

**SKRINING AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL LIMA BIJI TANAMAN
TERHADAP DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)
DAN PENETAPAN KADAR NUTRISI TEPUNG BIJI TERPILIH**

Yeni Indra Kumalasari, S.Si., M.Biotech

yeni_indra99@yahoo.com/085645720245

Prodi Budidaya Tanaman Pangan, Jurusan Produksi Pertanian
Akademi Pertanian Yogyakarta

ABSTRACT

Antioxidant is a compound that can inhibit oxidation by reacting with reactive free radical to form reactive free radicals which was relatively stable. Phenolic compounds are a source of natural antioxidants found in plants. There are many sources of antioxidants found in fruits and vegetables. However, research on seeds are still not widely reported because so far only a few seeds discarded and few are exploited. Some seeds are thought containing antioxidant compounds are pea seeds (*Pisum sativum* L.), red beans (*Phaseolus vulgaris* L.), papaya seeds (*Carica papaya* L.), pumpkin seeds (*Cucurbita moschata* Duchesne) and avocado seeds (*Persea americana* Mill.). The aims of the study are to determine the seed that has the highest antioxidant activity and total phenolic content of methanol extracts from five seeds, and to determine the levels of ash content, water, carbohydrates, proteins, and fats from selected seed. Five seeds solvent extraction using methanol, followed by antioxidant activity assay against DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) and determination of phenolic content using *Folin-Ciocalteu* reagent. Once the seeds are known containing the highest antioxidant activity was processed into flour and nutritional assay performed with proximate assay which are ash content, water, carbohydrates, proteins, and fats. The assay results showed that the methanol extract of pumpkin seeds have the highest antioxidant activity of ARP value is 2.51 and total phenolic content is 1370.1 mg/mL. Nutrition content of pumpkin seed flour is 3.55% ash content (mineral), 8.97% water content, 19.51% carbohydrate, total protein 31.72%, and 36.25% total fat.

Keywords: Antioxidant, DPPH, Seeds, Flour, Nutrition.

PENDAHULUAN

Berbagai penyakit seperti kanker kulit, diabetes mellitus, gagal ginjal, penyakit kardiovaskuler, katarak dan penuaan dini diketahui erat kaitannya dengan radikal bebas. Senyawa radikal bebas dapat terbentuk dari proses metabolisme normal tubuh, atau dapat berasal dari luar tubuh. Radikal bebas dari luar tubuh berasal dari paparan asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, obat-obatan, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet (Langseth, 1995). Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen (berasal dari dalam tubuh) (Gulcin *et al.*, 2004). Namun jika senyawa radikal bebas berlebih terdapat dalam tubuh, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan

radikal yang terbentuk (Reynertson, 2007). Bahan pangan dapat menjadi sumber antioksidan alami, seperti biji-bijian, rempah-rempah, coklat, buah-buahan dan sayuran seperti buah tomat, papaya dan jeruk (Prakash, 2001).

Penelitian tentang aktivitas antioksidan pada buah dan sayur telah banyak dilakukan. Namun sejauh ini belum banyak penelitian yang melaporkan aktivitas antioksidan pada biji dari buah atau sayur tersebut karena selama ini beberapa biji hanya dibuang dan sedikit yang dimanfaatkan. Biji *Mucuna* sp. yang merupakan tanaman asli India dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antitumor dan antibakteri (Rajeshwar *et al.*, 2005). Buah kacang kapri (*Pisum sativum* L.), kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.), pepaya (*Carica papaya* L.), waluh (*Cucurbita moschata* Duchesne), dan alpukat (*Persea*

americana Mill.) mengandung senyawa golongan fenolik (flavonoid, fenol sederhana, kumarin, tanin), saponin, triterpenoid, alkaloid, karotenoid, mineral dan asam oleat (Schults *et al.*, 1984; Warisno, 2003; Astawan, 2005; Alshendra *et al.*, 2007; Winarsi, 2007; Prawira, 2010;). Namun, aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik kelima spesies biji tanaman tersebut belum dilaporkan.

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari kelima biji spesies tersebut untuk mengetahui biji terpilih yang memiliki kandungan antioksidan paling tinggi. Untuk meningkatkan nilai jual dari biji tersebut, pengolahan biji ke dalam bentuk tepung dan penetapan kadar nutrisi (protein, lemak, karbohidrat, air dan abu) perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE

1.1 Bahan

- Bahan untuk uji aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total: ekstrak metanol biji kacang kapri, ekstrak metanol biji kacang merah, ekstrak metanol biji papaya, ekstrak metanol biji waluh, ekstrak metanol biji alpukat, metanol p.a (E. Merck), vitamin C, DPPH p.a (E. Merck), aquadest, asam galat p.a (E. Merck), reagent *Folin-Ciocalteu* p.a (E. Merck), Na_2CO_3 p.a (E. Merck).
- Bahan untuk membuat tepung: biji terpilih, akuadest, dan natrium bisulfat.
- Bahan untuk uji kadar nutrisi: 2,5 g serbuk SeO_2 , 100 g K_2SO_4 , 20 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, larutan bromocresol green 0,1%, larutan merah metil 0,1%, alkohol 95%, 10 g H_3BO_3 , 500 mL air suling, 500 mL asam borat, 5 mL indikator, HCl 0,01 N, 150 g Natrium hidroksida, 350 mL aquadest, HCl 25% dan heksan.

Metode

1.1. Uji Aktivitas Antioksidan (Waterhouse, 1999)

- Pembuatan larutan DPPH 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Sebanyak 9 mg DPPH dilarutkan dengan metanol p.a (E. Merck) sampai volumenya 300 mL.
- Pembuatan larutan standar konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, 6,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
Sebanyak 50 mg vitamin C dilarutkan dengan 5 mL metanol p.a (E. Merck) sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/mL, kemudian dilakukan pengenceran.
- Pembuatan larutan sampel uji
Sebanyak 50 mg ekstrak metanol biji kacang kapri dilarutkan dengan 5 mL metanol, sehingga didapatkan konsentrasi 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, kemudian dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 200, 100, 50, 25, 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH
Sebanyak 300 μL larutan DPPH dipipet dan ditambah dengan 3 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.
- Pemeriksaan aktivitas antioksidan
Masing-masing konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 300 μL , dimasukkan dalam kuvet, dan ditambah 300 μL larutan DPPH. Campuran divorteks dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap, diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517nm.
- Penentuan aktivitas antioksidan
 - Penghitungan persentasi inhibisi, untuk mendapatkan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*)

$$\text{Persen Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}}$$

Dari nilai persen inhibisi sebagai absis (x) dan konsentrasi ordinat (y) maka dengan metode LR (*Linear Regression*) diperoleh persamaan garis dan ditentukan konsentrasi saat persen inhibisi 50% (IC_{50}).

2. Penghitungan EC_{50} (*Efficiency Concentration*)

EC_{50} (diperoleh berdasarkan data IC_{50} melalui persamaan sebagai berikut :

$$EC_{50} = \frac{IC_{50}}{\text{Konsentrasi DPPH (mg/ml)}}$$

Nilai EC_{50} dinyatakan dalam mg sampel tiap mg DPPH.

3. Penghitungan ARP (*Antiradical Power*)

Selanjutnya nilai ARP dihitung berdasarkan nilai EC_{50} yang didapatkan melalui persamaan sebagai berikut :

$$ARP = \frac{100}{EC_{50}}$$

- g. Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, akan dilanjutkan untuk uji kadar protein, lemak, karbohidrat, kadar abu, dan kadar air.

1.2. Penetapan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Metanol Biji (*Waterhouse, 1999; Orak, 2006*)

- a. Pembuatan larutan induk asam galat 5000 $\mu\text{g/mL}$
Sebanyak 50 mg asam galat dilarutkan dengan 1 mL pelarut etanol 96% dan aquadest hingga volumenya 10 mL, dan diencerkan dengan menambahkan etanol dengan konsentrasi 800, 400, 200, 100, 50 $\mu\text{g/mL}$ asam galat.
- b. Pembuatan Na_2CO_3 20%
Sebanyak 2 gr Na_2CO_3 ditambah 15 mL aquadest dan dididihkan. Larutan didiamkan selama 24 jam, disaring, dan filtrat diencerkan dengan aquadest hingga 25 mL.
- c. Pembuatan larutan sampel uji
Sebanyak 30 mg sampel ekstrak ditimbang dan dilarutkan sampai 1 mL dengan metanol : air (1:1). Larutan diencerkan dengan menambahkan metanol sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan uji sebanyak 100 μL ditambah dengan 7,9 mL akuades dan 500 μL reagen *Folin -Ciocalteau* lalu dikocok dan didiamkan selama 8 menit. Larutan ditambah 1,5 mL Na_2CO_3 20% dan didiamkan kembali selama 2 jam pada suhu kamar.

- d. Pembuatan kurva standar asam galat dengan reagent *Follin-Ciocalteu*
Masing-masing konsentrasi larutan induk, diambil sebanyak 100 μL ditambah 7,9 mL akuadest dan 1 mL reagent *Folin-Ciocalteu*, kemudian dikocok. Larutan didiamkan 8 menit, kemudian ditambah 1,5 mL larutan Na_2CO_3 , dan dikocok hingga homogen. Larutan terlebih dahulu didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Larutan blanko diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasinya, hubungan antarakonsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi.

- e. Pemeriksaan kandungan fenol total dengan metode *Follin-Ciocalteu*
Serapan larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm yang akan memberikan kompleks warna biru.

1.3. Pembuatan Tepung (*Wadlihah, 2010*)

Biji terpilih dibersihkan dari sisa-sisa daging buahnya kemudian direndam dalam air panas yang ditambah dengan natrium bisulfat 0,1% selama 10 menit untuk memutihkannya warna tepung. Biji yang sudah diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan, kemudian dihaluskan dengan cara ditumbuk atau diblender sampai benar-benar halus. Setelah dihaluskan, biji halus diayak dengan ayakan berukuran 60 mesh untuk mendapatkan tepung dari biji tersebut.

1.4. Uji Kandungan Nutrisi Tepung (*Sudarmadji, 2003*)

- a. Kadar Air dengan metode Thermogravimetri
- b. Kadar Abu dengan metode kering
- c. Kadar Protein dengan metode Kjeldahl
- d. Kadar Lemak dengan metode Soxhlet
- e. Kadar Karbohidrat dengan metode by different

1.5. Analisis Data

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan melalui perhitungan nilai IC₅₀, EC₅₀, dan ARP. IC₅₀ didapatkan dari nilai konsentrasi saat inhibisi 50%, EC₅₀ menggambarkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% tiap mg DPPH sedangkan ARP dihitung dari nilai EC₅₀ yang didapat. Data dianalisis menggunakan persamaan regrasi linear dan perhitungan nilai koefisien korelasi, sehingga didapat nilai IC₅₀, EC₅₀, ARP, dan kandungan fenolik total dari ekstrak. Setelah diketahui biji terpilih yaitu biji yang mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi, dilakukan uji kadar air, abu, karbohidrat, protein, dan lemak dalam bentuk tepungnya, dimana hasilnya dinyatakan dalam bentuk persen (%).

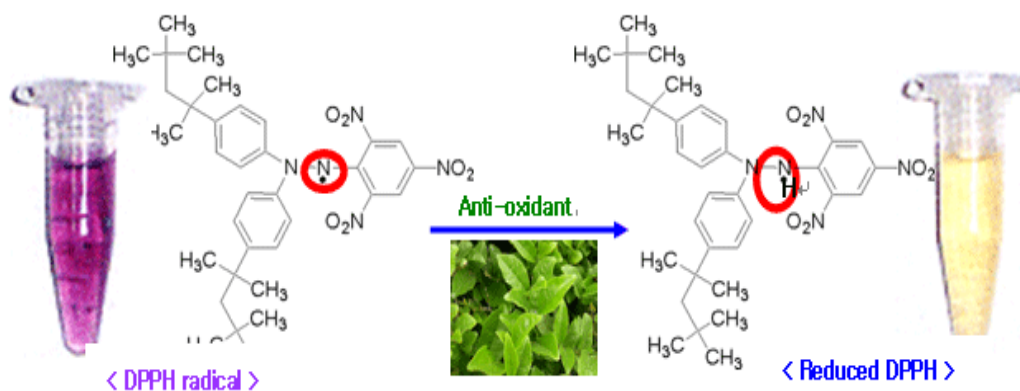
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap kenaikan konsentrasi ekstrak metanol kelima biji dan vitamin C terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH setelah inkubasi selama 30 menit (Tabel 1). Penurunan nilai absorbansi tersebut disebabkan oleh reaksi antara molekul *diphenyl picrylhydrazyl* dengan atom hidrogen yang dilepaskan dari satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa *diphenyl picrylhydrazil* (Zuhra *et al.*, 2008). Reaksi ini menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Gambar 1). Perubahan warna terjadi secara stoikiometri berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Penurunan nilai absorbansi DPPH ini menunjukkan adanya penangkapan atau peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel uji (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi DPPH terhadap penambahan konsentrasi ekstrak dalam persen inhibisi

Konsentrasi (µg/mL)	Persen Inhibisi (%)					Vitamin C	
	Biji Kacang Kapri	Biji Kacang Merah	Biji Pepaya	Biji Waluh	Biji Alpukat	Konsentrasi (µg/mL)	Persen Inhibisi (%)
200	9.12	8.81	3.25	11.95	11.32	100	67.73
100	7.48	5.72	2.54	11.76	10.50	50	54.95
50	6.54	5.55	1.75	11.15	7.38	25	54.16
25	3.20	4.26	1.35	10.52	6.97	12.5	54.01
12.5	3.07	4.07	0.67	10.45	4.93	6.25	53.49



Gambar 1. Reaksi peredaman warna ungu DPPH akibat penambahan sampel uji (Chemical book, 2009)

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan regresi dan digunakan dalam menentukan nilai EC_{50} dan ARP. Nilai IC_{50} , EC_{50} , dan ARP dari ekstrak metanol kelima biji dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC_{50} , EC_{50} dan ARP ekstrak metanol kelima biji tanaman

Sampel Uji	$IC_{50}(\mu\text{g/mL})$	EC_{50}	ARP
Biji kacang kapri	1455.57	48.52	2.06
Biji kacang merah	1925.33	64.18	1.56
Biji papaya	3774.15	125.8	0.79
Biji waluh	1196	39.87	2.51
Biji alpukat	1382.03	46.07	2.17
Vitamin C	12.77	0.43	232.56

Berdasarkan perhitungan IC_{50} , EC_{50} dan ARP dari kelima biji dapat dilihat bahwa nilai ARP tertinggi adalah 2.51 yaitu ekstrak metanol biji waluh. Hal ini dapat menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji waluh memiliki kekuatan antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol biji lainnya. Vitamin C memiliki kekuatan antioksidan 92.65 kali lebih besar dari kekuatan antioksidan ekstrak metanol biji waluh. Hal ini disebabkan karena vitamin C dapat langsung menangkap radikal bebas, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Reaksinya terhadap senyawa radikal bebas lebih cepat dibandingkan dengan komponen lainnya (Susanto *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian tentang aktivitas antioksidan pada tanaman telah banyak dipublikasikan. Sebagian besar penelitian mengindikasikan bahwa ekstrak polar menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak non polar (Wangensteen *et al.*, 2004). Audipudi dan Chakicherla (2010) melaporkan bahwa ekstrak metanol *Gmelina arborea* Roxb. memiliki nilai IC_{50} 15,4 $\mu\text{g/mL}$, lebih kecil daripada nilai IC_{50} ekstrak kloroformnya, yaitu 18,6 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini berarti ekstrak metanol

Gmelina arborea Roxb. memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kloroformnya.

Akan tetapi pada beberapa penelitian yang lain juga melaporkan bahwa aktivitas antioksidan pada tanaman dapat berasal dari pelarut nonpolar. Aktivitas antioksidan daun *Barringtonia recemosa* dilaporkan bahwa ekstrak dari pelarut non polar yaitu heksana dan kloroform memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanolnya (Behbani *et al.*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan juga memberikan pengaruh terhadap kelarutan senyawa-senyawa antioksidan.

B. Penetapan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelima Biji Tanaman

Berdasarkan hasil pengukuran kandungan senyawa fenolik total, biji alpukat memiliki kandungan senyawa fenolik total lebih tinggi dibandingkan dengan sampel biji yang lain (Tabel 3). Biji waluh yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ternyata memiliki kandungan senyawa fenolik lebih rendah dari biji alpukat. Hal ini menunjukkan bahwa antara kandungan senyawa fenolik pada suatu bahan tidak selalu mendukung adanya aktivitas antioksidan pada bahan tersebut.

Tabel 3. Kandungan senyawa fenolik total dan nilai ARP ekstrak metanol kelima biji tanaman

Sampel Uji	Kandungan fenolik total ($\mu\text{g/mL}$)	Nilai ARP
Biji Kacang Kapri	1137.1	2.06
Biji Kacang Merah	1201.3	1.56
Biji Pepaya	985.4	0.79
Biji Waluh	1370.1	2.51
Biji Alpukat	2902.5	2.17

Penelitian mengenai korelasi atau hubungan antara kandungan fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidan telah banyak dipublikasikan. Beberapa penelitian melaporkan adanya korelasi yang signifikan antara kandungan fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidan. Penelitian tersebut antara lain dipublikasikan oleh Lestario *et al* (2008) yang meneliti mengenai aktivitas antioksidan serta kandungan fenolik dan flavonoid total pada ganggang merah (*Gracilaria verrucosa* L.). Korelasi antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidan tidak selalu terjadi. Misalnya pada ekstrak *Sargassum siliquastrum* tidak menunjukkan korelasi antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidannya (Lim *et al*, 2002), yang menunjukkan bahwa senyawa fenolik dalam sampel tersebut kurang berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan. Hal ini berarti ada senyawa lain dalam sampel tersebut yang dapat berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan karena rumput laut juga mengandung senyawa-senyawa lain selain fenolik, seperti agar-agar, porpiran, furcellaran, protein, lemak, kalsium, unsure mineral, klorofil dan karoten (Indriani dan Sumarsih, 1991). Hal ini berarti antara aktivitas antioksidan dan besarnya kandungan fenolik dan flavonoid total berkorelasi tidak signifikan.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dipublikasikan dapat dilihat bahwa keberadaan kandungan fenolik, seperti flavonoid bukanlah satu-satunya faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan suatu bahan alam. Akan tetapi, konfigurasi dan kemampuannya dalam mendonorkan atom hidrogen juga mempengaruhi aktivitas dalam meredam radikal bebas. Gulcin *et al* (2004) dan Pokorny *et al* (2001) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari senyawa alamiah yang berasal dari tanaman seperti fenolik dan flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksil pada struktur molekulnya. **Kadar Nutrisi Tepung Biji Waluh**

Berdasarkan hasil analisa kadar nutrisi dapat diketahui bahwa setiap 500 gram sampel tepung yang dianalisa, terkandung macam-macam nutrisi yang tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisa kadar nutrisi tepung biji waluh

Macam kandungan nutrisi	Hasil analisa (% wb)
Air total	8.97
Mineral total	3.55
Lemak total	36.25
Protein total	31.72
Karbohidrat	19.51

Tepung biji waluh mengandung kadar lemak total yang tinggi. Hal ini dikarenakan biji waluh yang digunakan adalah biji waluh yang cukup tua dimana biji waluh tersebut mengandung 40 – 60 % minyak (Cuniowski *et al*, 1998). Tepung biji dengan kadar lemak total yang tinggi serta memiliki aktivitas antioksidan dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi sebagai campuran bahan pelicin.

KESIMPULAN

1. Biji waluh memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai *Antiradical Power* (ARP) 2.51.
2. Kandungan fenolik total pada kelima biji tanaman adalah 1137.1 µg/mL (biji kacang kapri), 1201.3 µg/mL (biji kacang merah), 985.4 µg/mL (biji papaya), 1370.1 µg/mL (biji waluh), dan 2902.5 µg/mL (biji alpukat).
3. Kadar nutrisi dari tepung biji waluh per 500 gram adalah air sebesar 8.97%, abu (mineral) sebesar 3.55%, lemak total 36.25%, protein total 31.72%, dan karbohidrat 19.51%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsuhendra, Zulhipri, Ridawati, dan E. Lisanti, 2007. *Ekstraksi dan Karakteristik Senyawa Fenolik dari Biji Alpukat (Persea Americana Mill.)*. Proseding Seminar Nasional PATPI, Bandung.
- Amic, D., D. Davidovic-Amic, D. Beslo, and Trinajstic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids, *Croatia Chemica Acta*. 76(1) :55-61
- Astawan M. 2005. *Kacang Hijau, Antioksidan yang Membantu Kesuburan Pria*. http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pub_de_ntrtnhlth_kacanghijau.php. [14 Mei 2011].
- Audipudi, A.V. and B.V.S. Chakicherla. 2010. Antimicrobial Activity of Methanol and Chloroform Extracts of *Gmelina Arborea* Roxb. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 6 (1) : 139–144
- Behbahani, M., A. M. Ali, R. Muse, and N.B Mohd. 2007. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Leaves of *Barringtonia racemosa*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 95 – 102
- Cuniowski, P., A. 1998. *Introduction calabaza: a new crop for Massachusetts growers*. Univ. Massachusetts. <http://www.umass.edu/umext/program/agro/vegsmfr/articies/cucurbita> / [15 Mei 2011].
- Gulcin, I., Uguz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S., and Kufrevioglu, O., I. 2004. Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.), *Turk I. Agric.For* 28: 25-33.
- Indriani, H. dan Sumiarsih E. 1991. *Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Langseth, L. 1995. *Oxidant, Antioxidant, and Disease Prevention*. International Life Science Institute Press, Belgium.
- Lestario, L. N., S. Sugiarto, K.H. Timotius. 2008. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa* L.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 19 (2). FMIPA

- Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Lim, S. N., Cheung P. C., Oci V. E., Ang P. O. 2002. Evaluation of Antioxidative Activity of Extracts from a Brown Seaweed, *Sargassum silquastrum*. *Journal Agric Food Chem* 50 (13): 3862-3866.
- Molyneux, P., 2004 The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal Sci. Technol.* 26 (2) : 211-219
- Orak, H.H. 2006. Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenol oxidase Activities In Red Grape Varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology* 9:118.
- Prakash, D., G. Upadhyay, B.N. Singh, R. Dhakarey, S. Kumar, and K.K. Singh. 2007. Free-radical Scavenging Activities of Himalayan Rhododendrons. *Current Science.* 92 (4) : 526-532
- Prawira, A. L. 2010. *Penyimpanan Kacang Merah (Phaseolus vulgaris L.) dan Kapri (Pisum sativum L.) dengan "Modified Atmosphere*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pokorny, J., N. Yanishlieva, and M. Gordon. 2001, *Antioxidants in Food, Practical Applications*. England: Wood Publishing Limited, Cambridge
- Pokorny, J., N. Yanishlieva, and M. Gordon. 2001, *Antioxidants in Food, Practical Applications*. England: Wood Publishing Limited, Cambridge
- Rajeshwar, Y., G. P. S. Kumar, M. Gupta and U. K. Mazumder. 2005. Studies on *in vitro* antioxidant activities of methanol extract of *Mucuna pruriens* (fabaceae) seeds. *European Bulletin of Drug Research* 13:31-35.
- Reynertson, K.A. 2007. Phtochemical Analysis of Bioactive Constituen from Edible Myrtaceae Fruits. *Disertasi*. Doctoral Program The University of New York, America.
- Schultz, J.E, R. Hansel and V. E. Tayler. 1984. Rational Phytotherapy. *A Phusician's Guide to Herbal Medicine*. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg.
- Sudarmadji, S. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Kanisius, Yogyakarta.
- Susanto A., D. Rhona., dan I. Mardiyani. 2009. Vitamin C Sebagai Antioksidan. *Makalah Ilmu Pangan dan Gizi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta
- Wadlihah, F. 2010. Pengaruh Perbandingan Tepung Terigu dan Tepung Biji Nangka terhadap Komposisi Proksimat dan Sifat Sensorik Kue Bolu Kukus. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan, UMS, Surakarta
- Wangensteen, H., A.B Samuelsen., and K.E. Maltrud. 2004. Antioxidant Activity in Extract From Coriander. *Food Chem* 88:293-397
- Warisno. 2003. *Budidaya Pepaya*. Kanisius, Yogyakarta.

- Waterhouse, A. 1999. *Folin - Ciocalteu Micro Method For Total Phenol In Wine*, Department Of Viticulture & Enology University Of California, Davis, 152-178.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius, pp: 82-77, 105-9, 147-55.
- Zuhra, C.F, Juliarti Br, Tarigan, dan Herlince. S. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera* 3(1):7-10