

## Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Maserasi Bertingkat Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode DPPH

Muhamad Nizarul Aqmal \*, Kiki Mulkiya Y, Vinda Maharani

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

muhamadnizarulakmal@gmail.com, qqmulkiya@gmail.com,  
solanum.tuberosum89@gmail.com

**Abstract.** Oxidative stress is a state of imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defense mechanisms. ROS can cause oxidative damage to cellular biomolecules including DNA, proteins, nucleic acids, and membrane lipids. Increased oxidative stress plays a major role in the occurrence of various degenerative diseases. Avocado seeds are known to contain compounds that act as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of avocado seed extract using the DPPH method. Extraction was carried out using multistage maceration using n-hexane, ethyl acetate and methanol as solvents. The research results showed that the n-hexane extract of avocado seeds showed an IC50 value of 59.319 ppm, the ethyl acetate extract of avocado seeds showed an IC50 value of 119.581 ppm and the methanol extract of avocado seeds had an IC50 of 93.392 ppm.

**Keywords:** *Avocado Seeds, Antioxidants, Maceration.*

**Abstrak.** Stress oksidatif adalah keadaan yang tak seimbang antara produksi reactive oxygen species (ROS) dan mekanisme pertahanan antioksidan. ROS dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada biomolekul seluler termasuk DNA, protein, asam nukleat, dan lipida membran. Peningkatan stres oksidatif sangat berperan pada terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Biji alpukat diketahui mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat menggunakan metode DPPH. Ekstraksi dilakukan secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan methanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana biji alpukat menunjukkan nilai IC50 sebesar 59,319 ppm, ekstrak etil asetat biji alpukat menunjukkan nilai IC50 sebesar 119,581 ppm dan ekstrak metanol biji alpukat memiliki IC50 sebesar 93,392 ppm.

**Kata Kunci:** *Biji Alpukat, Antioksidan, Maserasi.*

## A. Pendahuluan

Senyawa radikal bebas merupakan suatu molekul yang relatif tidak stabil karena orbit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Molekul yang kehilangan pasangannya yaitu lipid dan protein akan tidak stabil dan menjadi radikal, molekul tersebut berusaha mencari pasangan elektronnya dengan cara merebut elektron dari molekul lain secara membabi buta (1).

Antioksidan adalah inhibitor dari proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil. Antioksidan merupakan komponen kimia yang terdiri atas monohidroksil atau polihidroksil fenol. Antioksidan bekerja pada beberapa cara berbeda terhadap proses oksidatif yaitu scavenging radikal bebas secara enzimatis atau dengan reaksi kimia langsung, scavenging radikal lipid peroksil berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan berfungsi menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan reactive oxygen species (ROS), sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi (2).

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai aktivitas antioksidan adalah biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Senyawa yang terkandung pada biji buah alpukat antara lain berupa tanin, alkaloid, flavonoid, dan fenolik (3). alpukat (*Persea americana* Mill.) berupa tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis, contohnya Indonesia. Buah alpukat menjadi salah satu buah yang banyak disukai orang karena rasanya yang enak, selain itu juga buah alpukat kaya akan antioksidan dan zat gizi. Daging buah yang berada di bawah kulit berwarna hijau dan kuning di bagian yang mengarah ke biji. Warna hijau pada kulit alpukat disebabkan kandungan klorofil dan sedangkan warna disebabkan kandungan pigmen antosianin (4)

Ekstraksi bertingkat berupa metode ekstraksi yang dilakukan dengan berbagai pelarut dengan kepolaran berbeda mulai dari yang bersifat kurang polar hingga bersifat lebih polar. Metode ini diharapkan dapat memisahkan komponen berdasarkan polaritasnya. Selain itu, komponen yang diekstraksi sekaligus terfraksinasi ke dalam golongan senyawa yang berlainan, berdasarkan kepolarannya. Kelebihan menggunakan metode ekstraksi ini ialah dapat menghasilkan rendemen yang besar dengan senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. (5)

Maserasi adalah metode ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. (6)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylhydrate) merupakan metode uji yang paling umum digunakan dimana DPPH merupakan salah satu radikal bebas yang paling stabil. Pada metode DPPH, sampel yang digunakan dapat berupa sampel padat atau cair dengan prinsip berdasarkan kemampuan penstabil radikal DPPH yang bereaksi dengan hydrogen. Serapan pada metode DPPH dapat menghasilkan serapan yang kuat pada Panjang gelombang 517 nm dengan serapan warna ungu (7).

Penetapan aktivitas antioksidan metode DPPH pada penelitian ini menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-VIS. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengkaji sifat absorpsi dari material dalam rentang panjang gelombang ultraviolet (sekitar 200 nm) hingga mencakup semua panjang gelombang cahaya tampak (sampai sekitar 700 nm). Prinsip kerja spektrofotometer adalah berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan (8).

Sebagai ukuran potensi antioksidan suatu bahan, parameter yang digunakan berupa nilai inhibition concentration 50. Nilai IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas (9). Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan.

Rumusan masalah pada penelitian ini berupa bagaimana aktivitas antioksidan pada biji alpukat yang diekstraksi secara maserasi bertingkat. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan dari biji alpukat yang diekstraksi secara bertingkat menggunakan metode DPPH. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antioksidan biji alpukat sebagai bahan alam sebagai yang dapat dimanfaatkan dalam upaya preventif sebagai antioksidan.

## B. Metode

Biji buah alpukat (*Persea americana* semen.) diperoleh dari Kawasan Cihideung, Kecamatan Parongpong, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat. Simplisia biji buah alpukat dibuat dengan melakukan pencucian, perajangan, pengeringan pada suhu 40-45°C, dan penyerbukan (10). Terhadap Simplisia yang didapat dilakukan penetapan parameter standar simplisia berupa parameter non-spesifik, parameter spesifik, dan skrining fitokimia. Parameter non-spesifik terdiri dari penetapan kadar air, susut pengeringan, serta kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Sedangkan penetapan parameter spesifik terdiri dari pengamatan organoleptic dan penetapan kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air, skrining fitokimia terdiri dari pengujian terhadap golongan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, fenolik, tripernoid dan steroid, monoterpen dan seskueiterpen.

Ekstraksi biji buah alpukat dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Ekstrak biji buah alpukat dengan metode maserasi diperoleh dengan cara merendam 500 g simplisia dalam pelarut n-heksana selama 3 × 24 jam. Hasil ekstraksi disaring dan dipisahkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 60°C dan maserat direndam kembali dalam pelarut etil asetat selama 3 × 24 jam. Hasil ekstraksi disaring dan dipisahkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 60°C dan maserat direndam kembali dalam pelarut metanol selama 3 × 24 jam. Hasil ekstraksi disaring dan dipisahkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 60°C (11).

Selanjutnya dibuat larutan seri pada ekstrak kental dan standar vitamin C sebagai pembanding, kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak menggunakan pereaksi DPPH dengan melarutkan DPPH dengan metanol dalam tabung reaksi (blanko DPPH), tiap larutan seri ekstrak dilarutkan dengan blankolarutan DPPH lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum 515,5 ppm, kemudian ditentukan nilai IC50 dengan menggunakan rumus regresi linear.

$$Y = a \cdot X + b \quad \dots (1)$$

## C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia maupun ekstrak dilakukan untuk menjaga kualitas mutu simplisia ataupun ekstrak dengan menguji parameter-parameter yang tertera dalam monografi simplisia maupun ekstrak (11). Karakterisasi simplisia dibagi menjadi dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter non spesifik. Pada parameter spesifik dilakukan pengamatan organoleptik, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Sedangkan parameter non spesifik dilakukan penilaian pada parameter kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan bobot jenis ekstrak (6).

**Tabel 1.** Hasil Pengamatan Organoleptis

Pengamatan	Simplisia
	Biji Alpukat
Aroma	Bau khas Buah alpukat
Warna	Cokelat
Bentuk	Bulat

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Karakteristik Simplisia

Parameter	Hasil Pengukuran	Pustaka (11)
Kadar Sari Larut Air	24,74% ± 0,05911	Tidak kurang dari 21,3%
Kadar Sari Larut Etanol	21,56 % ± 0,026022	Tidak kurang dari 9,8%
Susut Pengeringan	5,7375 % ± 0,008167	Tidak lebih dari 10%
Kadar Air	3% ± 0,5	Tidak lebih dari 10%
Kadar Abu Total	3,890% ± 0	Tidak lebih dari 7%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,82% ± 0,7	Tidak lebih dari 2%

Karena belum ada standar parameter simplisia yang membahas biji alpukat. Persyaratan parameter standar yang digunakan merujuk pada parameter bagian tanaman alpukat lain yaitu simplisia daun digunakan rujukan parameter standar daun alpukat yang merujuk pada Farmakope Herbal Indonesia 2017. Berdasarkan hasil pengujian karakterisasi simplisia didapatkan bahwa simplisia memenuhi seluruh parameter uji. Hal ini menunjukkan kualitas simplisia biji buah alpukat yang digunakan memenuhi persyaratan kualitas bahan. Parameter kadar sari merupakan parameter yang menunjukkan jumlah senyawa yang mampu terlarut dalam pelarut tertentu (11). Pada penelitian ini didapatkan kadar sari larut air sebesar 24,74% lebih besar dibandingkan kadar sari larut etanol yaitu 21,56%.

Susut pengeringan merupakan parameter yang menentukan batasan maksimal jumlah senyawa yang boleh hilang selama proses pengeringan. Kadar air merupakan parameter yang menentukan batasan maksimal kandungan air yang diperbolehkan di dalam simplisia (11). Pada penelitian ini simplisia biji buah alpukat mengandung kadar air sebesar 3% sedangkan susut pengeringan sebesar 5,737%.

Kadar abu merupakan parameter yang menentukan batasan maksimal jumlah mineral yang boleh terkandung dalam simplisia baik berupa abu fisiologis (magnesium, natrium, kalsium) ataupun abu non fisiologis (tanah, pasir, silika). Kadar abu total menunjukkan jumlah seluruh jenis abu, sedangkan kadar abu tidak larut asam menunjukkan jumlah abu non fisiologis (11). Pada penelitian ini jumlah kadar abu dalam simplisia memenuhi persyaratan yang menunjukkan kualitas simplisia yang minim kontaminan.

**Tabel 3.** Hasil Pengukuran Karakteristik Bobot Jenis Ekstrak

<b>Bobot Jenis Ekstrak</b>	<b>Hasil</b>
Ekstrak n-heksana	0,674 g/mL
Ekstrak etil asetat	0,818 g/mL
Ekstrak metanol	0,792 g/mL

Bobot jenis merupakan parameter yang dilakukan untuk menentukan besaran massa ekstrak per volume yang dilakukan pada ekstrak cair 5%. Dari ekstrak biji buah alpukat yang diekstraksi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, metanol dengan metode maserasi diperoleh bobot jenis etil asetat lebih tinggi dibandingkan metanol dan n heksan.

### **Ekstraksi Simplisia Biji Buah Alpukat**

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dari proses ekstraksi dari suatu simplisia menggunakan pelarut yang sesuai berdasarkan kemampuan atau daya larut analit dalam pelarut tertentu (16). Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol dengan metode maserasi. Pada ekstraksi metode maserasi dengan menggunakan 500 g simplisia, diperoleh ekstrak bertingkat n-heksana, etil asetat, dan metanol sebanyak 7,0176 gram, 4,206 gram, dan 10,1105 gram. Dengan demikian rendemen untuk setiap ekstrak bertingkat yang dihasilkan berupa 7,017%, 4,206% dan 10,110%.

### **Penapisan Fitokimia**

Penapisan fitokimia merupakan salah satu tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada simplisia atau ekstrak secara kualitatif (17). Penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak dilakukan melalui identifikasi golongan senyawa alkaloid, polifenol, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, monoterpen & seskuiterpen, dan triterpenoid & steroid.

**Tabel 4.** Hasil penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

No	Golongan Senyawa	Sampel	
		Simplisia	Ekstrak
1	Alkaloid	(+)	(+)
2	Polifenolat	(+)	(+)
3	Flavonoid	(+)	(+)
4	Tanin	(-)	(+)
5	Antrakuinon	(+)	(+)
6	Saponin	(-)	(-)
7	Monoterpen-Sesqueterpen	(+)	(+)
8	Triterpenoid-Steroid	(+)	(+)

**Keterangan:** (-) = Tidak terdeteksi (+) = Terdeteksi

Dari hasil pengujian skrining fitokimia yang terdapat pada Tabel 4. dapat dilihat bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi dalam simplisia dan ekstrak biji alpukat dalam penelitian ini antara lain berupa alkaloid, polifenolat, flavonoid, antrakuinon, Montoterpen & Sesqueterpen dan triterpenoid-steroid. Dalam pengujian skrining fitokimia terhadap tanin, pada simplisia biji alpukat menunjukkan hasil yang negatif sedangkan pada fraksi menunjukkan hasil positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada simplisia tidak terdeteksi adanya tanin, sedangkan pada fraksi terdeteksi adanya tanin ini bisa terjadi karena ketika menjadi ekstrak terdapat penambahan pelarut ketika terjadi maserasi yang dapat menarik senyawa tanin sedangkan pada simplisia hanya bahan simplisia sehingga tidak terdeteksi.

#### Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan Metode DPPH dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH di rentang 400-800 nm. Dari hasil *scanning* panjang gelombang maksimum berada pada 515,5 nm. Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding dengan dibuat dalam seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm. Selanjutnya dilakukan pembuatan kurva kalibrasi vitamin C, untuk memperoleh persamaan regresi linier yang nanti digunakan sebagai penentuan IC<sub>50</sub>. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva kalibrasi vitamin C dengan persamaan regresi linier  $y = 2,6134x + 36,103$ , dan  $R^2 = 0,993$ .

Sampel uji ekstrak bertingkat n-heksana dibuat dalam seri konsentrasi 40,50, 60, 70, 80 ppm. Selanjutnya dilakukan pembuatan kurva ekstrak bertingkat n-heksana. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva ekstrak bertingkat n-heksana dengan persamaan regresi linier  $y = 0,369x + 28,111$ , dan  $R^2 = 0,996$ . Dari persamaan regresi linier ini diperoleh nilai IC<sub>50</sub> sebesar 59,3197 ppm

Sampel uji ekstrak bertingkat etil asetat dibuat dalam seri konsentrasi 40,50, 60, 70, 80 ppm. Selanjutnya dilakukan pembuatan kurva ekstrak bertingkat etil asetat. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva ekstrak bertingkat etil asetat dengan persamaan regresi linier  $y = 0,3461x + 8,6129$ , dan  $R^2 = 0,993$ . Dari persamaan regresi linier ini diperoleh nilai IC<sub>50</sub> sebesar 119, 5813 ppm Kurva ekstrak bertingkat etil asetat dapat dilihat pada Gambar 10.3.

Sampel uji ekstrak bertingkat metanol dibuat dalam seri konsentrasi 40,50, 60, 70, 80 ppm. Selanjutnya dilakukan pembuatan kurva ekstrak bertingkat metanol. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva ekstrak bertingkat metanol dengan persamaan regresi  $y = 0,4804x + 5,1343$ , dan  $R^2 = 0,99$ . Dari persamaan regresi linier ini diperoleh nilai IC<sub>50</sub> sebesar 93,3923 ppm.

**Tabel 5.** Hasil Nilai IC<sub>50</sub>

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)
Vitamin C	5,3175
Ekstrak bertingkat n-heksana	59,3197
Ekstrak bertingkat Etil asetat	119,5813
Ekstrak bertingkat Metanol	93,2923

Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bertingkat biji alpukat, nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak bertingkat n-heksana, ekstrak bertingkat etil asetat dan ekstrak bertingkat metanol berturut turut sebesar 59,319 , 119,581 , dan 93,292 ppm.

**Tabel 6.** Parameter Nilai IC<sub>50</sub> (Molyneux,2004)

Sampel	Kriteria
< 50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Lemah
150-200	Sangat lemah

Potensi kekuatan antioksidan dapat dikelompokkan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>, seperti pada tabel 6. jika nilai IC<sub>50</sub> berada pada rentang 0-50 ppm, termasuk antioksidan dengan kriteria sangat kuat, untuk rentang IC<sub>50</sub> 50-100 ppm, termasuk kriteria antioksidan kuat, untuk rentang IC<sub>50</sub> 100 - 150 ppm, termasuk kriteria antioksidan lemah dan untuk rentang IC<sub>50</sub> 150-200 ppm, termasuk kriteria antioksidan sangat lemah. Dengan demikian, ketiga ekstrak bertingkat dalam penelitian ini memiliki potensi aktivitas antioksidan sebagai berikut antiooksidan ekstrak bertingkat n-heksana dan ekstrak bertingkat metanol termasuk kategori kuat karena nilai IC<sub>50</sub> berada pada rentang 50-100 ppm. Sedangkan untuk ekstrak bertingkat etil asetat memiliki kekuatan antioksidan dengan kriteria lemah, karena nilai IC<sub>50</sub> berada pada rentang 100-150 ppm. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka semakin kuat potensi aktivitas antioksidan, sedangkan semakin besar nilai IC<sub>50</sub> maka menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang lemah. Larutan pembanding yang digunakan berupa vitamin C. vitamin C diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan memiliki kemampuan mereduksi

#### D. Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak N-heksana biji alpukat memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 59,319 ppm untuk rentang konsentrasi 20- 100 ppm sehingga dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. sedangkan ekstrak Etil asetat biji alpukat memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 119,581 ppm untuk rentang konsentrasi 100-150 ppm Sehingga dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dan ekstrak metanol biji alpukat memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 93,392 ppm untuk rentang konsentrasi 20-100 ppm sehingga dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

#### Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada ibu Apt. Kiki Mulkiya Yulawati, M.Si. selaku pembimbing utama, kepada ibu Apt. Vinda Maharani Patricia, M.Si. selaku pembimbing serta, dan seluruh pihak terkait yang telah berpartisipasi membantu penulis dalam penyelesaian penelitian ini.

#### Daftar Pustaka

- Fitri Mellyna Cantika, & Sani Ega Priani, S. E. P. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Inhibitor Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau. *Jurnal Riset Farmasi*, 113–120. <https://doi.org/10.29313/jrf.v3i2.3262>
- Maulana, M. A. (2023). Potensi Antiinflamasi Ekstrak Etanol Biji Kurma Ajwa Terhadap Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Riset Farmasi*, Vol 3 no 1. <https://doi.org/https://doi.org/10.29313/jrf.v3i1.1795>

- Achyat, S. S. (2008). Jurnal Bahan Alam Indonesia, Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) Terhadap Imunitas Humoral Tikus (*Rattus norvegicus* L.). *Galur Wistar Melalui Pengamatan Titer Antibodi Anti-SDMD*, 145-148.
- Andarina, R. &. (2017). Antioksidan Dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 39–48.
- Hajimahmoodi, M. M. (2013). Total Phenolic, Flavonoids, Tannin Content and Antioxidant Power of Some Iranian Pomegranate Flower Cultivars (*Punica granatum* L. *Am J Plant Sci*, Vol 4, no.9.
- Lopez, V. (2002). Fruit Characterization of High Oil Content Avocado Varieties. *Scientia Agricol* 59 , 403-406.
- Taroreh, M. R. (2015). Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya. *Agritech*, 35(3), 280-286.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Dontha, S. (2016). A review on antioxidant methods. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 9, 14-32.
- Warono, D. &. (2013). Analisis Kimia Kuantitatif. Ed ke-5. *Konversi*, 2(2), 57–65.
- Agustina, E. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Jurnal Biologi*, 13, 39–50.
- Kemenkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemenkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1(1), 8-14
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* , 26(2), 211-21.