

## PENGARUH EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI TERHADAP KEMAMPUAN MENANGKAP RADIKAL BEBAS DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL) EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica Less*)

Paini Sri Widyawati<sup>1)</sup>, C Hanny Wijaya<sup>2)</sup>, Peni Suprapti Harjosworo<sup>3)</sup> dan Dondin Sajuthi<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya. Jl Dinoyo 42-44 Surabaya  
Telp : 031-5678478 Ext : 110/0888490197

<sup>2)</sup> Fakultas Teknologi Pertanian IPB

<sup>3)</sup> Fakultas Peternakan IPB

<sup>4)</sup> Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

### Abstrak

*Beluntas (Pluchea indica Less) merupakan herba yang telah dimanfaatkan sebagai lalapan dan obat tradisional. Senyawa polifenol merupakan komponen utama daun beluntas yang mempunyai aktivitas antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh ekstraksi bertingkat secara maserasi dilanjutkan secara Soxhlet dan fraksinasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran (etil asetat, n-butanol dan akuades) terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ekstrak dan fraksi daun beluntas melalui pengujian fitokimia, total fenol, total flavonoid dan konsentrasi penghambatan (IC<sub>50</sub>) serta membandingkan aktivitasnya terhadap antioksidan alami (teh hijau dan rosemary) dan antioksidan sintetis (BHT dan  $\alpha$ -tokoferol suksinat). Hasil menunjukkan bahwa fitokimia yang terdeteksi, meliputi flavonoid, fenol hidrokuinon, tanin dan sterol. Ekstrak metanolik mempunyai rendamen, kadar total fenol dan kadar total flavonoid tertinggi, masing-masing sebesar 15,22 %, 304,42 mg GAE/100 g bk, 116,38 mg CE/100 g bk. Kadar total fenol dan total flavonoid tidak sebanding dengan aktivitas menangkap radikal bebas DPPH, fraksi etil asetat lebih berpotensi sebagai antioksidan yang ditandai dengan IC<sub>50</sub> = 3,3 yang lebih rendah dari ekstrak metanolik daun beluntas, fraksi n-butanol dan fraksi air, masing-masing sebesar 4,3; 3,6 dan 7,9, namun masih lebih tinggi dari teh hijau (IC<sub>50</sub> = 1,9). Aktivitas antioksidan secara berturut-turut menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau > fraksi etil asetat > fraksi n-butanol > ekstrak rosemary > ekstrak beluntas > BHT > fraksi air > alfa tokoferol suksinat.*

**Kata kunci:** beluntas (*Pluchea indica Less*); DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil); ekstraksi; fraksinasi

### 1. Pendahuluan

Beluntas (*Pluchea indica Less*) adalah tanaman perdu kelompok *Asteraceae* yang telah dikenal masyarakat sebagai lalapan dan obat tradisional (Ardiansyah *et al.* 2003). Penelitian menyebutkan bahwa beluntas mempunyai aktivitas antioksidan (Widyawati 2004; Andarwulan *et al.* 2010) karena mengandung sejumlah senyawa fitokimia, seperti lignan, terpen, fenilpropanoid, benzoid, alkana (Luger *et al.* 2000), sterol, 2-(prop-1-unil)-5-(5,6-dihidroksi heksa-1,3-diunil)-tiofena, (-)-katekin (Biswas *et al.* 2005), hidrokuinon, tannin dan alkaloid (Ardiansyah *et al.* 2003), flavonol (Andarwulan *et al.* 2010).

Antioksidan mempunyai peranan penting dalam proses biologi untuk mencegah kerusakan karena adanya radikal bebas. Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) cukup sederhana dan luas digunakan untuk menentukan potensi antioksidan ekstrak tanaman (Apak *et al.* 2007; Huang *et al.* 2005). Pengujian ini didasarkan pada kemampuan mereduksi radikal bebas yang ditandai dengan penurunan intensitas warna ungu (Chang *et al.* 2007; Kim *et al.* 2002).

Proses ekstraksi dan fraksinasi dengan pelarut organik yang berbeda tingkat kepolaran akan mempengaruhi jenis dan kadar senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidannya (Sousa *et al.* 2008). Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi dilakukan dengan alasan karena pelarut mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah dipisahkan (menguap) dan dimurnikan kembali. Menurut Hoa *et al.* (2007) bahwa pelarut organik digunakan didasarkan pada sifat kepolaran, kelarutan dan transfer massa dari senyawa yang diekstrak.

\*) Email : wiwiedt@gmail.com

Kelarutan senyawa sangat ditentukan oleh kepolaran, momen dipol, polarisabilitas dan ikatan hidrogen (Martins *et al.* 2001). Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh ekstraksi bertingkat secara maserasi dilanjutkan secara soxhlet dan fraksinasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran (etil asetat, n-butanol dan akuades) terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) daun beluntas melalui pengujian fitokimia, total fenol, total flavonoid dan konsentrasi penghambatan (IC50) serta membandingkan aktivitasnya dengan antioksidan alami (teh hijau dan rosemary) dan antioksidan sintetis (BHT dan  $\alpha$ -tokoferol suksinat).

## 2. Bahan dan Metode

### Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan adalah daun beluntas yang diperoleh dari daerah Dramaga, Bogor. Teh hijau yang disuplai oleh *tea factory* di Singapura (Lim Lam Thye PTE, LTD). Rosemary kering yang dibeli di *cold storage* Supermarket di Holland Evaneue Singapura. Bahan kimia untuk analisa terdiri dari : petroleum eter (JT Baker), metanol (JT Baker), etil asetat (JT Baker), akuades (Lab Mikrobiologi Seafast IPB), pereaksi Dragendofit (Merck), Mayer (Merck) dan Wagner (Merck), kloroform (JT Baker), amoniak (Merck), asam sulfat (Merck), natrium hidroksida (Merck), eter (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), logam magnesium (Merck), etanol (Merck), asam klorida (Merck), amil alkohol (Merck), besi triklorida (Merck), folin ciocalteus fenol (Sigma), natrium karbonat (Riedel-de Haen), asam gallat (Merck), katekin (Sigma), natrium nitrit (Merck), aluminium klorida (Merck) dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma).

### Metode Penelitian

#### Proses Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Beluntas

Daun beluntas ruas 1-6 diekstraksi berdasarkan modifikasi metode Dorman dan Hiltunen (2004) (Gb 1). Daun beluntas kering suhu kamar selama 7 hari ditepungkan dengan ukuran 40 mesh, lalu dianalisa kadar air dan fitokimianya. Kemudian tepung daun kering tersebut dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya residu yang sudah dikeringkan diekstrak dengan metanol (1:15b/v) menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam. Pelarut metanol diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut etil asetat dan akuades (1:1 v/v). Selanjutnya fasa akua difraksinasi lagi dengan pelarut n-butanol (1:1 v/v). Fraksi etil asetat, n-butanol dan akuades diliofilisasi dengan menguapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*. Masing-masing ekstrak dan fraksi disimpan pada suhu 4°C dan gelap sampai analisa berikutnya.

#### Analisa Kadar Air

Kadar air ditentukan berdasarkan metode AOAC 925.45 (1999).

#### Analisa Fitokimia

Analisa fitokimia dilakukan berdasarkan metode Harborne (1996). untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, flavonoid, sterol, triterpenoid, fenol hidrokuinon, saponin dan tanin.

#### Analisa Rendemen

Ekstrak daun beluntas dan fraksi-fraksinya yang diperoleh ditentukan rendamennya dengan metode gravimetri berdasarkan metode Ljubuncic *et al.* (2005).

#### Analisa Total Fenol

Total fenol ditentukan berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008) dan Jayasri *et al.* (2009). 1 ml sampel ditambahkan 4 ml larutan natrium karbonat (75g/L) dan dikocok, selanjutnya ditambahkan 0,2 ml reagen Folin-ciocalteus fenol. Campuran yang diperoleh ditambahkan akuades hingga volume 10 ml dan dikocok kembali. Setelah sampel dibiarkan selama 1 jam diukur absorbansinya pada  $\lambda$  760 nm. Total fenol dinyatakan ekuivalen asam gallat (GAE).

#### Analisa Total Flavonoid

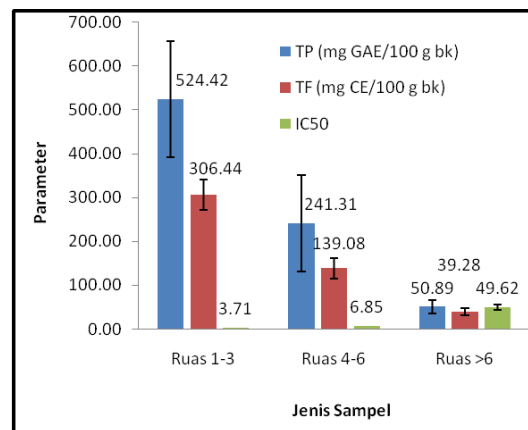
Total flavonoid ditentukan berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008). 1 ml sampel dimasukkan dalam labu takar 10 ml yang berisi 4 ml akuades dan ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{NaNO}_2$  5% (b/v). Sesudah 5 menit ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  10% (b/v), lalu sesudah 6 menit ditambahkan 2 ml larutan 1 mol/L NaOH dan diencerkan hingga volume 10 ml. Absorbansi larutan diukur pada  $\lambda$  510 nm. Total flavonoid dinyatakan ekuivalen katekin (CE).

### Analisa Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan sampel diukur berdasarkan modifikasi metode Aicha *et al.* (2006). 1 ml sampel pada berbagai variasi konsentrasi dalam pelarut metanol ditambahkan 3 ml larutan DPPH (60 $\mu$ M) dan metanol hingga volume 10 ml. Absorbansi larutan diukur pada  $\lambda$  517 nm setelah 30 menit. Kemampuan menghambat radikal bebas DPPH dinyatakan dengan % penghambatan =  $(A_0 - A_t) / A_0 \times 100\%$ , Dimana  $A_0$  adalah absorbansi kontrol pada saat  $t = 0$  detik dan  $A_t$  adalah absorbansi antioksidan pada saat  $t$ .

### 3. Hasil dan Pembahasan

Kadar total fenol, total flavonoid ekstrak daun beluntas ruas 1-3 paling tinggi dibandingkan ekstrak daun beluntas ruas 4-6 dan > 6. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa ekstrak ruas 1-3 paling kecil dibandingkan kedua ekstrak yang lain. Berdasarkan kadar total fenol, total flavonoid dan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak daun beluntas ruas 1-6 berpotensi sebagai sumber antioksidan (Gb 1). Daun yang lebih muda mempunyai kandungan fenolik paling tinggi (Bergquist *et al.* 2005), hal ini terkait dengan fungsi senyawa ini terutama flavonoid melindungi tanaman dari herbivora dan penyakit, patogen, insekta, bakteri, jamur dan virus (Hagerman 2002). Kahkonen *et al.* (2001) menyatakan bahwa kadar fenolik pada daun sangat dipengaruhi oleh tingkat umur daun, kondisi tanah, pemberian pupuk serta stress lingkungan baik secara fisik, biologi maupun kimiawi.



**Gambar 1 Total Fenol, Total Flavonoid dan IC<sub>50</sub> Ketiga Kelompok Ruas Daun Beluntas**

Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada daun beluntas kering dan ekstraksinya meliputi sterol, flavonoid, tanin dan fenol hidrokuinon (Tabel 1), namun pada fraksi air tidak ditemukan adanya sterol. Hal ini didukung oleh Ardiansyah (2003) bahwa daun beluntas mengandung senyawa fitokimia, seperti: fenol hidrokuinon, sterol dan tanin. Menurut Traithip (2005) bahwa senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya terdiri atas senyawa flavonoid dan polifenol. Proses ekstraksi dan kepolaran pelarut yang berbeda dapat mengubah profil senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel (Kahkonen *et al.* 2001).

**Tabel 1 Fitokimia pada daun beluntas, ekstrak metanolik dan fraksi-fraksinya**

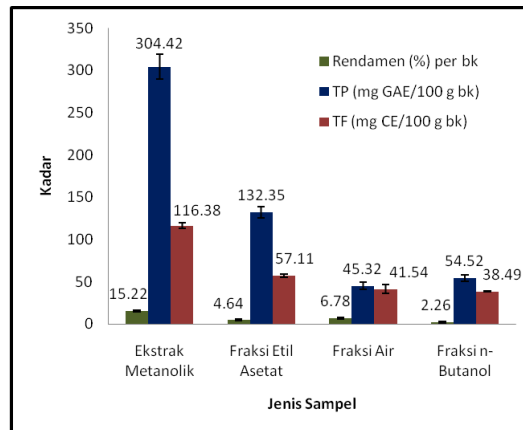
Jenis Sampel	Jenis Fitokimia			
	Sterol	Flavonoid	Tanin	Fenol Hidrokuinon
Daun Beluntas	+	+	+	+
Ekstrak Metanolik	+	+	+	+
Fraksi Etil Asetat	+	+	+	+
Fraksi Air	-	+	+	+
Fraksi n-butanol	+	+	+	+

Keterangan : + terdeteksi, - tidak terdeteksi

Pada ekstraksi pelarut, petroleum eter digunakan untuk menghilangkan lemak (*defatted*) dan memudahkan proses ekstraksi dan fraksinasi senyawa bioaktif dengan pelarut berikutnya. Zhang *et al.* (2009) menyebutkan bahwa ekstraksi pelarut pada sampel kering dapat melibatkan dua proses, yaitu : kontak sampel dengan pelarut sehingga terjadi pembengkakan dan hidrasi serta transfer massa komponen terlarut dari sampel ke pelarut. Pada ekstraksi soxhlet, metanol dapat mengekstrak senyawa fitokimia lebih banyak (Akroum *et al.*

2009; Juan *et al.* 2005), karena metanol dapat mengekstrak senyawa dengan berat molekul rendah, tingkat kepolaran sedang sebab sifat kelarutannya yang luas (Yu Lin *et al.* 2009). Proses fraksinasi dilakukan dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran. Soeksmanto *et al.* (2007) menyatakan bahwa penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak, fraksi etil asetat terkandung senyawa seperti asam-asam lemak dan fitosterol, fraksi n-butanol terdapat senyawa flavonoid glikosida dari benzofenon sedangkan ekstrak air berisi senyawa karbohidrat (glukosa dan sukrosa).

Kadar air tepung daun beluntas ruas 1-6 yang diperoleh sebesar 10,38%. Hasil ekstraksi dan fraksinasi menunjukkan bahwa ekstrak metanolik mempunyai kadar total fenol, total flavonoid dan rendamen paling besar (Gb 2), namun kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH ekstrak metanolik lebih rendah dari fraksi etil asetat dan n-butanol yang ditandai dengan  $IC_{50}$ , masing-masing sebesar 4,3; 3,3 dan 3,6 (Gb 4).

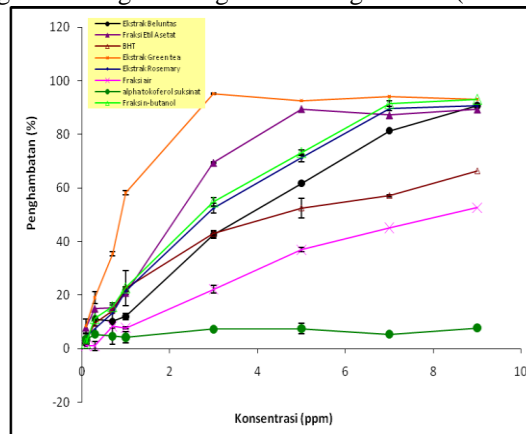


**Gambar 2 Rendamen, total fenol dan total flavonoid ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya**

Perbedaan tingkat kepolaran pelarut menentukan struktur kimia senyawa fenol yang terekstrak. Pengujian total fenol sangat tergantung pada struktur kimianya. Senyawa fenol yang mempunyai gugus fungsi hidroksil yang banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) akan dihasilkan kadar total fenol yang tinggi (Deore *et al.* 2009). Total flavonoid terukur sebanding dengan kadar total fenol, hal ini disebabkan flavonoid merupakan komponen terbesar dari senyawa fenol (Lugasi *et al.* 2003; Tapas *et al.* 2008). Pengujian total flavonoid ditentukan oleh reaktivitasnya terhadap reagen  $AlCl_3$  dan  $NaNO_2$  dalam kondisi basa kuat (NaOH), yang ditandai dengan terbentuknya kompleks warna antara orange hingga merah. Kadar total flavonoid dapat menjadi indikator keefektifannya sebagai penangkap radikal bebas (Tapas *et al.* 2008), karena dapat menghasilkan radikal fenoksil yang terstabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatis (Yu Lin *et al.* 2009). Efektivitas flavonoid sebagai penangkap radikal bebas ditentukan oleh : struktur (katekol) orthodihidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada atom C2-3 yang terkonjugasi dengan gugus fungsi C4-okso, gugus OH pada C3 di cincin C dan gugus OH pada C5 di cincin A (Lugasi *et al.* 2003; Tapas *et al.* 2008). Kombinasi gugus C3-OH dan C5-OH dengan C4-karbonil dan ikatan rangkap C2-C3 dapat meningkatkan aktivitas penangkap radikal bebas (Amic *et al.* 2003).

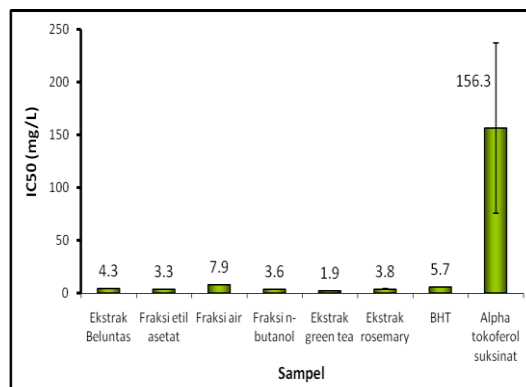
Hasil pengujian kemampuan menangkap radikal bebas DPPH ekstrak daun beluntas dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan antioksidan alami (ekstrak teh hijau dan rosemary) dan antioksidan sintetis (BHT dan alfa tokoferol suksinat) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat paling berpotensi sebagai antioksidan alami dari daun beluntas, namun masih lebih rendah dibandingkan ekstrak teh hijau. Hal ini juga tunjukkan dari nilai  $IC_{50}$ nya sebesar 3,3 sedangkan ekstrak teh hijau sebesar 1,9 (Gb 3 dan 4). Hasil pengujian kemampuan antioksidatif senyawa aktif dari ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan ekstrak antioksidan alami lain dan antioksidan sintetis diperoleh hasil bahwa : ekstrak teh hijau > fraksi etil asetat > fraksi n-butanol > ekstrak rosemary > ekstrak beluntas > BHT > fraksi air > alfa tokoferol suksinat. Perbedaan kemampuan antioksidatif senyawa antioksidan ini terhadap radikal bebas DPPH disebabkan karena perbedaan kemampuan mentransfer atom hidrogen (Nakiboglu *et al.* 2007) ke radikal bebas DPPH sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrasin yang berwarna kuning stabil (Chang *et al.* 2007; Kim *et al.* 2002). Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH dipengaruhi oleh polaritas dari medium reaksi, struktur kimia dari penangkap radikal dan pH campuran reaksi (Sharma dan Bhat 2009). Aktivitas antioksidan fenolik sangat ditentukan oleh struktur kimia, jumlah dan posisi gugus hidroksil dan metil pada cincin. Molekul tersubstitusi gugus hidroksil semakin banyak semakin kuat menangkap radikal bebas DPPH karena kemampuan

mendonorkan atom hidrogen semakin besar (Manthey 2004; Yu Lin *et al.* 2009). Struktur aglikon mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan struktur glikosida (Li *et al.* 2009).



**Gambar 3 Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH berbagai sumber antioksidan**

Ordaudi *et al.* (2006) menyatakan bahwa struktur kimia senyawa antioksidan, seperti : jumlah dan posisi gugus OH serta karakteristik rantai samping menentukan tingkah laku senyawa tersebut. Butkovicova *et al.* (2004) berpendapat ada korelasi antara struktur dan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH, namun tidak mudah membuktikan efek struktur terhadap kecepatan bereaksi dengan radikal bebas. Berdasarkan data TP dan TF (Gb 2) tidak ada korelasi positif antara kadar TP dan TF terhadap aktivitas antioksidan, hal ini membuktikan ada efek struktur dan komposisi senyawa fenolik dan flavonoid. Menurut Manthey (2004) bahwa kecepatan abstraksi ion hidrogen senyawa fenolik dan flavonoid sangat dipengaruhi oleh tingkat kepolaran larutan.



**Gambar 4 Nilai IC<sub>50</sub> dari berbagai sumber antioksidan**

### Kesimpulan

Daun beluntas ruas 1-6 lebih berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dibandingkan ruas >6 didasarkan pada total fenol, total flavonoid dan IC<sub>50</sub>. Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada daun beluntas meliputi tanin, sterol, fenol hidrokuinon dan flavonoid. Ekstrak metanolik daun beluntas menghasilkan rendamen, kadar total fenol dan kadar total flavonoid tertinggi, masing-masing sebesar 15,22 %, 304,42 mg GAE/100 g bk, 116,38 mg CE/100 g bk. Namun kadar total fenol dan total flavonoid tidak berkorelasi positif terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH. Fraksi etil asetat lebih berpotensi sebagai penangkap radikal bebas DPPH yang ditandai dengan IC<sub>50</sub> 3,3 paling rendah dari ekstrak metanolik daun beluntas (IC<sub>50</sub> 4,3) fraksi air (IC<sub>50</sub> 7,9) dan fraksi n-butanol (IC<sub>50</sub> 3,6), namun masih lebih tinggi dari ekstrak teh hijau (IC<sub>50</sub> 1,9). Urutan tingkatan aktivitas antioksidatif senyawa antioksidan berdasarkan IC<sub>50</sub> adalah sebagai berikut : ekstrak teh hijau> fraksi etil asetat> fraksi n-butanol> ekstrak rosemary> ekstrak beluntas> BHT> fraksi air> alfa tokoferol suksinat.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DP2-M Dirjen DIKTI atas biaya yang diberikan melalui dana Penelitian Hibah Bersaing 2008.

### Daftar Pustaka

Aicha, N. *et al.*, (2006), "A Comparative Evaluation of Mutagenic, Antimutagenic and Scavenging Radicals Activity of Essential Oil from *Pituranthos Chloranthus*", *SIPAM*, hal 362-371.

Akroum, S. Satta, D. dan Lalaoui, K., (2009), "Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Algerian Plants". *European Journal of Scientific Research*, 31(2), hal 289-295.

Amic, D. Davidovic-Amic, D. Bes'lo, D. dan Trinajstic, N., (2003), "Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids", *Croatia Chemical Acta*, 76, hal 55-61.

Andarwulan, N. *et al.*, (2010), "Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia", *Food Chemistry*, 121, hal 1231-1235.

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist 925.45., (1999), "Official methods of analysis of association of official analytical chemists". Edition ke-15. USA : Kenneth Helrich. Chapter 44.1.03. p.2.

Apak, R. *et al.*, (2007), "Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the cuprac assay", *Molecules*, 12, hal 1497-1547.

Aradiansyah, Nuraida, L. dan Andarwulan, N., (2003), "Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH". *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(2), hal 90-97.

Bergquist, S.A.M. Gertsson, U.E. Knuthsen, P. dan Olsson, M.E., (2005), "Flavonoids in baby spinach (*spinacia oleracea L.*): changes during plant growth and storage". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, hal 9459-9464.

Biswas, R. *et al.*, (2005), "Isolation, purification and characterization of four pure compounds from the root extract of *Pluchea indica Less* and the potentiality of the root extract and the pure compounds for antimicrobial activity", *European Bulletin of Drug Research*, 13, hal 63-70.

Butkovic, V. Klasinc, L. dan Bors, W., (2004), "Kinetic study of flavonoid reactions with stable radicals", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, hal 2816-2820.

Chang, H.Y. *et al.*, (2007), "Antioxidant and free radical scavenging activities of *Phellinus merrillii* extracts", *Botanical Studies*, 48, hal 407-417.

Deore, S.L. *et al.*, (2009), "In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*", *International Journal of Chemical Technology Research*, 1(2), hal 174-176.

Dorman, H.J.D. dan Hiltunen, R., (2004), "Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis L.*) extract and subfractions", *Food Chemistry*, 88, hal 193-199.

Harbone, J.B., (1996), *Metode fitokimia*, Padmawinata K, Soediro I, penerjemah, Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Hagerman, A.E. *et al.*, (2002), "High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, hal 1887-1892.

Hoa, C.H.L. Cacacea, J.E. dan Mazza, G., (2007), "Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water", *LWT*, 40, hal 1637-1647.

Huang, D. Ou, B. dan Prior, R.L., (2005), "The chemistry behind Antioxidant capacity assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, hal 1841-1856.

Jayasri, M.A. Mathew, L. dan Radha, A., (2009), "A report on the antioxidant activity of leaves and rhizomes of *Costus pictus D. Don*", *International Journal Integrative Biology*, 5(1), hal 20-26.

Juan, C. *et al.* (2005), "Accelerated solvent extraction of ochratoxin a from rice samples", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, hal 9348-9351.

Kahkonen, M.P. Hopia, A.I. dan Heinonen, (2001), "Berry phenolics and their antioxidant activity", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, hal 4076-4082.

- Kim, D.O. Lee, K.W. Lee, H.J. dan Lee, C.Y., (2002), "Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, hal 3713-3717.
- Kumar, S. *et al.* (2008), "Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) schrad. methanolic fruit extract", *Acta Pharmacology*, 58, hal 215-220.
- Li, C. *et al.* (2009), "Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia Section Moutan*) yellow flowers", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, hal 8496-8503.
- Ljubuncic, P. *et al.* (2005), "Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel", *Journal of Ethnopharmacology*, 99, hal 43-47.
- Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V. dan Bíró, L., (2003), "The Role of Antioxidant Phytonutrients In The Prevention of Diseases", *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), hal 119-125.
- Luger, P. *et al.* (2000), "The crystal structure of hop-17(21)-en-3 $\beta$ -yl asetat of *Pluchea pteropoda* Hemsl. from Vietnam", *Crystal Res Technology*, 35(3), hal 355-362.
- Manthey, J. A. 2004. Fractionation of orange peel phenols in ultrafiltered molasses and mass balance studies of their antioxidant levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7586-7592.
- Martins, M.A.P. *et al.* (2001), "Molecular structure of heterocycles: 6. solvent effects on the 17O NMR chemical shifts of 5-trichloromethylisoxazoles", *Journal Brazil Chemical Society*, 12(6), hal 804-808.
- Nakiboglu, M. Urek, R.O. Kayali, H.A. dan Tarhan, L., (2007), "Antioxidant capacities of endemic *sideritis sipylea* and *origanum sipyleum* from turkey", *Food Chemistry*, 104, hal 630-635.
- Ordoudi, S.A. Tsimidou, M.Z. Vafiadis, A.P. dan Bakalbassis, E.G., (2006), "Structure - DPPH scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaiacol acid derivatives", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, hal 5763-5768.
- Sharma, O.P. dan Bhat, T.K. (2009), "Analytical methods DPPH antioxidant assay revisited", *Food Chemistry*, 113, hal 1202-1205.
- Soeksmanto, A. Hapsari, Y. dan Simanjuntak, P., (2007), "Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae)", *Biodiversita*, 8(2), hal 92-95.
- Sousa, A. *et al.*, (2008), "Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives "alcaparras", *LWT*, 41, hal 739-745.
- Tapas, A. Sakarkar, D.M. dan Kakde, R.B., (2008), "Flavonoids as nutraceuticals: a review", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), hal 1089-1099.
- Traithip, A. 2005. *Phytochemistry and antioxidant activity of Pluchea indica*. [Thesis] Mahidol University. Thailand.
- Widyawati, P.S., (2004), "Aktivitas antioksidan tanaman herba kemangi (*Ocimum Basicillum* Linn) dan beluntas (*Pluchea Indica* Less) dalam sistem model asam linoleat- $\beta$ -karoten". Laporan Penelitian Wima Grant, Unika Widya Mandala Surabaya, Surabaya.
- Yu Lin, H. Kuo, Y.H. Lin, Y.L. dan Chiang, W., (2009), "Antioxidative effect and active components from leaves of lotus (*Nelumbo nucifera*)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, hal 6623-6629.
- Zhang, H.F. Yang, X.A. Zhao, L.D. dan Wang, Y., (2009), "Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1.