengan proses penggulungan (Liem and Herawati, 2021).

Menurut Kim *et al.* (2011), flavonol glikosida yang terkandung pada teh akan berkurang selama proses oksidasi enzimatis. Pengurangan flavonol glikosida diduga terjadi karena degradasi oksidatif. Hal ini menyebabkan ekstrak air teh kratom metode teh hitam memiliki kadar flavonoid yang lebih rendah. Penelitian Karori *et al.* (2007) juga menunjukkan bahwa perbedaan proses pengolahan akan menghasilkan perbedaan kandungan flavonoid pada teh hitam.

Analisis Kadar Alkaloid

Kadar alkaloid dari kedua ekstrak air teh kratom disajikan pada Gambar 3. Persentase alkaloid ekstrak air teh kratom metode TH lebih tinggi dari metode KH yaitu masing-masing sebesar $44,73 \pm 1,87\%$ dan $40,68 \pm 1,79\%$. Alkaloid diketahui tahan terhadap proses oksidasi enzimatis dalam pembuatan teh hitam (Kelebek 2016), karena enzim yang mengkatalisis proses tersebut adalah enzim polifenol oksidase (Hafezi *et al.* 2006). Alkaloid tidak termasuk dalam golongan senyawa polifenol, tetapi senyawa ini juga dapat mengalami dekomposisi karena panas dari sinar matahari dan dengan adanya oksigen membentuk N-oksida (Sastrohamidjojo 1996). Senyawa alkaloid yang terkandung dalam kratom diketahui tidak stabil pada suhu tinggi. Kedua senyawa tersebut akan terdegradasi secara signifikan pada suhu 60°C (Basiliere and Kerrigan 2020).

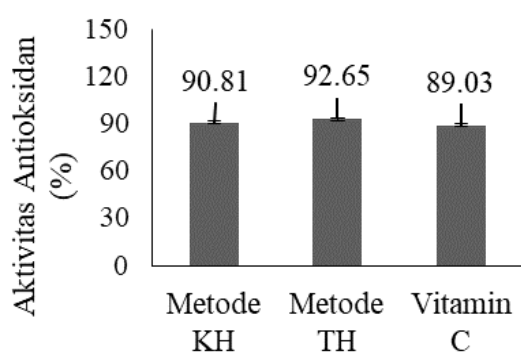


Gambar 3 Kadar Alkaloid Ekstrak Air Teh Kratom

Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari kedua ekstrak air teh kratom disajikan pada Gambar 4. Hasil

menunjukkan bahwa ekstrak air teh kratom metode TH memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang lebih tinggi yaitu sebesar $92,65 \pm 0,72\%$. Persentase aktivitas antioksidan ekstrak air teh kratom metode KH yaitu sebesar $90,81 \pm 0,52\%$. Vitamin C (asam askorbat) sebagai kontrol positif memiliki aktivitas antioksidan sebesar $89,03 \pm 0,55\%$. Vitamin C dipilih karena umum digunakan dalam berbagai pengujian aktivitas antioksidan (Molyneux 2004), selain itu vitamin C juga tergolong ke dalam senyawa antioksidan yang sangat kuat (Lung and Destiani 2017). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak air teh kratom metode KH dan TH memiliki kemampuan menangkap radikal bebas lebih tinggi daripada kontrol positif. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekundernya seperti senyawa fenol, flavonoid dan alkaloid (Marliana 2007).



Gambar 4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Teh Kratom

Kadar fenol pada ekstrak air teh kratom metode TH yang tinggi mendukung aktivitas antioksidan. Gugus hidroksil pada cincin aromatik fenol dapat berperan sebagai donor hidrogen untuk menstabilkan radikal (Lukiati 2014). Senyawa fenol diketahui memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak air berbagai tanaman, semakin tinggi kadar fenol maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Kopjar *et al.* 2009).

Kadar flavonoid pada ekstrak air teh kratom metode teh hitam yang lebih rendah menandakan katekin pada daun kratom banyak yang diubah menjadi *theaflavin* dan *thearubigin*. Penelitian Shabri and Maulana (2017) mendapatkan bahwa semakin tinggi kandungan *theaflavin* dalam dosis, aktivitas penangkapan radikal bebasnya semakin kuat. Beberapa hasil penelitian juga menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dan efek penghambatan sel kanker dari *theaflavin* setara

bahkan tidak sedikit yang menyatakan bahwa *theaflavin* lebih potensial daripada katekin (Bedran *et al.* 2015; Friedman *et al.* 2006; Krishnan and Maru 2004). Manfaat *theaflavin* berkaitan dengan banyaknya gugus hidroksil (-OH). Gugus hidroksil ini dapat berfungsi sebagai antioksidan, karena semakin banyak gugus hidroksil suatu senyawa, maka kemampuannya sebagai senyawa antioksidan semakin baik (Shabri and Maulana 2017).

Alkaloid turut bertanggung jawab dalam memberikan aktivitas antioksidan karena mengandung gugus fungsi OH dan NH yang dapat mendonorkan hidrogennya (Dalimunthe *et al.* 2018). Mitraginin dan 7-hidroksimitraginin yang banyak terkandung dalam kratom termasuk dalam senyawa indol alkaloid (Meireles *et al.* 2019). Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien (Yuhernita and Juniarti 2011). Menurut Sulandi (2013), semakin tinggi kadar alkaloid maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Menurut Kukhtar (2007), lama proses oksidasi enzimatis berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan karena dapat mengakibatkan hilangnya beberapa komponen antioksidan akibat reaksi oksidasi enzimatis. Saat proses oksidasi enzimatis, banyak senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan berubah atau hilang (Fulder 2004). Menurut Rahmawati (2015), semakin lama oksidasi enzimatis maka akan semakin rendah aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

Pengolahan kratom dengan metode fermentasi teh hitam dapat menghasilkan kadar fenol, flavonoid, dan alkaloid yang lebih tinggi dan lebih menguntungkan untuk dikerjakan oleh masyarakat Kapuas Hulu. Kemudian, disarankan pada studi selanjutnya untuk menentukan waktu proses oksidasi teh hitam yang paling tepat agar memperoleh bubuk teh kratom fermentasi dengan karakteristik yang terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Perkumpulan Pengusaha Kratom Indonesia yang telah mendukung dan membantu dalam memberikan informasi untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Basilieri, S., and Kerrigan, S. 2020. Temperature and pH-dependent stability of mitragyna alkaloids. *Journal of Analytical Toxicology*, 44(4), 314-324. doi: <https://doi.org/10.1093/jat/bkz103>
- Bedran, T. B. L., Morin, M. P., Spolidorio, D. P., and Grenier, D. 2015. Black tea extract and its theaflavin derivatives inhibit the growth of periodontopathogens and modulate interleukin-8 and b-defensin secretion in oral epithelial cells. *Plos One*, 10(11), 1-11. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143158>
- Dalimunthe, A., Hasibuan, P. A. Z., Silalahi, J., Sinaga, S. F., and Satria, D. 2018. Antioxidant activity of alkaloid compounds from *Litsea cubeba* Lour. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(2), 1149. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/340270>
- Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., Mandrell, R. E., and Kozukue, N. 2006. Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection*, 69(2), 354-361. doi: 10.4315/0362-028x-69.2.354
- Fulder, S. 2004. *Khasiat teh hijau*. Prestasi Pustaka Publisher, Jakarta.
- Gogineni, V., Leon, F., Avery, B. A., Mccurdy, C., and Cutler, S. J. 2014. *Phytochemistry of Mitragyna speciosa*. CRC Press, Boca Raton.
- Habiburrohman, D., and Sukohar, A. 2018. Aktivitas antioksidan dan antimikrobal pada polifenol teh hijau. *Agromedicine*, 5(2), 587-591.
- Hafezi, M., Nasernejad, B., and Vahabzadeh, F. 2006. Optimization of fermentation time for iranian black tea production. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 25(1), 39-44. doi: 10.30492/IJCCE.2006.8097
- Karori, S. M., Wachira, F. N., Wanyoko, J. K., and Ngunjiri, R. M. 2007. Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6(19), 2287-2296. doi: 10.5897/AJB2007.000-2358
- Kelebek, H. 2016. LC-DAD-ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in turkish black tea: effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227-238. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.132>
- Kim, Y., Goodner, K. L., Park, J. D., Choi, J., and Talcott, S. T. 2011. Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*, 129(4), 1331-1342. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.012>
- Kopjar, M., Piližota, V., Hribar, J., and Simčić, M. 2009. Total phenol content and antioxidant activity of water solutions of plant extracts. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 1(1), 1-7.
- Krishnan, R., and Maru, G. B. 2004. Inhibitory effect(s) of polymeric black tea polyphenol fractions on the formation of [3H]-B (a) p-derived DNA adducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4261-4269. doi: <https://doi.org/10.1021/jf049979o>
- Kukhtar, H. 2007. Abstract of talk at international millennium tea convention New Delhi, India. Department of Dermatology Case Western Reserve University Cleveland.
- Lelita, D. I., Rohadi, R., and Putri, A. S. 2013. Sifat antioksidatif ekstrak teh (*Camellia sinensis* Linn.) jenis teh hijau, teh hitam, teh oolong dan teh putih dengan pengeringan beku (freeze drying). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 13(1), 15-30. doi: <http://dx.doi.org/10.26623/jtphp.v13i1.2372>
- Liem, J. L., and Herawati, M. M. 2021. Pengaruh umur daun teh dan waktu oksidasi enzimatis terhadap kandungan total flavonoid pada teh hitam (*Camellia sinesis*). *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 10(1), 41-48. doi: <http://dx.doi.org/10.23960/jtep-l.v10i1.41-48>
- Liyana-Pathirana, C., and Shahidi, F. 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93(1), 47-56. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.050>
- Lukiati, B. 2014. Penentuan aktivitas antioksidan dan kandungan fenol total ekstrak daun gendola (*Basella rubra* Linn) dan daun

- binahong (*Anredera cordifolia* Stennis) sebagai kandidat obat herbal. Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS (hlm. 195-200). 11 Juni 2014. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Lung, J. K. S., and Destiani, D. P. 2017. Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62. doi: <https://doi.org/10.24198/jf.v15i1.12805>
- Mahardani, O. T., and Yuanita, L. 2021. Efek metode pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 64-78.
- Marliana, E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll dan Moritzi) benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*, 1(1), 23-29.
- Meireles, V., Rosado, T., Barroso, M., Soares, S., Gonçalves, J., Luís, Â., Caramelo, D., Simão, A., Fernández, N., Duarte, A., and Gallardo, E. 2019. *Mitragyna speciosa*: clinical, toxicological aspects and analysis in biological and non-biological samples. *Medicines*, 6(35), 1-21. doi: 10.3390/medicines6010035
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(1), 211-219.
- Novindriani, D. 2013. Uji efek sedatif infusa daun kratom (*Mitragyna speciosa*) pada mencit jantan galur balb/C. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3(1), 1-8.
- Nugraha, W. I., and Robiyanto, S. L. 2018. Aktivitas antinosiseptif fraksi air daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) pada mencit jantan swiss. *Traditional Medicine Journal*, 23(2), 91-96. doi: 10.22146/mot.32085
- Rahmawati, N. D. 2015. Aktivitas antioksidan dan total fenol teh herbal daun pacar air (*Impatiens balsamina*) dengan variasi lama fermentasi dan metode pengeringan. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan.
- Rimbach, G., Fuchs, J., and Packer, L. 2005. Application of nutrigenomics tools to analyze the role of oxidants and antioxidants in gene expression. *Oxidative Stress and Disease*, 17(1), 1-12.
- Sari, D. K., Wardhani, D. H., and Prasetyaningrum, A. 2012. Pengujian kandungan total fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan metode ekstraksi ultrasonic dengan variasi suhu dan waktu. Jurusan teknik kimia fakultas teknik UNDIP. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi (hlm. 40-44). Juli 2012. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. Sintesis bahan alam. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Shabri, S., and Maulana, H. 2017. Synthesis and isolation of theaflavin from fresh tea leaves as bioactive ingredient of antioxidant supplements. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 20(1), 1-12. doi: 10.22302/pptk.jur.jptk.v20i1.120
- Suhesti, I. 2019. Penentuan total fenol dan nilai sun protection factor (SPF) ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierr A. Froehner). Prosiding Indonusa Conference on Technology and Social Science (hlm. 67-74). 16 November 2019. Surakarta: Politeknik Indonusa Surakarta.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum (*Cayratia trifolia*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1), 1-8.
- Wahyono, S., Widowati, L., Handayani, L., Sampurno, O. D., Haryanti, S., Fauzi, F., Ratnawati, G., and S. Budiarti, M. 2019. Kratom: prospek kesehatan dan sosial ekonomi. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Wibisono, Y., Izza, N., Savitri, D., Dewi, S. R., and Putranto, A. W. 2020. Ekstraksi senyawa fenolik dari bawang putih (*Allium sativum* L.) untuk agen anti-biofouling pada membran. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosist*, 8(1), 100-109. doi: <https://doi.org/10.29303/jrpb.v8i1.165>
- Yoga, I. G. A. A., Kencana, P. K. D., and Sumiyati, S. 2021. Pengaruh lama fermentasi dan lama pengeringan terhadap karakteristik teh herbal daun bambu tabah (*Gigantochloa nigrociliata* Buse-Kurz). *Jurnal Biosistem dan Teknik Pertanian*,

10(1), 72-81. doi:
<https://doi.org/10.24843/JBETA.2022.v10.i01.p07>

Yuhernita, Y., and Juniarti, J. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Journal of Science*, 15(1), 48-52. doi:
<https://doi.org/10.7454/mss.v15i1.877>