

**PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FLAVONOID DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN MATOA (*Pometia pinnata*)**

Nyoman Citra Suryani¹, Dewa Gede Mayun Permana², A.A.G.N. Anom Jambe²

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

Email: suryani_citra@ymail.com

ABSTRACT

This research was conducted to determine effect the kinds of solvent to antioxidant activity and total flavonoid of the extract matoa leaf. The experimental design used in this research was a randomized block design with 5 treatments (water, methanol 95%, ethanol 95%, acetone 90% and isopropanol 96%). The treatment was repeated three times to obtain 15 experimental units. The data were analyzed by randomized block design. If there was a significant effect on the observed parameters, then followed by Duncan multiple range test. The result showed that the treatment significantly effected ($P < 0.01$) on antioxidant activity and total flavonoid. The highest of antioxidant was obtained on acetone that was 27.526 mg/100gram GAEAC and IC 50 of 43,53 ppm. The highest of total flavonoid 1,99 % was obtain on methanol treatment.

Key word: *matoa leaves, extraction, solvent, antioxidant, flavonoid*

PENDAHULUAN

Keseimbangan antara kandungan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan manusia. Secara alami tubuh menghasilkan senyawa antioksidan, namun tidak cukup kuat untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh sendiri setiap harinya (Hernani & Raharjo, 2005), sehingga menyebabkan radikal bebas menjadi sangat dominan di dalam tubuh. Kekurangan antioksidan dalam tubuh dapat diatasi melalui asupan makanan dari luar yang cukup mengandung antioksidan. Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari tanaman yang banyak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti asam fenolat, flavonoid, tokoferol dan tannin. Tanaman matoa merupakan salah satu tanaman dari famili *Sapindaceae* dan tersebar luas di daerah tropis, termasuk Indonesia.

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana

²Dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana

Tanaman matoa di Bali dikenal dengan nama “Liseh”. Tanaman ini sejak dulu telah dimanfaatkan oleh Bangsa Asia seperti Malaysia dan Indonesia sebagai salah satu obat-obatan tradisional dan diketahui mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Menurut Variany (1999), daun matoa segar yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol, mengandung senyawa flavonoid dan juga terdapat senyawa yang mengarah pada golongan saponin dan tanin. Berdasarkan penelitian Mahardika dan Yoga (2012) menyebutkan bahwa ekstraksi daun matoa segar pada bagian ujung mempunyai kapasitas antioksidan dan total fenol tertinggi

Daun matoa merupakan tanaman lokal Indonesia yang mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai zat antioksidan alami. Pengambilan senyawa aktif dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan ekstraksi pelarut. Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut (Harborne, 1987). Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan jenis pelarut manakah yang terbaik untuk mendapatkan kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tertinggi.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Pangan dan Laboratorium Analisis Pangan, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Sudirman. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2015 hingga April 2015

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Oven (*Memmert*), kertas saring Whatman 42, timbangan analitik (*Shimadzu*), mikropipet (*Socorex*), botol timbang (*pyrex*), ayakan 60 mesh (*Retsch*), spektrofotometer UV –Vis (*Genesys 10S Uv-Vis*), *rotary vakum evaporator*, tabung reaksi(*pyrex*), pipet volume 1 ml (*pyrex*), pipet volume 5 ml (*pyrex*), gelas beker (*pyrex*), labu ukur

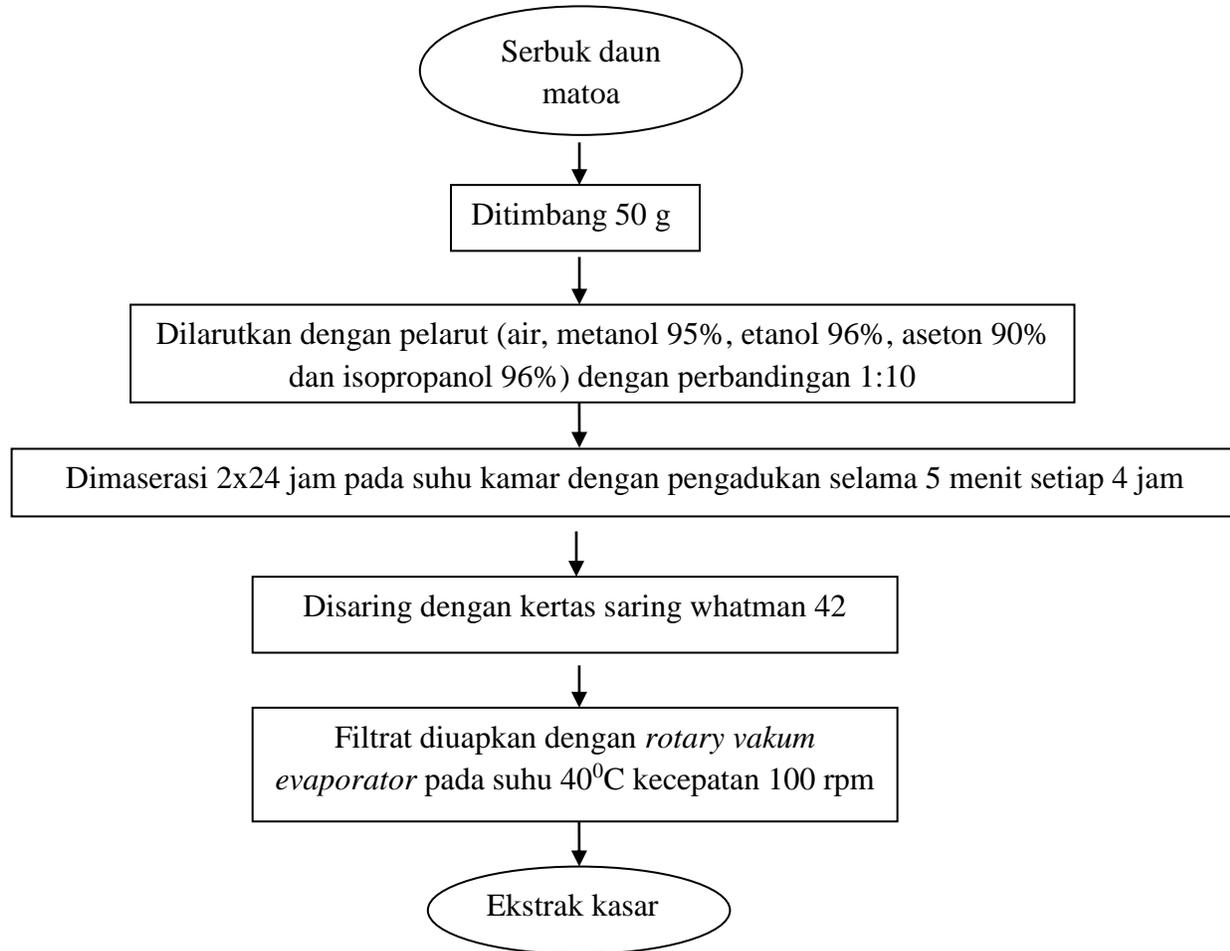
(pyrex). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa muda dengan kriteria warna yang berwarna hijau muda, daun muda diambil dari pucuk daun hingga 2-3 tangkai di bawah pucuk. Daun matoa yang akan digunakan berasal dari Desa Gunaksa, Kecamatan Dawan, Kabupaten Klungkung, Bali. Bahan kimia yang digunakan antara lain: metanol 95%, etanol 96%, air, aseton 90%, isopropanol 96%, serbuk Mg, HCl pekat (*Merck*), $AlCl_3$ 2% (*Merck*), akuades, kuersetin (*Sigma*), metanol PA (*Merck*), etanol 50% (*Merck*), asam galat (*Merck*), DPPH 1 mM (*Sigma-aldrich*)

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan jenis pelarut yang terdiri dari 5 pelarut yaitu air, metanol 95%, etanol 96%, aseton 90% dan isopropanol 96%. Percobaan dilakukan dengan 3 kali ulangan, sehingga terdapat 15 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan bila perlakuan berpengaruh.

Pelaksanaan percobaan

Daun matoa segar dicuci bersih kemudian dioven pada suhu 40°C selama 12 jam. Daun matoa yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk daun matoa ditimbang masing masing 50 gram dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 selanjutnya didiamkan selama 2 x 24 jam. Selama proses maserasi dilakukan proses pengadukan setiap 4 jam sekali selama 5 menit. Proses maserasi dilakukan dalam kondisi wadah tertutup rapat pada suhu ruang, setelah maserasi 2 x 24 jam larutan di disaring kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* suhu 40°C kecepatan 100 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk dihitung rendemen ekstraknya kemudian ditempatkan didalam botol, untuk selanjutnya dilakukan analisis kapasitas antioksidan, aktivitas antioksidan, kualitatif flavonoid dan total flavonoid. Diagram alir proses pembuatan ekstrak daun matoa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Ekstrak Daun Matoa

Variabel yang Diamati

Kadar air (AOAC, 2005)

Botol timbang dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 105°C selama 30 menit. Botol timbang yang telah dikeringkan didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sebanyak ± 2 gram serbuk daun matoa kering dimasukkan ke botol timbang, kemudian dikeringkan dengan oven 105°C selama 3 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Setelah dingin botol timbang beserta serbuk daun matoa ditimbang. Cawan dan sampel yang telah ditimbang dikeringkan kembali dengan oven selama ± 2 jam hingga diperoleh berat konstan.

Penentuan rendemen

Serbuk daun matoa ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian serbuk diekstraksi menggunakan berbagai jenis pelarut (air, metanol 95%, etanol 96%, aseton 90% dan isopropanol 96%), kemudian dimaserasi selama 2 x 24 jam pada suhu kamar, selanjutnya disaring sehingga diperoleh filtrat, filtrat yang

diperoleh dievaporasi, sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar tersebut ditimbang, untuk selanjutnya dihitung rendemennya

Analisis Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif (Pratiwi *et al.*, 2010)

Ekstrak kasar daun matoa dari masing-masing pelarut metanol, etanol, air, aseton dan isopropanol diambil 1 g ditambahkan pelarut campuran kloroform: aquades (1:1) dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dibiarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan yang berada diatas digunakan untuk pemeriksaan flavonoid. Lapisan diambil sedikit kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan sedikit bubuk logam Mg serta beberapa tetes asam klorida (HCl) pekat. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning – orange.

Penentuan Total Flavonoid (Chang and Wen, 2002 yang dimodifikasi)

Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen alumunim klorida. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 mg/L, di tambahkan dengan 1 mL AlCl₃ 2% yang telah dilarutkan dengan etanol 50%, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 20 menit, inkubasi campuran larutan selama 24 menit. Ukur absorbansi pada 415 nm. Perhitungan dilakukan dengan 3 kali pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan pembanding baku (Chang dan Wen, 2002).

Uji Kapasitas Antioksidan (Kubo *et al.*, 2002)

Asam galat digunakan sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 0, 3, 6, 9, 12 dan 15 ppm. Sampel ditimbang 0,01 g, diencerkan menjadi 10 ml dengan metanol PA, divortek, disaring sampai diperoleh filtrat. Filtrat dan standar dipipet hingga total volume menjadi 0,5 ml ditambahkan 3,5 ml DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) pada tabung reaksi, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Sampel diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Kapasitas antioksidan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier $y = ax + b$. Perhitungan kapasitas antioksidan dilakukandengan 3 kali ulangan dan kapasitas antioksidan dinyatakan dengan kesetaraan pembanding baku GAEAC (mg/ 100 gram).

Uji Aktivitas Antioksidan (Molyneux, 2004)

Ekstrak kasar pelarut air, metanol 95%, etanol 96%, aseton 90% dan isopropanol 96%, dibuat dalam berbagai konsentrasi. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan kristal DPPH sebanyak 0,0040 gram dalam 100 ml metanol PA`. Larutan ekstrak direaksikan dengan 3,5 ml larutan DPPH dalam tabung reaksi. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko juga diukur untuk melakukan perhitungan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 0,5 ml metanol dengan 3,5 ml larutan DPPH dalam tabung reaksi. Aktivitas masing masing ekstrak dinyatakan dalam presentase penghambatan radikal bebas yang dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi sampel (ekstrak daun matoa) dan penghambatan ekstrak, diplot masing masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier $y = a(x) + b$, persamaan tersebut digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (inhibitor concentration 50%) masing masing sampel, dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air Daun Matoa Segar dan Kering

Hasil analisis kadar air menunjukkan bahwa daun matoa segar mempunyai kadar air 69,97% dan daun matoa yang telah dikeringkan memiliki kadar air sebesar 7.16%. Suatu bahan perlu diketahui kadar airnya untuk melihat seberapa banyak air yang terkandung di dalam bahan dan ketahanannya dalam penyimpanan. Air bebas dalam bahan dapat mempercepat tumbuhnya mikroba sehingga mempercepat kerusakan bahan (Winarno, 2002). Proses pengeringan merupakan salah satu cara untuk mengurangi kadar air dalam bahan. Kadar air yang berkurang pada sampel dapat mempermudah penghancuran bahan menjadi serbuk untuk proses ekstraksi dan juga kerusakan dinding sel selama pengeringan akan mempermudah pengeluaran senyawa dalam bahan (Hernani dan Raharjo, 2005). Kadar Air daun matoa segar dan daun matoa kering dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Air Daun Matoa Segar dan Daun Matoa Kering

Sampel	Kadar Air %
Daun Matoa Segar	69,97 (\pm 1,66)
Serbuk Daun Matoa	7,16 (\pm 0,21)

Rendemen Ekstrak Daun matoa, Kapasitas Antioksidan Daun matoa, Aktivitas Antioksidan (IC 50), Flavonoid secara Kualitatif dan Total Flavonoid.

Perbedaan jenis pelarut akan mempengaruhi rendemen ekstrak daun matoa, kapasitas antioksidan, aktivitas antioksidan (IC 50), flavonoid secara kualitatif dan total flavonoid. Pengaruh jenis pelarut terhadap ekstrak daun matoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen, kapasitas antioksidan, aktivitas antioksidan (IC 50), flavonoid secara kualitatif dan total flavonoid ekstrak daun matoa

Perlakuan Jenis Pelarut	Rendemen (%)	Kapasitas Antioksidan Setara Asam Galat (mg/100 gram)	Aktivitas Antioksidan (IC 50) (mg/L)	Flavonoid secara Kualitatif	Total Flavonoid (%)
Air	31,27% ^{ab}	11.172 ^d	494,65 ^a	+	1,90 ^a
Metanol	38,68% ^a	22.340 ^{ab}	58,66 ^{de}	+	1,99 ^a
Etanol	28,47% ^{bc}	16.435 ^{bc}	73,57 ^{cd}	+	1,90 ^a
Aseton	24,47% ^c	27.526 ^a	43,53 ^e	+	1,79 ^a
isopropanol	13,00% ^d	12.827 ^{cd}	119,35 ^b	+	1,22 ^b

Keterangan:

* Nilai Rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$)

* Tanda (+) menyatakan ekstrak daun matoa positif mengandung senyawa flavonoid

Rendemen ekstrak daun matoa

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun matoa. Rata – rata rendemen ekstrak daun matoa dapat dilihat pada Tabel 2. Perbedaan jenis pelarut akan mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan. Pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Metanol merupakan cairan penyari yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna (Lenny, 2006). Tingginya rendemen ekstrak daun matoa dengan pelarut metanol menunjukkan bahwa pelarut metanol pada daun matoa mampu mengekstrak senyawa lebih baik, karena perolehan senyawa didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut.

Kapasitas antioksidan

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak daun matoa. Rata – rata perlakuan tiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan jenis pelarut aseton sebesar 27.526 GAEAC (mg/100gram). Hal ini berarti ekstrak daun matoa dengan pelarut aseton mengandung senyawa- senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antioksidan yang lebih baik, jika dibandingkan ekstrak daun matoa dengan pelarut lainnya, sehingga lebih efektif dalam penghambatan radikal bebas DPPH. Adanya senyawa bioaktif pada ekstrak daun matoa dengan pelarut aseton menunjukkan senyawa tersebut mempunyai kepolaran yang relatif sama dengan aseton. Sesuai dengan prinsip “*like dissolve like*” perolehan senyawa

kimia didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut yang digunakan (Harborne, 1987). Menurut Harborne (1987) terdapat senyawa-senyawa metabolit sekunder yang mudah larut dalam pelarut aseton seperti klorofil dan beberapa senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan.

Aktivitas antioksidan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap aktivitas antioksidan (IC 50) ekstrak daun matao. Rata-rata nilai IC 50 ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Aktivitas antioksidan diukur dengan cara melihat kemampuan peredaman DPPH oleh ekstrak, yang disebut juga sebagai persen inhibisi. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *inhibition conceentration* (IC 50). Penentuan IC 50 masing masing ekstrak bertujuan untuk memperoleh jumlah dosis ekstrak yang dapat meredam radikal bebas sebesar 50%. Ekstrak daun matao dengan pelarut aseton memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun matao dengan pelarut lainnya. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai IC 50 maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan (Molyneux, 2004). Menurut Blois (1958), suatu senyawa memiliki antioksidan sangat kuat apabila nilai IC 50 kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat apabila nilai IC 50 antara 50 – 100 ppm, antioksidan sedang apabila nilai IC 50 berkisar antara 100-150 ppm dan antioksidan lemah apabila IC 50 berkisar antara 150-200 ppm dan apabila nilai IC 50 diatas dari 200 ppm maka termasuk kedalam antioksidan sangat lemah.

Ekstrak daun matao dengan pelarut aseton memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak daun matao dengan pelarut metanol, etanol, air, dan isopropanol. Hal ini dikarenakan senyawa senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun matao dengan pelarut aseton lebih berperan aktif sebagai antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH, Berarti senyawa bioaktif yang berperan sebagai penghambat radikal bebas dari ekstrak daun matao dapat terekstrak baik jika menggunakan pelarut aseton. Menurut Bianca *dalam* Ingrid dan Santoso (2014) ekstraksi klorofil dengan alkohol seperti aseton pada jaringan tanaman memberikan hasil yang lebih baik. Menurut Harborne (1987) terdapat senyawa-senyawa metabolit sekunder yang mudah larut dalam pelarut aseton seperti klorofil dan beberapa senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan.

Flavonoid Secara Kualitatif

Analisis ini dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif keberadaan flavonoid dalam ekstrak daun matao dengan melihat perubahan warna menjadi merah, kuning, kuning orange dan kuning kecoklatan pada lapisan amil alkohol setelah direaksikan dengan serbuk Mg. Hasil analisis kualitatif flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data diatas dapat dilihat bahwa semua jenis pelarut positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid cenderung larut dalam ekstrak polar dengan prinsip *like dissolve like*.

Flavonoid secara Kuantitatif

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak daun matoa. Rata-rata perlakuan tiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Dilihat dari data di atas daun matoa yang diekstrak dengan pelarut metanol memiliki total flavonoid tertinggi dibandingkan pelarut lainnya. Hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut dalam melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari tingkat kepolaran pelarut dan senyawa yang diekstrak. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harborne, 1987). Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar. Menurut Harborne (1987) senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut. Tingginya total flavonoid pada ekstrak daun matoa dengan pelarut metanol menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun matoa mempunyai kepolaran yang sama dengan metanol, sehingga ekstrak daun matoa dengan pelarut metanol menghasilkan kandungan senyawa flavonoid tertinggi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bedasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perlakuan jenis pelarut berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan total flavonoid ekstrak daun matoa.
2. Jenis pelarut terbaik untuk menghasilkan kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah pelarut metanol dan aseton.

Saran

1. Perlu dilakukan uji lebih lanjut terhadap kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun matoa dengan pelarut aseton.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists, Washington D.C.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant Determinations by The Use of a Stable Free Radical, *Nature*, 181:1199-1200.
- Chang C. Y. M., and Wen. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complimentary Colorimetric Methods. *J. Food Drug Anal*
- Harborne J.B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hernani dan M. Raharjo. 2005. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadya.
- Ingrid H.M., dan H Santoso. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Universitas Khatolik Parahyangan.
- Kubo I, Masuda, Xiao., and Haraguchi. Antioxidant activity of deodecyl gallate. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 3533-3539.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida (Makalah). Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Mahardika P.M., and W.Yoga. 2012. Kapasitas Antioksidan (*Pometia pinnata*).Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Denpasar
- Molyneux P. 2004.The Use of The Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219.
- Pratiwi, M., M. Suzery., and B. Cahyono. 2010. Total Fenolat dan Flavonoid Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) Jawa Tengah Serta Antioksidannya. Universitas Diponegoro, jurnal Sains 18(1) :140-148
- Variany, G., 1999. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun *Pometia pinnata* J.R&G.Forst, nomor 1785, media informasi penelitian herbal Fakultas Farmasi. Universitas Tanjung Pura. Pontianak
- Winarno. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Cetakan Kesembilan. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta