

**STUDI KOMPARATIF EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN UMBI BAWANG DAYAK
(*Eleutherine americana*) DENGAN TEKNIK EKSTRAKSI INFUSA DAN MASERASI**

Nur Ihsan Kamilah*, Sigit Cahyo Hardiansyah, Adi Saputra

STIK Siti Khadijah Prodi S1 Farmasi, Palembang

*Corresponding author's email: lilynuri22@gmail.com

DOI: 10.33088/jp.v4i2.1102

ABSTRACT

Increased pollution and modern lifestyle can increase the production of free radicals in the body. If not controlled, excessive amounts of free radicals can reduce the quality of life, trigger various health problems, and even cause death. Therefore, natural antioxidants are needed to protect the body. Natural antioxidants tend to be safer than synthetic antioxidants. Dayak onion (*Eleutherine americana*) as a traditional medicinal plant has potential as a source of antioxidants. The utilization of Dayak onion is still traditionally taking the juice of the tuber by boiling and drinking the cooking water. The purpose of this study was to compare the antioxidant effectiveness of dayak onion (*Eleutherine americana*) bulb extract produced from two extraction techniques, namely infusa and maceration. This research method is an experiment that tests the antioxidant effectiveness of infusa and maceration of dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*). The test was conducted using DPPH method and UV-Vis Spectrophotometry. The results showed that the extract of dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*) from maceration had very strong antioxidant effectiveness (IC_{50} 47.85 ppm). This figure is much better than infusa (IC_{50} 110.65 ppm) which only has a moderate category. Although it is still below vitamin C (IC_{50} 7.49 ppm). It can be concluded that maceration of dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*) is proven to have higher antioxidant effectiveness than its infusion. However, the antioxidant power of both dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*) samples is still lower when compared to vitamin C.

Keywords: Antioxidants, Dayak Onion Bulbs, DPPH

ABSTRAK

Perkembangan polusi dan gaya hidup modern dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam tubuh. Jika tidak dikendalikan, jumlah radikal bebas yang berlebihan dapat menurunkan kualitas hidup, memicu berbagai gangguan kesehatan, dan bahkan menyebabkan kematian. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan alami untuk melindungi tubuh. Antioksidan alami cenderung lebih aman dibandingkan antioksidan sintetik. bawang dayak (*Eleutherine americana*) sebagai tanaman obat tradisional memiliki potensi sebagai sumber antioksidan. Pemanfaatan bawang dayak masih secara tradisional mengambil sari umbinya dengan cara merebus dan meminum air rebusannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan efektivitas antioksidan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) yang dihasilkan dari dua teknik ekstraksi yaitu infusa dan maserasi. Metode penelitian ini merupakan eksperimen yang menguji efektivitas antioksidan dari infusa dan maserasi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*). Pengujian dilakukan menggunakan metode DPPH dan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian diperoleh ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) dari maserasi memiliki efektivitas antioksidan yang sangat kuat (IC_{50} 47.85 ppm). Angka ini jauh lebih baik daripada infusa (IC_{50} 110.65 ppm) yang hanya memiliki kategori sedang. Meskipun masih di bawah vitamin C (IC_{50} 7.49 ppm). Dapat disimpulkan bahwa maserasi umbi bawang Dayak (*Eleutherine americana*) terbukti memiliki efektivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding infusanya. Namun, daya antioksidan dari kedua sampel umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) tersebut masih lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C.

Kata Kunci: Antioksidan, Umbi Bawang Dayak, DPPH

PENDAHULUAN

Gaya hidup masyarakat yang tidak sehat dan polutan lingkungan termasuk salah satu sumber terbentuknya radikal bebas yang beresiko menurunkan kualitas hidup dengan adanya berbagai degeneratif. Di satu sisi, radikal bebas penting untuk kesehatan, namun di sisi lain, zat ini juga bisa sangat merusak dan berbahaya jika jumlahnya tidak terkendali apabila pembentukan reaksi berantai radikal bebas terus berlanjut di dalam tubuh manusia. Antioksidan endogen yang tidak dapat meredam radikal bebas, menyebabkan kemampuan sel dalam beradaptasi dengan lingkungannya akan mengalami penurunan, sehingga menimbulkan gangguan kesehatan dan pada akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel atau kematian seseorang (Irianti *et al.*, 2017).

Untuk menekan reaksi berantai radikal bebas, penting untuk memperkuat jaringan pertahanan antioksidan. Oleh karena itu, perlu diketahui senyawa-senyawa alami yang dapat bertindak sebagai penetral. Sayur dan buah-buahan merupakan sumber antioksidan alami yang mampu mengurangi risiko penyakit dan memiliki efek positif pada kesehatan (Handajani, 2019). Saat ini, kemunculan obat herbal di berbagai negara, memberikan landasan utama untuk mengoptimalkan banyak studi tentang pemanfaatan yang tepat karena faktanya sangat menguntungkan dan aman karena sedikit efek samping (Rosalia *et al.*, 2022).

Antioksidan alami menjadi alternatif karena adanya kekhawatiran mengenai efek samping yang mungkin ditimbulkan oleh antioksidan sintetik. Penggunaan antioksidan sintetik jangka panjang, memiliki efek toksik pada tubuh, seperti menyebabkan pembengkakan parah pada hati dan otak, serta penurunan berat badan (Irianti *et al.*, 2017). Antioksidan alami cenderung lebih aman dan bermanfaat bagi

kesehatan jika dibandingkan dengan antioksidan sintetik (Rokhmah *et al.*, 2022). Salah satu jenis tanaman obat tradisional yang mempunyai aktivitas antioksidan yaitu bawang Dayak (*Eleutherine americana*). Berdasarkan data studi fitokimia yang meneliti senyawa-senyawa yang terdapat pada bawang dayak, terbukti banyak aktivitas farmakologi yang potensial sebagai alternatif pengobatan untuk beragam penyakit (Rosalia *et al.*, 2022).

Riset yang dilakukan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) karena adanya senyawa fenolat dan flavonoid (Laila *et al.*, 2022). Dengan nilai IC_{50} 41.46 ppm, ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine americana*) Sulawesi Utara menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Mokoginta *et al.*, 2020). Pada penelitian lain, ekstrak etanol bawang Dayak (*Eleutherine americana*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} sebesar 62.71 μ g/mL (Setiawan dan Febriyanti, 2017).

Secara garis besar, pemanfaatan bawang dayak masih dalam tahap empiris. Mayoritas masyarakat Indonesia secara tradisional mengambil sari umbi bawang dayak dengan cara merebus dan meminum air rebusannya (Atikah, 2021). Berdasarkan hal ini dan berpedoman pada penelitian sebelumnya, memotivasi kami untuk mengkaji lebih lanjut terkait study komparatif yang membandingkan efektivitas antioksidan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) yang dihasilkan dari dua teknik ekstraksi yaitu infusa dan maserasi dengan metode DPPH dan Spektrofotometri UV-Vis melihat nilai IC_{50} yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang menguji efektivitas antioksidan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) dari infusa dan maserasi. Pengujian dilakukan menggunakan metode DPPH dan Spektrofotometri UV-Vis.

Objek Penelitian

Objek penelitian adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) yang diperoleh dari Daerah Baturaja Sumatera Selatan dan telah di determinasi di Laboratorium Generasi Biologi Indonesia di Gresik, Jawa Timur (BT042441).

Alat dan Bahan

Spektrofotometer UV-Vis, kuvet, pipet volume, mikropipet, botol maserasi warna coklat, *rotary evaporator*, dan *waterbath*. Bahan-bahan yang dibutuhkan, antara lain umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*), pereaksi DPPH (*1,1 difenil-2-pikrilhidrazil*), air, etanol 96%, aquadest, vitamin C p.a, serbuk Mg, HCl pekat, pereaksi *dragendroff*, pereaksi *Liebermann-Burchard*, eter, H₂SO₄ 2N, dan FeCl₃.

Ekstraksi Infusa Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana*)

Timbang 10 gram serbuk simplisia Umbi bawang dayak kering, tuangkan ke dalam panci infusa dan ditambah aquadest 100 ml ke dalam panci (Perbandingan air dan bawang dayak 1:10). Dipanaskan campuran di atas penangas air 15 menit. terhitung suhu mencapai 90°C. Selama proses pemanasan, sesekali aduk campuran. Setelah 15 menit, saring cairan infusa selagi masih panas menggunakan kain flanel, lalu tampung dalam botol. Tambahkan air ke ampas hingga volume total infusa mencapai 100 ml.

Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana*)

Timbang 300 gram serbuk simplisia kering umbi bawang dayak, lalu masukkan ke dalam bejana maserasi. Campurkan simplisia dan pelarut dengan perbandingan 1:10 yaitu etanol 96% sebanyak 3 L. Campurkan kedua bahan secara merata, kemudian simpan dalam wadah maserasi yang tertutup rapat selama 3 hari di suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Aduk campuran tersebut sebanyak tiga kali per hari.

Hasilnya disaring dengan kertas saring, uapkan menggunakan rotary evaporator, lalu dikentalkan lagi di atas *waterbath*.

Skrining Fitokimia (Purnama, Ramadhan, and Sayakti, 2022)

Uji Flavonoid : sebanyak 1 mL sampel, ditambah 2 mL asam klorida pekat (HCl), lalu ditambah serbuk Mg. Jika ada perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning maka positif mengandung flavonoid.

Uji Alkaloid : sebanyak 1 mL sampel ditambah larutan kloroform dalam tabung reaksi dikocok, kemudian disaring. Setelah itu, 1 ml HCl 2N ditambahkan ke dalam filtrat dan dikocok kembali sampai terbentuk dua lapisan. Pipet lapisan atas (lapisan asam) dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambah 2-3 tetes reagen *Dragendroff*. Hasilnya dianggap positif apabila terbentuk endapan berwarna jingga pada larutan.

Uji Tanin : sebanyak 1 mL sampel ditambah 3 tetes FeCl₃ 1%, jika terjadi sedimen ungu, hijau, biru, atau hitam pekat, maka positif mengandung tanin.

Uji Saponin : sebanyak 1 mL sampel dan 2 mL aquadest ditambahkan, lalu dikocok kuat selama 10 detik. Setelah itu, satu tetes HCl pekat ditambahkan. Uji dianggap positif mengandung saponin jika busa yang terbentuk tetap stabil dalam 10 detik.

Uji Steroid-Terpenoid : Sebanyak 1 mL sampel ditambah 10 ml eter kemudian larutan ekstrak disaring hasilnya ditetaskan pada cawan porselen. Selanjutnya sampel ditetaskan menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard* yang terdiri dari asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Hasil positif untuk steroid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Sementara itu, senyawa triterpenoid akan menghasilkan cincin berwarna coklat atau ungu sebagai hasil positifnya.

Pembuatan Larutan DPPH

Untuk mendapatkan larutan 40 ppm, timbang 4 mg kristal DPPH dan masukkan ke dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya, tambahkan etanol 96% hingga volume mencapai tanda batas labu. Konsentrasi yang dihasilkan adalah 0.004%. Ambil 4 ml larutan

baku DPPH 40 ppm dengan pipet, kemudian tuangkan ke dalam kuvet. Sampel diuji dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang antara 400 hingga 800 nm (Mokoginta *et al.*, 2020).

Pembuatan dan Pengujian Larutan Sampel

Masing-masing sampel ekstrak sebanyak 25 ml dari infusa dan 25 mg dari maserasi, Sampel dimasukkan ke labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan etanol sampai volume totalnya tepat 50 mL, sebagai larutan stok (500ppm). Dari larutan induk dibuat pengenceran larutan dengan konsentrasi 110 ppm, 100 ppm, dan 90 ppm.

Pengujian dilakukan dengan sebanyak 2 ml dari setiap larutan sampel dipindahkan ke dalam vial, lalu ditambahkan 2 ml larutan baku DPPH 40 ppm. Setelah semua larutan diinkubasi selama 30 menit, absorbansinya diukur pada gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Toyibah and Taswin, 2020).

Pembuatan dan Pengujian Larutan Baku Pembanding Vitamin C

Sebagai baku pembanding, dibuat larutan dengan cara menimbang 5 mg Vitamin C p.a.(Sigma-Aldrich), lalu dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml. Selanjutnya, tambahkan etanol hingga mencapai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 0.1% atau 100 ppm. Dari larutan yang sudah ada, buat deret larutan dengan konsentrasi 12 ppm, 10 ppm, dan 8 ppm.

Pengujian dilakukan dengan Sebanyak 2 ml dari setiap larutan sampel dipindahkan ke dalam vial, lalu ditambahkan 2 ml larutan baku DPPH 40 ppm. Setelah semua larutan diinkubasi selama 30 menit, absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Toyibah and Taswin, 2020).

Penentuan Persen Inhibisi

Penentuan penangkapan radikal bebas pada sampel uji diukur dengan metode DPPH. Besar aktivitas penangkap radikal bebas dapat dihitung menggunakan rumus persentase penghambatan (Pramiastuti *et al.*, 2021).

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀

Dari nilai Persentase inhibisi dari setiap konsentrasi dihitung, lalu dibuat kurva regresi linear. Dari kurva ini, didapat persamaan $y = ax + b$, di mana konsentrasi sampel adalah sumbu-x dan persentase inhibisi adalah sumbu-y. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan memasukkan 50% ke dalam sumbu-y. IC₅₀ sendiri adalah konsentrasi sampel yang mampu menghambat absorbansi DPPH sebesar 50%. Perlu diingat, semakin rendah nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidannya (Irianti *et al.*, 2017).

Tabel 1. Analisis Potensi Antioksidan dengan Uji DPPH (Irianti *et al.*, 2017)

(Intensitas Antioksidan)	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Sangat Kuat.	< 50
Kuat.	50– 100
Sedang.	100– 150
Lemah.	150– 200

HASIL DAN PEMBAHASAN

Organoleptis dan Rendemen

Organoleptis dari infusa pada penelitian ini berbentuk cair, warna coklat kemerahan, tidak berbau khas, dan rasa pahit. Sedangkan dari maserasi berbentuk ekstrak kental, warna merah kehitaman pekat, bau khas, rasa pahit. Infusa adalah metode ekstraksi panas yang menggunakan pelarut air pada suhu didih (90°C) selama 15 menit (Kurniawati *et al.*, 2020). Sementara itu, maserasi adalah metode ekstraksi dingin yang menggunakan pelarut organik seperti etanol dan melibatkan perendaman bahan pada suhu kamar selama beberapa hari (Rahmah *et al.*, 2018). Perbedaan mendasar ini menyebabkan karakteristik organoleptis dari kedua hasil ekstrak menjadi berbeda.

Hasil rendemen infusa adalah 10%. Sedangkan untuk rendemen dari maserasi sebesar 12,45%. Ekstrak kentalnya 37,36

gram. Dari hasil rendemen yang diperoleh jumlah dari maserasi lebih besar dibandingkan infusa. Hasil akhir (rendemen) suatu ekstraksi dipengaruhi oleh suhu, karena suhu dapat memengaruhi senyawa bioaktif dalam ekstrak. Senyawa bioaktif ini mudah mengalami oksidasi, sebuah proses yang dipercepat pada suhu tinggi. Pada suhu di atas 60°C dan dalam lingkungan yang basa (alkali), senyawa bioaktif dapat terdegradasi. Temperatur tinggi dapat menyebabkan perubahan struktur dan pemecahan kimiawi, yang pada akhirnya mengurangi mutu serta jumlah senyawa yang diekstrak (Kemenkes, 2017). Rendemen maserasi yang lebih tinggi ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi dingin dengan pelarut etanol lebih efektif dalam menarik senyawa-senyawa dari bawang merah dayak dibandingkan metode infusa dengan pelarut air panas (Sari *et al.*, 2022). Hal ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa pelarut polar-semipolar seperti etanol memiliki daya larut yang lebih baik terhadap senyawa fitokimia di dalam sel tanaman, sehingga dapat menghasilkan rendemen yang lebih tinggi (Lestari & Puspitasari, 2022; Utami *et al.*, 2024).

Infusa adalah metode ekstraksi yang memanfaatkan pemanasan dengan menggunakan pelarut berupa aquadest (air suling) (Aini *et al.*, 2023). Pada masyarakat awam, pembuatannya lebih aplikatif, cara penggunaan empiris, salah satu metode yang paling efisien dan hemat biaya untuk ekstraksi. Tidak memerlukan pelarut khusus atau peralatan yang rumit. Infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) pada suhu 90°C, molekul air bergerak lebih cepat dan jarak antar molekulnya melebar. Kondisi ini meningkatkan difusivitas pelarut, memungkinkan air untuk menembus pori-pori simplisia (bahan kering) dengan lebih efektif. Akibatnya, zat aktif yang ada di dalamnya akan lebih mudah larut dan terekstrak keluar, sehingga hasil

ekstraksi menjadi lebih optimal (Sari *et al.*, 2023).

Sedangkan metode maserasi dipilih karena prosesnya sederhana tanpa melibatkan pemanasan. Tanpa panas, risiko rusaknya senyawa kimia atau zat aktif dalam sampel dapat dicegah. Ini sangat penting untuk menjaga kualitas dan khasiat dari zat-zat yang sensitif terhadap suhu, terutama yang terkandung di umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) (Aini *et al.*, 2023). Untuk mendapatkan ekstrak, bahan tumbuhan direndam dalam pelarut organik dan dibiarkan pada suhu ruangan (Mokoginta *et al.*, 2020). Proses maserasi ini menggunakan pelarut etanol karena sifatnya yang polar. Sifat ini memungkinkan etanol untuk melarutkan sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang juga bersifat polar (Aulyawati *et al.*, 2021). Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut sangat efektif karena kemampuannya yang optimal dalam menembus dinding sel sampel, yang pada akhirnya menghasilkan ekstrak lebih banyak dan lebih pekat dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah (Aini *et al.*, 2023). Kemampuan pelarut etanol untuk melarutkan dan menembus dinding sel tumbuhan, sehingga senyawa metabolit sekunder yang dituju dapat diekstraksi atau dilepaskan dari sel dengan lebih mudah (Aulyawati *et al.*, 2021).

Lama waktu ekstraksi merupakan faktor penting yang sangat memengaruhi hasil ekstrak. Semakin lama proses ekstraksi, semakin banyak rendemen atau hasil yang didapatkan. Hal ini terjadi karena bahan simplisia memiliki waktu yang lebih panjang untuk bereaksi dengan pelarut. Dengan waktu yang lebih lama, pelarut dapat menembus sel simplisia dengan lebih baik, sehingga lebih banyak senyawa aktif yang dapat keluar dan terekstrak secara maksimal (Aini *et al.*, 2023). Perhitungan persen rendemen memiliki peran penting untuk mengetahui seberapa banyak zat atau senyawa yang berhasil diekstrak dari suatu bahan (Sari *et al.*, 2021). Semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan, maka semakin besar kemungkinan senyawa target untuk terekstrak dan keluar dari matriks

sampel. Proses ekstraksi sampel dalam pelarut menjadi lebih efisien, dan kejenuhan pelarut juga dapat dicegah (Noviyanti *et al*, 2019). Kenaikan nilai rendemen berbanding lurus dengan peningkatan jumlah ekstrak yang diperoleh (Putri *et al*, 2022). Rendemen dapat dikatakan baik jika angka persentasenya mencapai 10 hingga 15% (Hasan *et al.*, 2022).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode yang digunakan untuk menganalisis kandungan senyawa kimia dalam infusa dan ekstrak maserasi. Adapun hasil identifikasi senyawa kimia dalam infusa dan ekstrak umbi bawang dayak (Tabel.2)

Tabel 2. Hasil Identifikasi Skrining Infusa dan Maserasi Umbi Bawang Dayak

Senyawa	Infusa	Maserasi
Flavonoid	+	+
Alkaloid	-	+
Tanin	+	+
Saponin	-	-
Terpenoid	+	+

Keterangan:

(+) mengindikasikan keberadaan senyawa aktif yang diuji

(-) mengindikasikan tidakkeberadaan senyawa aktif yang diuji

Skrining fitokimia adalah tahap awal dalam penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman. Metode ini dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi ketika sampel tanaman bereaksi dengan pereaksi warna tertentu (Tunny *et al.*, 2020). Pada proses ekstraksi, suhu berpengaruh pada hasil pengujian fitokimia, dimana suhu tinggi akan menghasilkan jumlah zat yang lebih banyak dibanding ekstraksi pada suhu kamar. Ini karena panas dapat membantu membuka pori-pori sel dan meningkatkan kelarutan senyawa. Namun, sisi negatifnya, beberapa senyawa yang mudah menguap (volatil) bisa hilang selama pemanasan ekstraksi

(Verawati *et al*, 2020).

Hasil uji fitokimia (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Sedangkan hasil uji fitokimia infusa dari umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) positif mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid. Perbedaan ini dapat dijelaskan melalui prinsip kelarutan yang dipengaruhi oleh polaritas pelarut. Air, sebagai pelarut polar, hanya efektif menarik senyawa-senyawa yang juga bersifat polar. Inilah sebabnya infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) mengandung senyawa seperti flavonoid dan tanin. Sementara itu, etanol memiliki sifat semi-polar, memungkinkannya untuk mengekstrak berbagai macam senyawa dengan rentang polaritas yang lebih luas. Oleh karena itu, ekstrak etanol dapat melarutkan dan mengambil alkaloid dari umbi, yang cenderung bersifat semi-polar, sedangkan air tidak (Nuraini *et al.*, 2021). Temuan ini menunjukkan betapa pentingnya pemilihan jenis pelarut dalam proses ekstraksi. Untuk mendapatkan senyawa alkaloid yang memiliki banyak aktivitas farmakologi potensial, ekstraksi menggunakan etanol jauh lebih unggul dibandingkan dengan infusa air. Hasil ini sejalan dengan berbagai penelitian yang juga menemukan bahwa etanol merupakan pelarut yang lebih efisien untuk ekstraksi alkaloid dari tumbuhan (Pratiwi dan Yanti, 2023).

Flavonoid terdiri dari sekelompok senyawa yang mengandung polifenol yang memiliki potensi aktivitas biologis seperti antioksidan. Efek antioksidan senyawa flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksil fenolik (-OH), dimana Flavonoid bekerja sebagai agen anti-radical scavenging dengan menetralkan radikal bebas. Senyawa ini akan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas, lalu membentuk radikal baru yang jauh lebih stabil. Kestabilan ini berasal dari efek resonansi pada struktur kimianya, yang membuat radikal baru tersebut tidak reaktif dan tidak berbahaya (Aulyawati *et al.*, 2021).

Alkaloid dapat bertindak sebagai

antioksidan didasarkan pada keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya. Atom nitrogen ini dapat menyumbangkan pasangan elektron bebas untuk menetralsasi radikal bebas. Tanin memiliki gugus hidroksil (-OH) yang memungkinkan senyawa ini mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas. Terpenoid berfungsi sebagai antioksidan dengan cara menetralkan radikal bebas. Mekanisme kerjanya adalah melindungi sel dari kerusakan oksidatif, terutama pada membran sel dengan melindungi bagian sel yang larut dalam lemak (Hasan *et al.*, 2022).

Pengujian Efektivitas Antioksidan

Uji efektivitas antioksidan dilakukan pada infusa, ekstrak maserasi, dan vitamin C, dengan menggunakan metode DPPH sebagai alat ukurnya, diawali dahulu dengan menentukan panjang gelombang (λ_{maks}) larutan, kemudian mengukur absorbansi larutan blanko.

Tabel 3. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan

Sampel	Panjang Gelombang	Absorbansi
DPPH 40 ppm	520 nm	0.792

Penelitian uji efek antioksidan diawali dengan mengukur panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang 400-800 nm (Putri *et al.*, 2022). Tujuan dari menentukan panjang gelombang maksimum adalah untuk mengidentifikasi panjang gelombang dengan serapan cahaya paling tinggi. Pada titik ini, pembentukan senyawa berwarna sudah optimal, sehingga pengukuran dapat dilakukan dengan kepekaan maksimal (Pramiastuti *et al.*, 2021). Pada penelitian ini hasil pengukuran absorbansi larutan DPPH 40 ppm yang diperoleh adalah 520 nm dengan serapan maksimum sebesar 0.792 (Tabel 3).

Tabel 4. Pengukuran Absorbansi Larutan

Blanko

Sampel	Panjang Gelombang	Absorbansi
DPPH + etanol (pengulangan 1)	520 nm	0.771
DPPH + etanol (pengulangan 2)	520 nm	0.772
DPPH + etanol (pengulangan 3)	520 nm	0.773
Rata-Rata		0.772

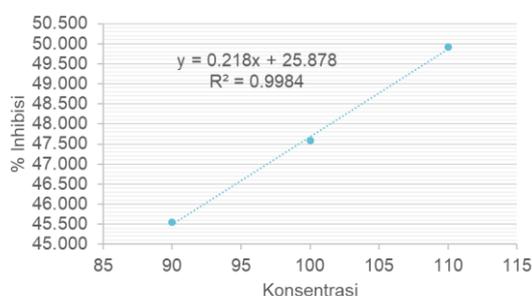
Larutan blanko adalah larutan pembanding yang diperlakukan sama dengan sampel, namun tidak mengandung analit yang diuji. Pembuatan larutan ini bertujuan untuk mengoreksi nilai serapan yang disebabkan oleh zat selain komponen sampel (Hasan *et al.*, 2022). Penelitian ini menggunakan larutan DPPH 40 ppm sebagai larutan blanko, sebanyak 2 ml dipipet dan masukkan ke dalam vial, dihomogenkan dan di inkubasi selama 30 menit. Dari pengukuran, didapatkan hasil rata-rata absorbansi blanko yaitu 0.772 (Tabel 4).

Tabel 5. Hasil Uji % Inhibisi pada Infusa dan Maserasi Umbi Bawang Dayak serta Vitamin C, dengan Metode DPPH

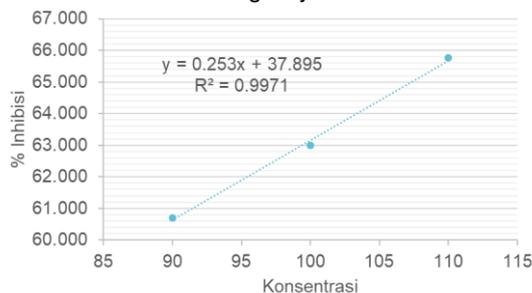
Sampel	Konsentrasi	Rata-Rata Absorbansi	% Inhibisi
Infusa Umbi Bawang Dayak	90 ppm	0.420	45.553
	100 ppm	0.405	47.582
	110 ppm	0.387	49.914
Maserasi Umbi Bawang Dayak	90 ppm	0.303	60.708
	100 ppm	0.286	62.997
	110 ppm	0.264	65.760
Vitamin C p.a.	8 ppm	0.364	52.807
	10 ppm	0.296	61.658
	12 ppm	0.213	72.366

Dari Tabel.5 pada penelitian ini menggunakan sampel ekstrak dari infusa dan maserasi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*). Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dibuat larutan induk 500 ppm yang kemudian diencerkan menjadi deret larutan 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm. Setelah itu, dari setiap masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diberi aluminium foil, diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dari setiap sampel dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal DPPH yang telah ditentukan sebelumnya, yaitu 520 nm.

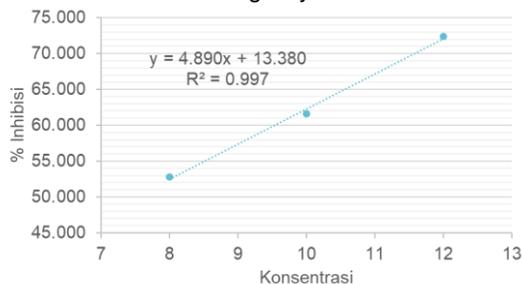
Persen inhibisi atau persen peredaman radikal bebas adalah rasio yang dihitung dari selisih absorbansi blanko dan sampel, dibagi dengan nilai absorbansi blanko. Pengukuran ini berfungsi untuk menentukan tingkat efektivitas suatu bahan dalam menetralkan radikal bebas. Persentase penghambatan diperoleh dari perbandingan selisih nilai absorbansi kontrol dan sampel, yang diukur pada panjang gelombang maksimal (Pramiastuti *et al*, 2021).



Gambar 1. Grafik Regresi Linear Infusa Umbi Bawang Dayak



Gambar 2. Grafik Regresi Linear Maserasi Umbi Bawang Dayak



Gambar 3. Grafik Regresi Linear Vitamin C

Prinsip dasar metode DPPH mengirimkan hidrogen ke radikal DPPH dari senyawa antioksidan. Donor hidrogen ini mengubah radikal DPPH beralih ke non-radikal, yang terlihat warna larutan berubah dari ungu menjadi

kuning. Perubahan warna ini sebanding dengan nilai absorbansi DPPH yang menurun. Oleh karena itu, semakin rendah absorbansi, nilai IC_{50} juga semakin rendah, yang menunjukkan tingkat efek antioksidan yang lebih tinggi (Aulyawati *et al*, 2021). Dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah, efek antioksidannya meningkat (Irianti *et al*, 2017).

Tabel 6. Nilai IC_{50} Infusa dan Maserasi Umbi Bawang Dayak, serta Vitamin C p.a.

Sampel	Persamaan Grafik	IC_{50}	Kategori
Infusa Umbi Bawang Dayak	$y = 0.218x + 25.878$	110.65 ppm	Sedang
Maserasi Umbi Bawang Dayak	$y = 0.253x + 37.895$	47.85 ppm	Sangat Kuat
Vitamin C p.a Baku Pembanding	$y = 4.890x + 13.380$	7.49 ppm	Sangat Kuat

Laju penangkapan radikal bebas menunjukkan bahwa konsentrasi sampel mempengaruhi DPPH (Seran *et al*, 2023). Peningkatan konsentrasi sampel akan menyebabkan penurunan absorbansi. Ini terjadi karena semakin banyak senyawa dari sampel yang mengikat DPPH, menetralkannya. Perubahan ini secara visual ditandai dengan larutan yang berubah warna menjadi kuning. Dengan kata lain, semakin tinggi kandungan antioksidan, warna kuning dalam sampel semakin pekat, dan semakin tinggi pula persen inhibisinya (Toyibah and Taswin, 2020). Persentase penghambatan atau inhibisi sebanding dengan efektivitas antiradikal bebas, yang akan meningkat seiring dengan konsentrasi (Mokoginta *et al*, 2020).

Kemampuan sampel dalam menghambat radikal bebas diukur menggunakan nilai IC_{50} , yang didapat dari persamaan regresi linear (Aulyawati *et al*, 2021). Semakin tinggi persentase inhibisi, semakin kuat pula efektivitas antioksidannya. Hal ini ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang semakin rendah, yang mengindikasikan efektivitas antioksidan yang lebih tinggi (Gambar 1, 2, dan 3) (Putri *et al*, 2022).

Pada Tabel 6, diperoleh bahwa nilai

IC₅₀ infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) sebesar 110.65 ppm menunjukkan tingkat antioksidan sedang. Sesuai tingkat kekuatan antioksidan, karena memiliki nilai IC₅₀ diantara 101-150 ppm (Putri *et al*, 2022). Sedangkan pada teknik maserasi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) menunjukkan nilai IC₅₀ yang sangat kuat yaitu 47.85 ppm. Studi komparatif efektivitas antioksidan menunjukkan perbedaan signifikan yang dipengaruhi oleh teknik ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan. Teknik infusa menggunakan air panas sebagai pelarut. Air adalah pelarut yang bersifat sangat polar. Oleh karena itu, infusa efektif dalam mengekstrak senyawa yang juga sangat polar dari umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*). Teknik maserasi menggunakan etanol, yang merupakan pelarut semi-polar. Sifat semi-polar ini memungkinkan etanol untuk melarutkan spektrum senyawa yang lebih luas, termasuk senyawa polar dan semi-polar. Efektivitas yang jauh lebih tinggi ini adalah hasil dari kelengkapan senyawa bioaktif yang terekstrak, menciptakan efek sinergis yang kuat.

Sebagai kontrol positif atau pembandingan nilai IC₅₀ vitamin C p.a. adalah 7.49 ppm, yang menunjukkan bahwa vitamin C p.a. termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat. Baik vitamin C p.a. maupun ekstrak dengan teknik maserasi umbi bawang Dayak (*Eleutherine americana*) menunjukkan efektivitas antioksidan yang sangat kuat. Namun, jika dibandingkan, efektivitas ekstrak bawang dayak tidak setinggi vitamin C p.a. Perbedaan ini disebabkan oleh fakta bahwa vitamin C p.a. merupakan senyawa murni yang sangat efektif bahkan pada konsentrasi yang sangat kecil, sedangkan ekstrak bawang dayak adalah campuran dari beberapa senyawa lain (Mokoginta *et al*, 2020).

Secara keseluruhan, penelitian ini menegaskan bahwa efektivitas antioksidan metode ekstraksi maserasi

dengan pelarut etanol jauh lebih unggul daripada infusa air dalam mengekstrak senyawa antioksidan dari umbi bawang Dayak (*Eleutherine americana*), sehingga menghasilkan produk dengan potensi antioksidan yang lebih tinggi. Meskipun ekstraksi dengan maserasi menunjukkan potensi yang luar biasa, efektivitasnya masih belum setara dengan Vitamin C p.a. Hal ini menyoroti perlunya eksplorasi lebih lanjut untuk optimalisasi metode ekstraksi agar potensi antioksidan dari umbi bawang Dayak (*Eleutherine americana*) dapat dimaksimalkan.

KESIMPULAN

Jika dibandingkan dengan maserasi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*), infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, dan terpenoid, sedangkan maserasi mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Nilai IC₅₀ dari infusa dan maserasi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) masing-masing adalah 110.65 ppm dan 47.85 ppm, yang secara berurutan termasuk dalam kategori antioksidan sedang dan sangat kuat. Sebagai pembandingan, vitamin C memiliki nilai IC₅₀ 7.49 ppm, yang juga tergolong sangat kuat. Studi komparatif efektivitas antioksidan menunjukkan perbedaan signifikan yang dipengaruhi oleh teknik ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan. Efektivitas antioksidan umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol jauh lebih unggul daripada infusa air. Namun efektivitasnya masih belum setara dengan Vitamin C p.a.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Program Studi S1 Farmasi STIK Siti Khadijah serta semua pihak yang telah membantu dan mendukung dari awal hingga selesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, R.N., Listyani, T.A., and Raharjo, D. 2023. Perbandingan Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) dengan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(23), pp. 665–680. Available at: <https://jurnal.peneliti.net/index.php/JIWP/article/view/5600>
- Atikah, T. A. 2021. *Bawang Dayak sebagai Tanaman Multiguna*. Yogyakarta: Deepublish.
- Aulyawati, N., Yahdi and Suryani, N. 2021. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata strurf*) menggunakan Metode DPPH. *SPIN Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 3(2), pp. 132–142. Available at: <https://journal.uinmataram.ac.id/index.php/spin/article/view/4101>
- Handajani, F. 2019. *Oksidan dan Antioksidan pada Beberapa Penyakit dan Proses Penuaan*. Sidoarjo: Zifatama Jawa.
- Hasan, H., Thomas, N. A., Hiola, F., Ramadhani, F. N., Ibrahim, P. A. S. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(1), pp. 67–73. Available at: <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>
- Indasah. 2020. *Epidemiologi Penyakit Menular*. Kediri: Strada Press.
- Irianti, T.T., Sugiyanto, Nuranto, S., Kuswandi, M. 2017. *Antioksidant*. Yogyakarta: UGM.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kurniawati, T., Widyastuti, Y., & Hestiningsih, E. 2020. Pelatihan Pembuatan Sediaan Infusa Beserta Evaluasinya dari Bahan Alam. *e-Prosiding Universitas Sari Mulia*, 1(1), 261-267. Available at: <https://ocs.unism.ac.id/index.php/semn/aspkm/article/download/1052/377>
- Laila, F., Resmeliana, I., Yulianti, W., Supardan, A. D. 2022. Evaluasi Kadar Senyawa Fenolat, Flavonoid Total, serta Aktivitas Antioksidan Secara in vitro dalam Ekstrak Metanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(3), pp. 298–307. Available at: <https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/kovalen/article/view/16175>
- Lestari, E. H., & Puspitasari, D. 2022. Perbandingan Hasil Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dengan Metode Maserasi dan Soxhletasi. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 6(1), 154-162. Available at: <https://jurnal.poltekkes-palangkaraya.ac.id/index.php/JTPhC/article/view/380>
- Mokoginta, R. V., Simbala, H.E.I. and Mansauda, K.L. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Pharmacon*, 9(3), p. 451-457. Available at: <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30031>
- Noviyanty, A., Salingkat, C.A., and Syamsiar, S., 2019. Pengaruh Rasio Pelarut Terhadap Ekstraksi Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), pp. 1-6. Available at: <https://doi.org/10.22487/kovalen.2019.v5.i3.14029>
- Nuraini, A. R., Widiyani, M. C., & Prastiwi, T. R. 2021. Kajian Aktivitas Senyawa Bioaktif pada Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 18(2),

- 117-124. Available at:
<https://jurnal.farmasi.unmul.ac.id/index.php/JKF/article/view/1781/1054>
- Pramiastuti, O., Solikhati, D.I.K., and Suryani, A. 2021. Aktivitas Antioksidan Fraksi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Wiyata*, 8(1), pp. 55–66.
- Pratiwi, R.W.A. & Yanti, M.N. (2023). Perbandingan Kadar Alkaloid Total Pada Eksudat, Infusa dan Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Farmasi*, 10(1), 1-10. Available at:
<https://ejournal.unwmataram.ac.id/jikf/article/download/1107/560/>
- Purnama, S., Ramadhan, H. and Sayakti, P.I. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan dari Ekstrak Metanol Daun Binjai *Mangifera caesia* Jack. Ex. Wall Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 20(1), pp. 55–62. Available at:
<https://doi.org/10.35814/jifi.v20i1.1133>
- Putri, A., Nofita and Ulfa, A.M. 2022. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan Teknik Ekstraksi Perkolasi dan Infusa. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 9(4), pp. 1178–1189. Available at:
<https://doi.org/10.33024/jikk.v9i4.5635>
- Rahmah, T., Purnomo, H., & Handayani, M. 2018. Kajian Literatur: Aplikasi Sejumlah Metode Ekstraksi Konvensional untuk Mengekstraksi Senyawa Fenolik dari Bahan Alam. *Jurnal Poltekkes Kemenkes Aceh*, 3(1), 1-10. Available at:
<https://ejournal.poltekkesaceh.ac.id/index.php/jifs/article/view/635>
- Rokhmah, L. N., Setiawan, B., Purba, D. H., Anggraeni, N., Suhendriani, S., Faridi, A., Hapsari, M. W., Kristianto, Y., Hasanah, L. N., Argaheni, N. B., Anto, Handayani, T., Rasmaniar. 2022. *Pangan dan Gizi*. Yayasan Kita Menulis.
- Rosalia, R., Setyaningsih, D., Ahda, A., Aziz, S., Luthfiah, S. L., Apriani, V. D., Dinita, S. T., Dewi, Y., Malik, M. O. 2022. Studi Fitokimia dan Farmakologi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr). *Jurnal Buana Farma*, 2(2), pp. 1–9. Available at:
<https://doi.org/10.36805/jbf.v2i2.381>
- Sari, D. P., Budiarti, F. R., & Setyawan, E. I. 2022. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi, Soxhletasi, dan Sonikasi terhadap Nilai Rendemen dan Kadar Flavonoid Total Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.). *Jurnal Sains dan Pendidikan Sains*, 8(1), 71-78. Available at:
<https://ejournal.uksw.edu/juses/article/download/12173/3034>
- Sari, I.P., Hidayati, A.R. and Muliastari, H. 2023. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Infusa Simplisia Segar dan Simplisia Kering Daun Buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) dengan Metode DPPH. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(5), pp. 605–614. Available at:
<https://jsk.ff.unmul.ac.id/index.php/JSK/article/view/439>
- Sari, Y., Syahrul, S. and Iriani, D., 2021. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada Kijing (*Pylobryococcha* Sp) dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), pp.16–20. Available at:
<https://doi.org/10.17969/jtipi.v13i1.18324>
- Seran, I.C., Yulianti, D.R. and Ningsih, A.W. 2023. Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L. var. Arumanis) Terhadap Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Kesehatan Hesti Wira Sakti*, 11(01), pp. 55–62. Available at:
<https://scispace.com/pdf/pengaruh->

- [perbedaan-pelarut-ekstrak-daun-mangga-mangifera-1x6wsmh2.pdf](#)
Setiawan, N.C.E., & Febriyanti, A. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Dengan Metode DPPH (*The Antioxidant Activity Of Extract And Factions Eleutherine palmifolia* (L.) Merr *Bulbs By DPPH Method*), 1(1), pp. 2598–2095. Available at: <https://download.garuda.kemdikbud.go.id/article.php?article=963606&val=14814&title>
- Toyibah, U. and Taswin, M. 2020. Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L. var. *arumanis*) dengan Metode DPPH. *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 2(1), pp. 60–68. Available at: <https://doi.org/10.36086/jkpharm.v2i1.1771>
- Tunny, R., Mahulauw, M.A.H. and Darmanta, K. 2020. Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat. *TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10(1), pp. 1–5. Available at: <https://2trik.jurnalelektronik.com/index.php/2trik/article/view/2trik10101/10101>
- Utami, D. P., Pratiwi, Y. H., & Muryanto, A. 2024. Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 1-8. Available at: <https://ejournal.stikesei.ac.id/index.php/jif/article/view/211>
- Verawati, Sari, T.M. and Savera, H. 2020. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolat Total dalam Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 17(1), pp. 90–97. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/521799-none-98db5081.pdf>
- Wulandari, L.T. 2023. Pengaruh Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) pada Telur Tetas Itik Mojosari terhadap Fertilitas dan Mortalitas Embrio. *Juristek*, 10(1), pp. 422–426.