

Pengaruh Jenis Pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Ginanjari Rifai¹⁾, I Wayan Rai Widarta²⁾, Komang Ayu Nocianitri²⁾

¹⁾Mahasiswa Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

²⁾Dosen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

Email : masginanjar@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted in order to determine the type of solvent and ratio between sample and solvent to produce extract avocado seed with the highest antioxidant activity. The experimental design used in this research was a factorial completely randomized design which consisted of two factors. The first factor was the type of solvent consisting of ethanol, methanol, and acetone. The second factor was ratio between sample and solvent of 1:5, 1:10, and 1:15. The treatment was repeated three time to obtain 27 units of the experiment. Data were analyzed with analysis of variance, followed by Duncan test. The results show that the solvent of acetone and ratio between sample and solvent of 1:15 was highest antioxidant activity with total phenolic 803.60 mg/100g, IC₅₀ was 540.95 ppm, and yield 41.36%.

Keywords : avocado seeds, antioxidant activity, phenolic, ultrasonic.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan, sehingga itu bersifat tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (Winarti, 2010). Lemak dan bahan pangan yang mengandung lemak dapat mengalami kerusakan selama pengolahan dan penyimpanan karena terbentuk radikal bebas (Santoso, 2016). Radikal bebas juga dapat merusak sel dalam tubuh sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Radikal bebas menjadi awal kerusakan sel, sehingga timbulnya penyakit seperti penuaan dini, kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, katarak, dan liver (Wijaya, 1996). Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan, dengan mekanisme pertahanan antioksidan

endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar. Salah satu pencegahan yang perlu dilakukan untuk menghindari timbulnya penyakit-penyakit tersebut adalah dengan mengkonsumsi makanan atau obat-obatan yang mengandung antioksidan (Lim *et al.*, 2002).

Antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal bebas menjadi stabil (Winarti, 2010). Meenakshi *et al.* (2009) mengelompokkan antioksidan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan buatan dan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan buatan dalam bahan pangan harus lebih hati-hati. Penggunaan dalam jangka waktu lama dan dosis yang berlebihan dapat mengganggu kesehatan karena bersifat karsinogen (Ketaren, 1986). Hal ini mendorong berbagai

penelitian untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman dari sumber alami yang banyak ditemukan dalam sayur-sayuran, buah-buahan dan biji-bijian.

Salah satu bahan pangan yang kaya akan antioksidan adalah buah alpukat (*Persea americana* Mill). Alpukat merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia (Afriansyah, 1996). Biji alpukat adalah limbah dari buah alpukat yang sangat jarang dimanfaatkan. Biji alpukat diketahui memiliki manfaat sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi, maag kronis dan hipertensi (Widyanti, 2007). Vinha *et al.* (2013) melaporkan bahwa pada biji alpukat mengandung komponen-komponen fitokimia seperti fenolik 704,0 mg/100 g, flavonoid 47,9 mg/100 g, karoten 0,988 mg/100 g, vitamin C 2,6 mg/100 g dan vitamin E 4,82 mg/100 g. Senyawa fenolik dikenal sebagai salah satu bagian terpenting tanaman dan memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas. Senyawa fenolik mampu bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbang elektron kepada radikal bebas (Kawamura *et al.*, 2011). Senyawa ini dapat mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, dan diabetes (Khoddami *et al.*, 2013).

Pengambilan senyawa fenolik dari biji alpukat dapat dilakukan dengan cara ekstraksi. Metode ekstraksi yang banyak digunakan adalah metode ultrasonik. Keuntungan utama dari ekstraksi dengan metode ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi dengan metode konvensional lainnya adalah efisiensi lebih besar dan waktu operasinya lebih singkat. Menurut hasil penelitian Lita (2010) total fenolik yang diperoleh dari

ekstraksi daun sendok (*Plantago major* L.) menggunakan metode ultrasonik jauh lebih besar dibandingkan ekstraksi menggunakan metode maserasi. Sementara itu, menurut Sari *et al.* (2012), yang melakukan ekstraksi rumput laut (*Kappahycus alvarezzi*) dengan bantuan ultrasonik menghasilkan total fenolik yang tinggi, waktu yang singkat dan suhu yang lebih rendah dari pada ekstraksi dengan metode maserasi.

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah jenis pelarut, rasio bahan pelarut, waktu, suhu ukuran partikel dan jumlah pelarut yang digunakan (Prasetyowati dan Tera, 2010). Selama proses ekstraksi, bahan aktif akan terlarut oleh zat pelarut yang sesuai sifat kepolarannya. Senyawa fenolik adalah senyawa yang bersifat polar (Robinson, 1995), sehingga diperlukan pelarut yang bersifat polar. Delazar *et al.* (2012) menjelaskan bahwa etanol, metanol dan aseton adalah jenis pelarut yang sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik pada tumbuhan dan tanaman herbal. Selama proses ekstraksi rendemen akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah pelarut. Peningkatan rendemen ini diakibatkan karena semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan pelarut mengalami kejenuhan juga dapat dihindari. Akan tetapi, setelah jumlah pelarut dinaikkan dalam jumlah tertentu maka peningkatan rendemen relatif kecil dan cenderung menjadi konstan (Ahmad *et al.*, 2008). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan jenis pelarut dan rasio bahan dengan pelarut tertentu dengan metode ultrasonik agar

dapat menghasilkan ekstrak biji alpukat dengan kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Analisis Pangan, Mikrobiologi Pangan dan Pengolahan Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Penelitian ini dilaksanakan pada Januari sampai dengan Maret 2017.

Alat dan Bahan

Peralatan-peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sonikator (*Elma*), rotary vakum evaporator (*Ika Labortechnik*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10s Uv-Vis*), oven (*Labo DO 225*), blender (*Phillip*), timbangan analitik (*shimadzu*), mikropipet (*Socorex*), kertas saring *Whatman* no 1, cawan aluminium, oven, pipet ukur (*pyrex*), pipet tetes, labu lemak (*pyrex*), corong, pinset, *sheating mantle*, *aluminium foil*, pisau, loyang, label, tabung ukur, tabung reaksi (*pyrex*), dan botol kaca.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah biji buah alpukat hijau bundar (*Persea americana* Mill.) yang didapatkan dari penjual es buah di sekitar Kampus Bukit Jimbaran Universitas Udayana yang memiliki umur penyimpanan 24 jam. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain : aquades, etanol, metanol, aseton, asam galat, *folin-ciocalteau*, Na_2CO_3 7,5% dan DPPH.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan perlakuan jenis pelarut dan rasio bahan dengan jenis pelarut. Faktor pertama adalah jenis pelarut yang terdiri dari 3 jenis pelarut yaitu: P1= ekstraksi menggunakan etanol, P2= ekstraksi menggunakan metanol, P3= ekstraksi menggunakan aseton. Faktor kedua adalah rasio bahan dengan pelarut yang terdiri dari 3 taraf yaitu $R1 = 1:5$, $R2 = 1:10$ dan $R3 = 1:15$. Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 27 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA). Jika perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter yang diamati selanjutnya dianalisis dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah rendemen (Jayanudin *et al.*, 2014), total fenolik dengan metode *folin-ciocalteau* (Garcia *et al.*), dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Sompong *et al.*).

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan bahan-bahan dimulai dari biji alpukat dikupas kulit arinya, kemudian dibelah menjadi empat bagian, selanjutnya biji alpukat direbus selama 5 menit dengan suhu 70°C , setelah perebusan biji alpukat dipotong tipis-tipis dengan tebal 3 mm. Setelah itu, dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Biji alpukat yang kering, dihancurkan hingga halus menggunakan blender, kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh serbuk biji

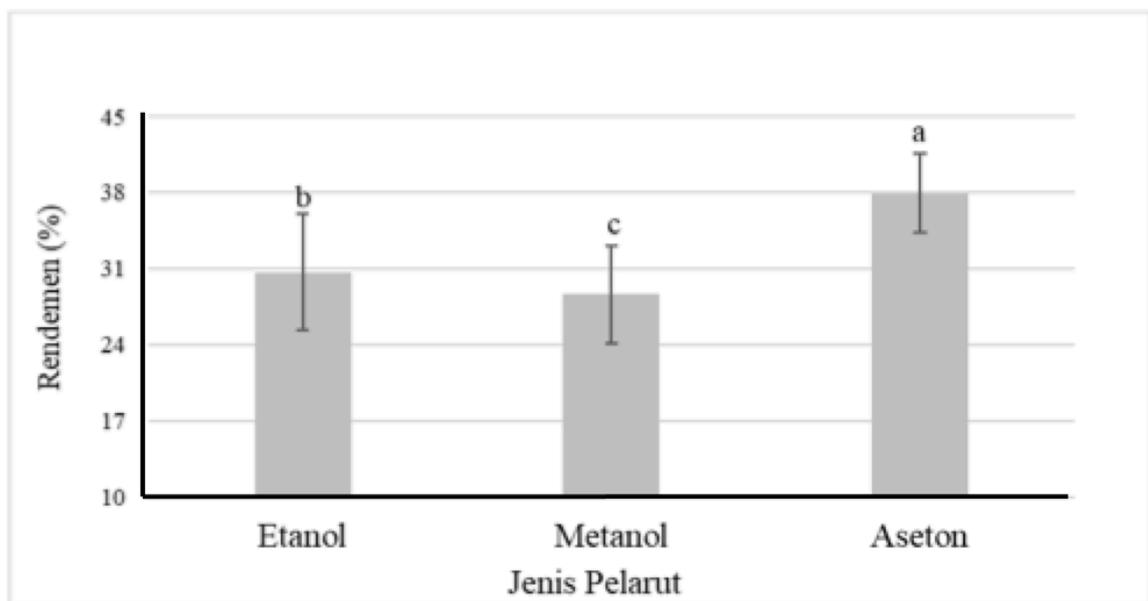
alpukat (Prasetyowati dan Tera, 2010). Serbuk biji alpukat, ditimbang sebanyak 15 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan pelarut sesuai dengan perlakuan (etanol 60%, metanol 60%, dan aseton 60%) dengan masing-masing perbandingan pelarut (1:5, 1:10 dan 1:15). Diekstraksi menggunakan metode *ultrasonic bath* pada frekuensi 37 kHz bersuhu 30°C selama 30 menit. Kemudian disaring dengan kertas Whatman No. 1 sehingga diperoleh filtrat yang bebas ampas. Filtrat diuapkan dengan *rotary vacum evaporator* pada tekanan ± 200 mBar, suhu 40 °C. Ekstrak yang didapat dikemas dengan botol gelap. Setelah itu dianalisis rendemen serbuk biji alpukat, kandungan senyawa fenolik dan aktivitas

antioksidan (Widarta dan Wiadnyani, 2016) yang dimodifikasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi jenis pelarut dan rasio bahan dengan jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak biji alpukat, akan tetapi perlakuan jenis pelarut dan rasio bahan dengan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen ekstrak biji alpukat. Nilai rerata rendemen ekstrak biji alpukat pada perlakuan jenis pelarut dapat dilihat pada Gambar 1. Nilai rerata rendemen ekstrak biji alpukat pada perlakuan rasio bahan dengan pelarut dapat dilihat pada Gambar 2.

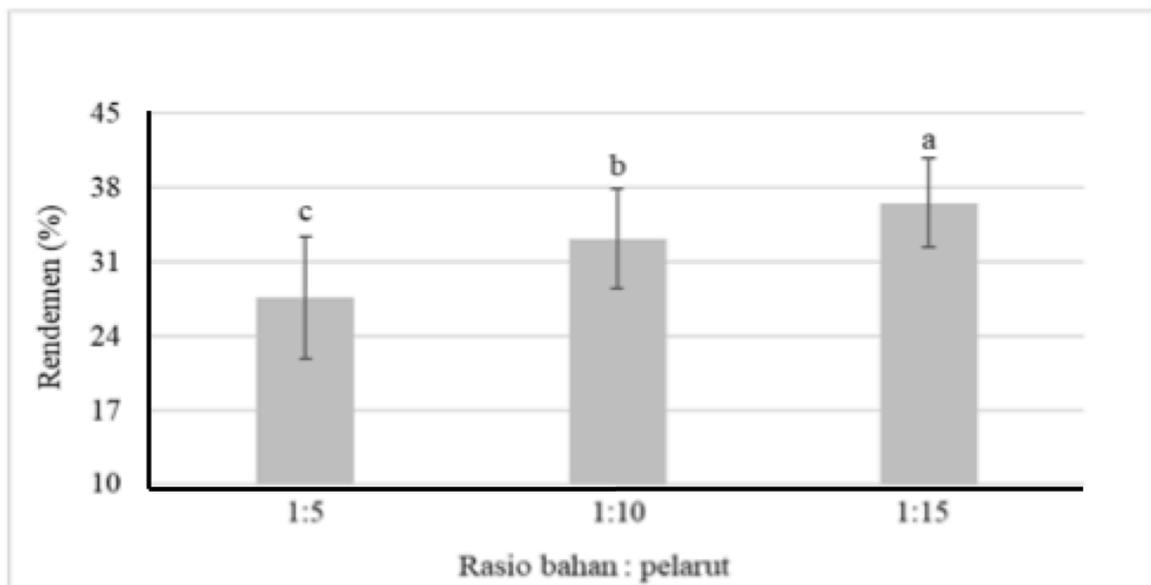


Gambar 1. Rerata rendemen (%) ekstrak biji alpukat pada perlakuan jenis pelarut.

**Keterangan : Huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata.

Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi dihasilkan pada perlakuan pelarut aseton yaitu 37,98% yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan pelarut etanol yaitu 30,71% dan pelarut metanol 28,66%. Jumlah rendemen pada ekstrak biji alpukat bergantung pada sifat kepolaran jenis pelarut. Penelitian ini menunjukkan bahwa kepolaran senyawa yang terkandung pada ekstrak biji alpukat mempunyai kepolaran yang mendekati kepolaran aseton, sehingga dapat terekstrak lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Sari *et al.* (2012) yang meneliti tentang pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen dan karakteristik ekstrak pewarna dari buah pandan (*Pandanus tectorius*) menunjukkan bahwa aseton menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan dengan pelarut etanolnya. Selain itu, hasil

penelitian Nurvita *et al.* (2013) yang meneliti tentang pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi kurkuminoid dari rimpang temulawak menunjukkan bahwa aseton menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan pelarut etil asetat dan etanol. Menurut Voight (1994) proses penarikan bahan (ekstraksi) terjadi dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel yang menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan yang terkandung dalam sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Daya melarutkan yang tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Harborne (1987) menyatakan bahwa tumbuhan mengandung banyak senyawa fenolik, senyawa fenolik ini memiliki sifat yang cenderung larut dalam pelarut polar.



Gambar 2. Rerata rendemen ekstrak (%) biji alpukat pada perlakuan rasio pelarut.
 **Keterangan : Huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata.

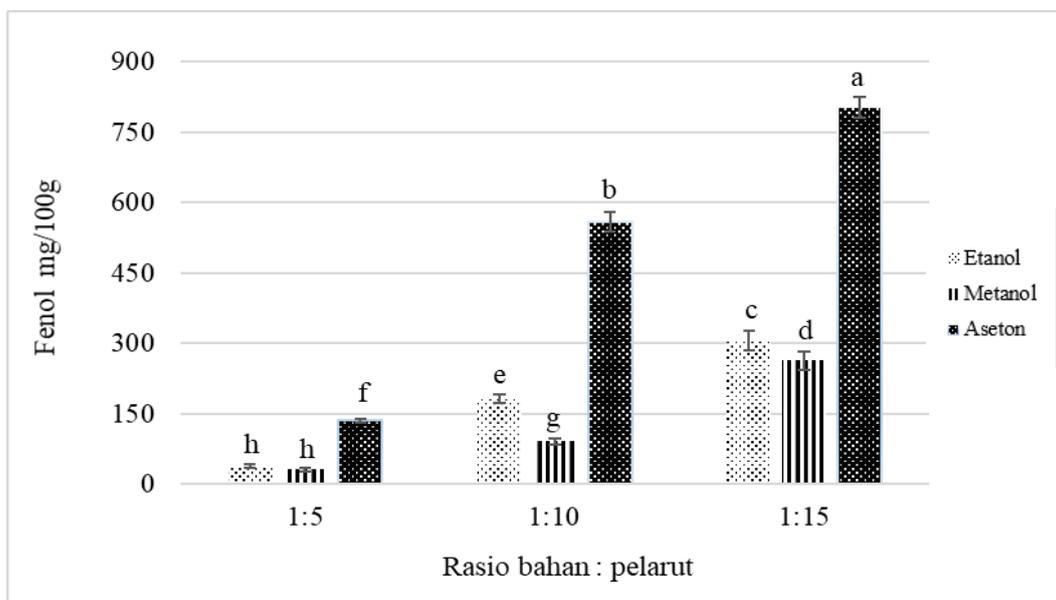
Gambar 2 menunjukkan bahwa rasio bahan dengan pelarut mempengaruhi rendemen ekstrak biji alpukat. Rendemen tertinggi dihasilkan pada perlakuan rasio bahan dengan pelarut yaitu 1:15 sebesar 36,55% yang berbeda nyata dengan rasio bahan dengan pelarut 1:10 sebesar 33,17% dan perlakuan rasio bahan dengan pelarut 1:5 yaitu 27,63%.

Semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan maka rendemen yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hasil penelitian Inggrid dan Santoso (2014) yang meneliti tentang ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif dari buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) menunjukkan bahwa perbandingan rasio bahan dengan pelarut 1:15 menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan

dengan rasio bahan dengan pelarut 1:10. Selain itu Delazar *et al.* (2012) menyebutkan bahwa rendemen akan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah pelarut. Peningkatan rendemen ini diakibatkan karena semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan pelarut mengalami kejenuhan juga dapat dihindari.

Total Fenolik

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara jenis pelarut dan rasio bahan dengan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata terhadap total fenolik ekstrak biji alpukat. Rerata total fenolik ekstrak biji alpukat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rerata total fenolik (mg/100g) ekstrak biji alpukat.
 **Keterangan : Huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata.

Gambar 3 menunjukkan bahwa kandungan fenolik dalam ekstrak biji alpukat berbeda-beda pada setiap perlakuan. Total fenolik

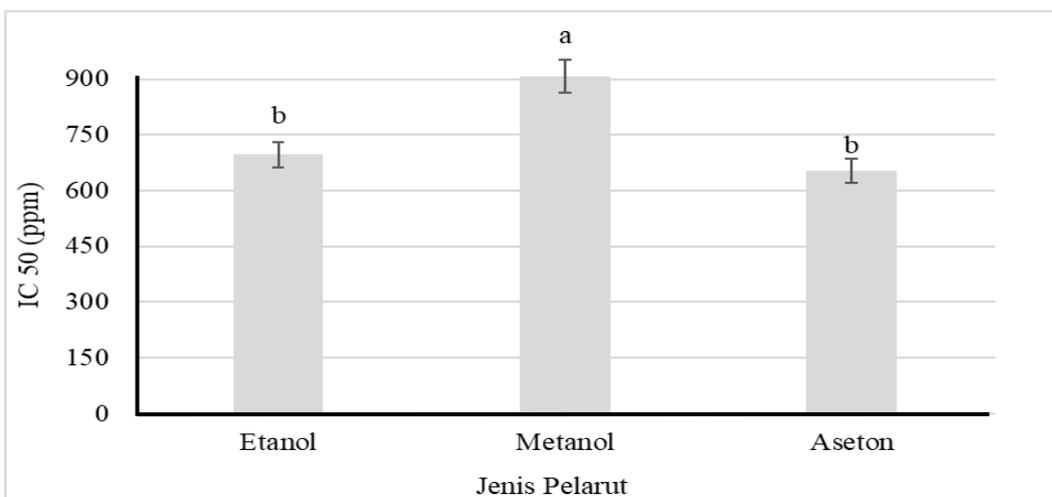
ekstrak biji alpukat tertinggi terdapat pada perlakuan pelarut aseton dengan rasio bahan dengan pelarut 1:15 yaitu 803,46 mg/100g,

sedangkan total fenolik terendah terdapat pada perlakuan pelarut metanol dengan rasio bahan dengan pelarut 1:5 yaitu 31,2 mg/100g. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa senyawa fenolik dalam biji alpukat terekstrak dengan baik pada pelarut aseton. Tumbuhan mengandung banyak senyawa fenolik, senyawa fenolik ini memiliki sifat yang cenderung larut dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Hasil penelitian Chirinos *et al.* (2007) yang meneliti tentang pengaruh jenis pelarut terhadap senyawa fenolik dari *Scirpus holoschoneus* L. menunjukkan bahwa jenis pelarut aseton menghasilkan ekstrak tertinggi dari pada jenis pelarut etil asetat dan petroleum eter. Semakin tinggi rasio bahan dengan pelarut, kadar total fenolik ekstrak biji alpukat akan semakin meningkat. Menurut Delazar *et al.* (2012), rendemen akan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah pelarut. Peningkatan rendemen ini diakibatkan karena semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan kejenuhan dalam pelarut dapat

dihindari. Selain itu pada penelitian Ingrid dan Santoso (2014) yang meneliti tentang Ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif dari buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) menunjukkan bahwa perbandingan rasio bahan dengan pelarut 1:15 menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan dengan rasio bahan dengan pelarut 1:10.

Aktifitas Antioksidan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara jenis pelarut dan rasio bahan dengan pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat. Perlakuan rasio bahan dengan pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat, akan tetapi perlakuan jenis pelarut menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat. Nilai rerata IC₅₀ (ppm) ekstrak biji alpukat pada perlakuan jenis pelarut dapat dilihat pada Gambar 4. Nilai rerata IC₅₀ (ppm) ekstrak biji alpukat pada perlakuan rasio bahan dengan pelarut dapat dilihat pada Gambar 5.

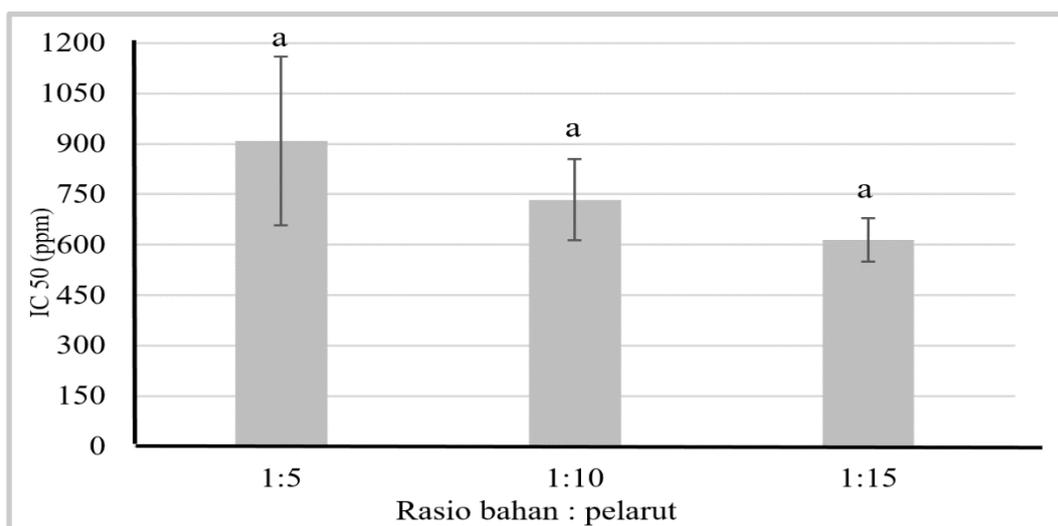


Gambar 4. Rerata IC₅₀ (ppm) ekstrak biji alpukat pada perlakuan jenis pelarut.
 **Keterangan : Huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata.

Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak biji alpukat tertinggi terdapat pada perlakuan pelarut aseton yang memiliki nilai IC_{50} terendah, yaitu 653,573 ppm, yang tidak berbeda nyata dengan pelarut etanol yang memiliki nilai IC_{50} yaitu 696,384 ppm. Aktivitas antioksidan terendah terdapat pada perlakuan pelarut metanol dengan nilai IC_{50} tertinggi, yaitu 907,618 ppm. Menurut Molyneux (2004), semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Ekstrak biji alpukat pada pelarut aseton memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak biji alpukat dengan pelarut metanol dan etanol. Hal ini dikarenakan senyawa senyawa yang terdapat pada ekstrak biji alpukat dengan pelarut aseton lebih berperan aktif sebagai antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH, Berarti senyawa bioaktif yang berperan sebagai penghambat

radikal bebas dari ekstrak biji alpukat dapat terekstrak baik jika menggunakan pelarut aseton.

Tingginya aktivitas antioksidan dalam ekstrak biji alpukat pada perlakuan pelarut aseton berkorelasi positif dengan senyawa fenolik yang dikandungnya. Nilai total fenolik pada ekstrak biji alpukat pada perlakuan pelarut aseton memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Perbedaan perlakuan yang digunakan dalam proses ekstraksi biji alpukat ternyata tidak berpengaruh terhadap nilai IC_{50} yang dihasilkan. Gambar 5. menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak biji alpukat tertinggi terdapat pada perlakuan rasio bahan dengan pelarut 1 : 15 yang memiliki nilai IC_{50} terendah, yaitu 614,85 ppm, yang tidak berbeda dengan perlakuan rasio bahan dengan pelarut 1 : 10 yang memiliki nilai IC_{50} yaitu 733,71 ppm dan perlakuan rasio bahan dengan pelarut 1 : 15 dengan nilai IC_{50} yaitu 909,01 ppm.



Gambar 5. Rerata IC_{50} (ppm) ekstrak biji alpukat pada perlakuan rasio bahan dengan pelarut.
 **Keterangan : Huruf sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

Meenakshi *et al.* (2009) yang menunjukkan adanya hubungan antara total fenolik dan aktivitas antioksidan dimana jika di dalam suatu bahan memiliki konsentrasi senyawa fenolik yang tinggi maka aktivitas antioksidan dalam bahan tersebut juga tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi dengan pelarut etanol memiliki nilai IC_{50} yang tidak berbeda nyata dengan pelarut aseton, namun total fenolik hasil ekstraksi pelarut etanol berbeda sangat nyata dengan total fenolik dari pelarut aseton. Hal ini diduga disebabkan oleh etanol yang bersifat polar berpotensi melarutkan senyawa polar lainnya yang memiliki sifat antioksidan. Vinha *et al.* (2013) melaporkan bahwa selain senyawa fenolik, biji alpukat juga mengandung senyawa flavonoid, vitamin C dan vitamin E yang berperan sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan penelitian Munte *et al.* (2015) bahwa pelarut etanol bersifat polar dan dapat melarutkan senyawa flavonoid dan vitamin C. Musalmah *et al.* (2005) melaporkan bahwa etanol juga dapat melarutkan vitamin C sehingga tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dapat juga disebabkan oleh kandungan vitamin C.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Interaksi antara jenis pelarut dan rasio bahan dengan jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan

akan tetapi berpengaruh sangat nyata terhadap total fenolik. Perlakuan antara jenis pelarut dan rasio bahan dengan pelarut berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen ekstrak biji alpukat. Perlakuan jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan dan perlakuan rasio bahan dengan pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

2. Perlakuan yang menghasilkan rendemen, total fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah perlakuan jenis pelarut aseton dengan rasio bahan dengan pelarut 1:15 dengan rendemen ekstrak 41,36%, total fenolik 803,60 mg/100g, dan nilai IC_{50} sebesar 540,95 ppm.

Saran

Perlunya penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan biji alpukat sebagai sumber antioksidan alami yaitu isolasi senyawa-senyawa aktif biji alpukat beserta uji aktivitas masing-masing senyawa aktif sehingga dapat dipelajari senyawa manakah yang lebih dominan sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, N. 1996. Radikal bebas : dikenal untuk dikendalikan. Sadar Pangan dan Gizi. Universitas Sumatera Utara, Medan. 5(1): 6-7.
- Ahmad, A.L., C.Y. Chan, S.R.A. Shukor and M.D. Mashitah. 2008. Recovery of oil and carotenes from palm oil Mill. effluent. Chemical Engineering Journal 141: 383-386.
- Chirinos, R., H. Rogez, D. Campos, R. Pedreschi And Y. Lanrondelle. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* ruiz & pavon) tubers. Separation and Purification Technology. [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(03\)%](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(03)%) 2

- 0 20 11/(11)IFRJ-2011-210.pdf Diakses pada tanggal 1 Agustus 2017
- Delazar, A., L. Nahar., S. Hamedeyaz dan, S.D. Satyajit. 2012. Microwave-assisted extraction in natural products isolation natural products isolation, methods in molecular biology. Springer Science, New York. 864:215-218.
- Garcia, C.A., G. Gavino, M.B. Mosqueda, P. Hevia, V.C. Gavino. 2007. Correlation of tocopherol, tokotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with difference antioxidant capacity assay. *J Food Chem* 102:1228-1232.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penerjemah Padmawinata I.K. Soediro Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Ingrid, M.H. dan H. Santoso. 2014. Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan <http://journal.unpar.ac.id/index.php/r ekayasa /article/view/1253/1232> Diakses pada 23 September 2017
- Jayanudin, A.Z., F. Lestari dan Nurbayanti. 2014. Pengaruh suhu dan rasio pelarut ekstraksi terhadap rendemen dan viskositas natrium alginat dari rumput laut cokelat (*Sargassum* sp). *Jurnal Integrasi Proses*. 5(1): 51-56.
- Kawamura, F., S.F.M. Ramale, O. Sulaiman., R. Hashim, dan S. Ohara. 2011. Antioxidant and antifungal activities of extracts from 15 selected hardwood species of Malaysian Timber, *Eur. Journal Wood Prod*. 69:207-212.
- Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak Pangan. UI Press, Jakarta.
- Khoddami, A., Wilkes, M.A., dan Roberts, T.H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds, *Molecules*, 18L2328-2375.
- Lim, S.N., P.C.K. Cheung., V.E.C. Ooi., dan P.O. Ang. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50: 3862-3866.
- Lita, Y. 2010. Perbandingan metode ekstraksi ultrasonik dengan maserasi kinetik terhadap aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak air daun sendok (*Plantago major* L.). <http://digilib.ubaya.ac.id /pustaka.php/132458>. Diakses pada 23 Juli 2017.
- Meenakshi, S., D.M. Gnanambigai., dan S.T. Mozhi. 2009. Total flavonoid and in vitro antioksidant activity of two seaweeds of Rameshwaram Coast. *Journal of Pharmacology*. 3(2): 59-62.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals of Science and Technology*. 26:211-219.
- Munte. L., Runtuwene M.R., dan Citraningtyas G. 2015. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Unsrat*. 23(2):2302 – 2493.
- Musalmah, M, Nizrana .M.Y., Fairuz A.H., NoorAini A.H., Azian A.L., Gapor M.T., dan Wangah W.Z. 2005. Comparative effects of paim vitamin E and alphatocopherol on healing and wound tissue antioxidant enzyme levels in diabetic rats. *Jurnal Lipids*. 40: 575-80.
- Nurvita, S.D.L., C. Bambang dan C.K. Andri. 2013. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Kurkuminoid Dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Teknik Kimia Undip, Semarang*. 1(1):101-107.
- Prasetyowati, R.P. dan F. Tera. 2010. Pengambilan minyak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya, Palembang*. 17(2):16-24.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerjemah K. Padmawinata. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sari, D.K., D.H. Wardhani, dan A. Prasetyaningru. 2012. Pengujian Kandungan Total Fenolik *Kappahycus Alvarezzi* Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Jurnal Jurusan Teknik, Universitas Hasyim Asyari, Semarang* 1(1):40-44.
- Santoso, U. 2016. Antioksidan Pangan. Gadjah Mada University Press.
- Sompong, R.S., G. Siebenhandl-Ehn., M. Linsberger dan E. Berghofer. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry*, 124(1):132-140.
- Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip Dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan

- Biometrik. Penerjemah B. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka, Jakarta.
- Vinha, A.F., J. Moreira¹ dan S.V.P. Barreira¹. 2013. Physicochemical parameters, phytochemical composition and antioxidant activity of the algarvian avocado (*Persea americana* Mill.). Jurnal of Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa Rua Carlos da Maia, Portugal. 5(12):1916-9752.
- Voight, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi 5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Widarta, I.W.R dan A.A.S. Wiadnyani. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi komponen bioaktif serta aktivitas antioksidan daun alpukat dalam upaya pemanfaatannya sebagai minuman fungsional. Laporan Penelitian Ilmu Dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Denpasar.
- Widyanti. 2007. Aktivitas antioksidan tempe lamtoro gung hasil fermentasi *Rhizopus oligosporus*. Jurnal Fakultas Ilmu Pengetahuan Aman Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta. <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=leucaena%20leucocephala%20angkak> Diakses pada 23 Juli 2017.
- Wijaya, A. 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antiosidan. Forum Diagnosticum. Lab Klinik Prodia 1:1-12.
- Winarti, S. 2010. Makanan Fungsional. Yogyakarta.