

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata***Ali Ridlo^{*}, Rini Pramesti, Koesoemadji, Endang Supriyantini, Nirwani Soenardjo**

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698
Email: aliridlo26@gmail.com

Abstrak

Rhizophora mucronata merupakan salah satu jenis mangrove yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Daun tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, fenolat, klorofil, karotenoid dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan ekstrak daun *R. mucronata*. Sampel diambil dari kawasan mangrove Tugurejo, Semarang dan diekstraksi secara bertingkat berturut-turut dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan nilainya ditentukan berdasarkan nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) pada panjang gelombang 516,5 nm. Kadar senyawa fenolat total ditentukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 725 nm dengan metode Folin-Ciocalteu, kadar klorofil a dan b ditentukan dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm dan kadar karotenoid diukur pada 480 nm. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol memiliki nilai IC₅₀ terkecil (113,41 ppm), diikuti ekstrak n-heksana 151,13 ppm dan ekstrak etil asetat 184,78 ppm. Kandungan total fenolat tertinggi terdapat pada ekstrak metanol yaitu 21,06 mg GAE/g sampel, ekstrak n-heksana 13,27 mg GAE/g sampel dan ekstrak etil asetat 2,08 mg GAE/g sampel. Kandungan klorofil a tertinggi terdapat pada ekstrak metanol yaitu 2,304 mg/g, diikuti ekstrak n-heksana 0,705 mg/g dan ekstrak etil asetat 0,64 mg/g. Kandungan klorofil b tertinggi dicapai ekstrak metanol yaitu 0,97 mg/g, ekstrak n-heksana 0,50 mg/g dan ekstrak etil asetat 0,13 mg/g. Kandungan karotenoid tertinggi dicapai pada ekstrak metanol yaitu 6,49 mg GAE/g, diikuti ekstrak etil asetat (0,54 mg GAE/g) dan ekstrak n-heksana (1,37 mg GAE/g). Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dan termasuk dalam antioksidan kategori sedang, sedangkan ekstrak etil asetat dan n-heksana termasuk dalam antioksidan kategori lemah.

Kata kunci: *Rhizophora mucronata*, Antioksidan, DPPH**Abstract**

Rhizophora mucronata is one type of mangrove that has the potential as a source of natural antioxidants. The leaves of this plant contain secondary metabolite compounds such as tannins, phenolics, chlorophyll, carotenoids and alkaloids. This study aims to determine the antioxidant activity of *R. mucronata* leaf extract. Samples were taken from Tugurejo mangrove area, Semarang and extracted successively with n-hexane, ethyl acetate and methanol solvent. Antioxidant activity was measured by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method and its value was determined based on *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) value at 516,5 nm wavelength. Total phenolic compound concentration was determined spectrophotometrically at 725 nm wavelength with Folin-Ciocalteu method. The levels of chlorophyll a and b was determined by spectrophotometry method at 663 nm and 645 nm wavelength and carotenoid levels were measured at 480 nm. The results showed that methanol extract had the smallest IC₅₀ value (113,41 ppm), followed by n-hexane extract 151,13 ppm and ethyl acetate extract 184,78 ppm. The highest total phenolic content was found in methanol extract, 21.06 mg GAE / g sample, n-hexane extract 13,27 mg GAE / g sample and ethyl acetate extract 2.08 mg GAE / g sample. The highest content of chlorophyll a contained in methanol extract is 2,304 mg / g, followed by n-hexane extract 0,705 mg / g and ethyl acetate extract 0,64 mg / g. The highest content of chlorophyll b was methanol extract of 0.97 mg / g, n-hexane extract 0,50 mg/g and ethyl acetate extract 0,13 mg / g. The highest carotenoid content was achieved in the methanol extract of 6.49 mg GAE / g, followed by ethyl acetate extract (0.54 mg GAE / g) and n-hexane extract (1.37 mg GAE / g). Methanol extract has the highest antioxidant activity and is included in medium category antioxidants, while ethyl acetate and n-hexane extracts are included in weak category antioxidants.

Keyword: *Rhizophora mucronata*, Antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa atau zat yang dapat menghambat, menunda, mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi meskipun dalam konsentrasi yang kecil. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas sehingga memicu reaksi berantai (*chain reaction*). (Ghosal *et al.*, 1996). Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, stroke, gagal ginjal, hipertensi, katarak, penuaan dini dan penyakit kronik lainnya (Saha *et al.*, 2008; Prasad *et al.*, 2009).

Aktivitas radikal bebas dapat diredam dengan pemberian antioksidan (Kubola & Siriamornpun, 2008; Mohsen & Ammar 2009). Antioksidan juga penting dalam mempertahankan mutu bahan dan produk pangan, serta mampu menghambat kerusakan pangan seperti ketengikan (*rancidity*), perubahan warna dan aroma, perubahan tekstur, perubahan nilai gizi, mencegah kerusakan oksidatif minyak dan dapat mempertahankan nilai gizi serta meningkatkan umur simpan bahan pangan (Winarno, 1984)

Antioksidan alami relatif aman dan dapat menambah kandungan nutrisi pada bahan pangan, sehingga penggunaannya semakin diminati sehingga perlu dilakukan usaha dan kajian guna mengeksplorasi sumber-sumber baru antioksidan alami untuk menggantikan ataupun mengurangi penggunaan antioksidan sintetik. Keuntungan antioksidan sintetik adalah aktivitas antiradikalnya sangat kuat, namun antioksidan sintetik BHA dan BHT berpotensi karsinogenik (Wichi, 1988; Thompson & Moldeus, 1988).

Indonesia kaya akan sumber daya alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami, salah satunya adalah mangrove *Rizophora mucronata*. Tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, senyawa fenolat, klorofil, karotenoid dan alkaloid. Buahnya dijadikan bahan makanan dan minuman, daun yang masih muda digunakan sebagai sayuran, kayu dan kulit kayu digunakan sebagai bahan penyamak (tanning) dan zat warna, air rebusan kayu (ekstrak) dapat digunakan sebagai obat pelangsing, antidiare dan antimuntah (Abidin *et al.*, 2013)

Daun *R. mucronata* mengandung 2-(2-etoksi etanol, kau-16-ena dan benzophenon, senyawa fenolik golongan flavonoid, asam fenolat, dan tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, dan tanin. alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol dan polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, tanin,

xanthoprotein, pigmen (klorofil, karotenoid) dan gula (Babuselvam *et al.*, 2012; Abidin *et al.*, 2013). Tanaman ini berpotensi sebagai antibakteri, antimalaria, antiviral dan antioksidan (Abidin *et al.*, 2013; Purwaningsih *et al.*, 2013; Yogananth, *et al.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *R. mucronata* dengan metoda transfer elektron radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang 516,5 nm. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna larutan DPPH dari ungu tua menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003). Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *Inhibitory Concentration 50* (IC₅₀)

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah daun mangrove *R. mucronata* yang diambil secara purposive pada bagian tengah ranting pohon, umurnya tidak terlalu tua (pangkal) atau terlalu muda (pucuk) dari kawasan mangrove Tugurejo, Semarang.

Analisis Kadar Air Daun *R. mucronata*

Cawan kosong dipanaskan dalam oven pada suhu 100 °C selama 15 menit kemudian didinginkan dalam desikator selama 20 menit. Sampel sebanyak 15 g disimpan dalam cawan yang telah didinginkan dalam desikator, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 100 °C selama 30 menit atau sampai beratnya konstan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kadar air dihitung menggunakan rumus: (AOAC, 1984) :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi bertingkat berturut-turut menggunakan n-heksana, etil asetat, dan metanol (Setha *et al.*, 2013). Sampel sebanyak 150 g dipotong ± 5 mm, dimaserasi dalam n-heksana sebanyak 400 mL selama 24 jam pada suhu ruang ± 27 °C, lalu disaring. Residu dimaserasi kembali selama 24 jam dan disaring, lalu filtrat diuapkan

menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 37 °C. Residu dimaserasi kembali berturut-turut dalam etil asetat dan metanol dengan cara yang sama seperti di atas, kemudian dievaporasi sampai diperoleh ekstrak.

Uji Kualitatif Antioksidan

Lima mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL methanol, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 sampai dengan 800 nm. Langkah yang sama dilakukan pada ekstrak yang ditambahkan DPPH dan telah diinkubasi selama 30 menit. Hilangnya puncak absorbansi pada panjang gelombang 516,5 nm menunjukkan DPPH telah bereaksi sempurna dengan ekstrak. Secara visual, uji positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003).

Uji Aktivitas Antioksidan

Tiga mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 ppm ditambahkan 1 mL DPPH 0,1 mM, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (27 °C). Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516,5 nm. Aktivitas inhibisi dihitung menggunakan rumus (Setha *et al.*, 2013):

$$\text{Persentase Inhibisi} = \frac{(A-B)}{A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = absorbansi larutan DPPH

B = absorbansi DPPH + Ekstrak

Pengukuran Kandungan Total Fenolat

Uji kandungan total fenolat ekstrak dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standard (Mohsen dan Ammar, 2009). Disiapkan sebanyak 2 mL Asam galat dengan konsentrasi 5, 10,15, 20 dan 25 ppm, kemudian ditambahkan 5 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu. Larutan didiamkan selama 3 menit kemudian ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ 5% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 725 nm (Ghafar, 2010), selanjutnya dibuat kurva standar antara konsentrasi asam galat versus nilai absorbansinya sehingga diperoleh grafik garis lurus. Langkah yang sama dilakukan pada masing-masing ekstrak. Kandungan total fenolat dihitung menggunakan rumus (Ghafar, 2010):

$$TF = \frac{(a \times V) / 1000}{G}$$

Keterangan

TF = Kandungan total fenolat (mg *Galic Acid Equivalent* (GAE)/1000 g

a = Konsentrasi asam galat dalam ekstrak (mg/L)

V = Volume total larutan uji (mL)

G = Berat ekstrak yang digunakan (g)

Pengukuran Kandungan Klorofil a, klorofil n dan Karotenoid

Penentuan kandungan klorofil a, b dan karotenoid dilakukan dengan metode spektrofotometri. Ekstrak dilarutkan dalam aseton p.a dengan konsentrasi 100 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm, 663 nm dan 480 nm. Kandungan klorofil dan karotenoid dihitung (Gross, 1991) :

$$\text{Klorofil a} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil b} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Karotenoid} =$$

$$\frac{(A_{480} + (0,114 \times A_{663}) - (0,638 \times A_{645})) \times V \times 1000}{112,5 \times 0,1 \times 10}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun mangrove *R. mucronata* segar yang digunakan sebagai sampel penelitian diambil dari daerah Tugurejo Kodya Semarang. Hasil penelitian menunjukkan kadar air sampel adalah 16,6%. Secara umum kadar air pada daun mangrove relatif rendah. Hal ini diduga habitat mangrove yang bersalinitas dan suhu tinggi karena pengaruh transfer panas dari laut. Kadar air yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah daripada daun mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* yaitu 74,72 % (Dia *et al.*, 2015). Ditambahkan oleh Krzynowek dan Murphy (1987) adanya perbedaan kadar air untuk beberapa spesies tergantung pada musim dan lokasi pengambilan sampel.

Sampel diekstraksi secara bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol agar senyawa yang terkandung dapat terekstraksi semua, karena ke tiga pelarut tersebut akan melarutkan senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya (Sarastani *et al.*, 2002). Senyawa non polar seperti lipida dan lilin akan terlarut dalam n-heksana, senyawa semi polar seperti klorofil akan terlarut dalam etil asetat sedangkan senyawa polar seperti senyawa fenolat, alkaloid, dan asam-asam organik akan terlarut dalam metanol (Kuppusamy *et al.*, 2015).

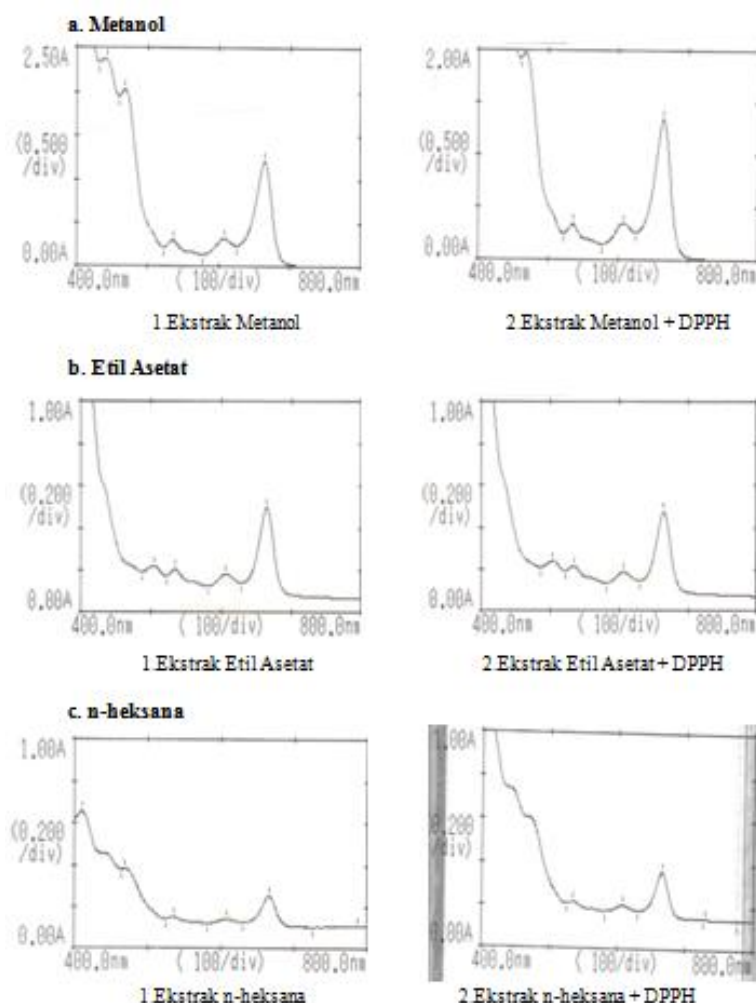
Rendemen tertinggi dicapai pada ekstraksi dengan metanol yaitu 4,9 g (3,27%) diikuti ekstrak etil asetat dan n-heksana. Hal ini

menunjukkan daun mangrove *R. mucronata* banyak mengandung senyawa yang bersifat polar. Secara visual ekstrak metanol berwarna hijau kecoklatan, ekstrak etil asetat berwarna hijau kecoklatan dan ekstrak n-heksana berwarna coklat kekuningan. Warna hijau diduga adalah warna klorofil, sedangkan warna coklat diduga berasal dari karotenoid dan pigmen lain. Hasil ekstraksi ditampilkan pada Tabel 1.

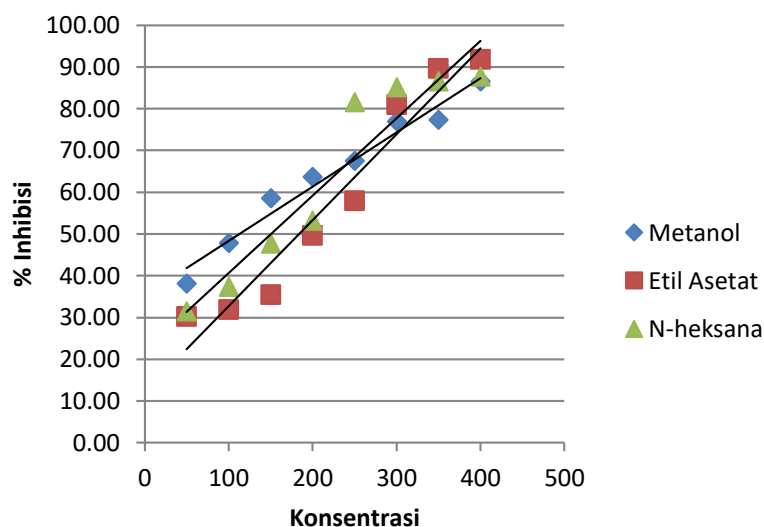
Tabel 1. Hasil ekstraksi daun mangrove *R. Mucronata*

Pelarut	Rendemen (%)	Warna
Metanol	3,27	Hijau Kecoklatan
Etil Asetat	2,32	Hijau Kecoklatan
n-Heksana	0,18	Coklat Kekuningan

Ketiga ekstrak mengandung klorofil dan karotenoid, yang ditunjukkan dengan adanya puncak pada panjang gelombang klorofil 400 - 450 nm dan 650 - 700 nm dan panjang gelombang karotenoid pada 400 – 500 nm (Limantara *et al.*, 2008) (Gambar 3). Aktivitas antioksidan secara kualitatif dapat diketahui dengan cara membandingkan antara spektra ekstrak dengan spektra ekstrak yang ditambah DPPH. Panjang gelombang absorbansi maksimum (λ_{max}) DPPH yang semula muncul pada 516,5 nm (Gambar 1), ketika di tambah ekstrak daun mangrove *R. mucronata* menjadi hilang (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa DPPH telah bereaksi sempurna dengan ekstrak daun mangrove *R. mucronata* dan membentuk DPPH-H. Hal ini secara visual dapat diamati dari perubahan warna DPPH dari ungu tua menjadi kuning pucat.



Gambar 1. Spektra (a₁) ekstrak metanol, (b₁) ekstrak etil asetat, (c₁) ekstrak n-heksana, (a₂) ekstrak metanol + DPPH, (b₂) ekstrak etil asetat + DPPH, (c₂) ekstrak n-heksana + DPPH



Gambar 2. Aktivitas antioksidan *R. mucronata*

Tabel 2. Kandungan total fenolat dan pigmen dalam Ekstrak daun *R. Mucronata*

Parameter yang Diukur	Pelarut		
	Metanol	Etil Asetat	n-heksana
Total Fenolat (mg GAE/g)	21,06	2,08	13,27
Klorofil a (mg/g)	2,304	0,640	0,705
Klorofil b (mg/g)	0,97	0,13	0,50
Karotenoid ($\mu\text{mol/g}$)	6,49	0,54	1,37

Nilai antioksidan ekstrak ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi larutan ekstrak yang menyebabkan reduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Persentase inhibisi ditentukan dengan membandingkan absorbansi DPPH murni terhadap absorbansi DPPH yang ditambah ekstrak pada panjang gelombang 516,5 nm. Hasil penelitian menunjukkan inhibisi DPPH oleh ekstrak berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak, yang berarti semakin besar konsentrasi ekstrak, persentase inhibisinya juga semakin tinggi.

Ekstrak n-heksana memiliki nilai IC_{50} 151,13 ppm, ekstrak etil asetat 184,78 ppm, dan ekstrak metanol 113,41 ppm. Ekstrak metanol mempunyai nilai IC_{50} terkecil, yang berarti ekstrak metanol memiliki aktivitas yang paling baik dalam meredam radikal bebas DPPH dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksana. Hal ini menunjukkan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibanding ekstrak etil asetat dan n-heksana. Hal ini diduga kandungan total fenolat, klorofil a, klorofil b dan

karotenoidnya lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol (Tabel 2) (Kuppusamy *et al.*, 2015). Senyawa tersebut mampu meredam aktivitas radikal bebas, dapat langsung bereaksi dengan radikal bebas dan mengubahnya menjadi radikal bebas baru yang kurang reaktif dan kurang berbahaya (Amic *et al.*, 2003).

Senyawa fenolat bekerja sebagai antioksidan melalui pemutusan reaksi berantai (*chain reaction*) radikal dan mendonorkan atom hidrogennya sehingga dihasilkan radikal bebas yang lebih stabil (Nimse & Pal, 2015). Klorofil bekerja dengan menangkap radikal bebas (Sayuti & Yenrina, 2015), sedangkan karotenoid bekerja dengan meredam singlet oksigen (Nimse & Pal, 2015). Bioaktivitas karotenoid dipengaruhi oleh jumlah ikatan rangkap, rantai terbuka serta jumlah substituen oksigennya (Sayuti & Yenrina, 2015).

Senyawa fenolat berfungsi sebagai senyawa pelindung tumbuhan dari kerusakan akibat cahaya yang berlebihan dengan bertindak sebagai antioksidan, dan kekuatannya bervariasi

tergantung pada kondisi lingkungannya (Close & McArthur, 2002). Senyawa fenolat dapat melindungi daun mangrove dari kerusakan akibat radiasi ultraviolet (Agati *et al.*, 2007) dan peningkatan produksi senyawa fenolat pada mangrove terjadi saat pertumbuhan dan beradaptasi dalam kondisi tertekan (Banerjee *et al.*, 2008).

Kemampuan antioksidan ekstrak yang diamati lebih tinggi dibandingkan aktivitas antioksidan *Avicennia marina* yang memiliki nilai IC_{50} 182,33 ppm dan tergolong antioksidan lemah (Jacob *et al.*, 2011). Hal ini diduga *R. mucronata* mampu beradaptasi yang lebih baik dibandingkan *A. marina* sehingga dapat mempengaruhi senyawa aktif di dalamnya. Aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan tergantung pada jenis spesies, metode ekstraksi, musim dan lokasi pengambilan sampel (Budhiyanti *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *R. mucronata* terbaik terdapat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 113,41 ppm dan termasuk antioksidan kategori sedang/menengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, N. A. Z. Halim N. A. H. and Ropisah. 2013. Basic Study of Chemical Constituents in *R. mucronata* Species. The Open Conference Proceedings Journal, 4(Suppl-2, M7) 27-28. Faculty of Applied Science, Universiti Teknologi MARA Negeri Sembilan, Ka. Malaysia
- Agati, G, Matteini, P, Goti, A, dan Tattini, M. 2007. Chloroplast Located Flavonoids can Scavenge Singlet Oxygen. New Phytologist., 174: 77-82.
- Amic A., D. Davidovic-amic, D. Beslo dan N. Trinajstic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. Journal of Croatica Chemica Acta., 76(1): 55-61.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Inc. Washington DC. P. 185 – 189
- Babuselvam, M., K. Kathiresan, S. Ravikumar, M. Uthiraselvam, dan E. Rajabudeen. 2012. Scientific Evaluation of Aqueous Extracts of Fresh and Dried Leaves from *Rhizophora mucronata* Lamk (Rhizophoraceae) in Rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6 (11): 814-817.
- Banerjee, D., Chakrabarti. S., Hazra. A.K., Banerjee. S., Ray. J., dan Mukherjee, B. 2008. Antioxidant Activity and Total Phenolics of some Mangroves in Sundarbans. African Journal of Biotechnology., 7: 805-810.
- Budhiyanti, S.A., S. Raharjo, D.W. Marseno dan I.Y.B. Ielana. 2012. Antioxidant Activity of Brown Algae Sargassum Species Extract from the Coastline of Java Island. American Journal of Agricultural and Biological Sciences., 7(3): 337–346.
- Close, D.C. dan McArthur, C. 2002. Rethinking the Role of many Plant Phenolics – Protection from Photodamage not Herbivores. 99: 166-172.
- Dia, S.P.S., Nurjanah dan A.M. Jacob. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. JPHPI., 18(2): 206-219.
- Ghaffar, M.F.A., K.N. Prasad., K.K. Weng dan A. Ismail. 2010. Flavonoid, Hesperidine, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities from *Citrus sp.* African Journal of Biotechnology., 9(3): 326-330
- Gross, J. 1991. Pigments In Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids. An Avi Book. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Jacob, A. M. , S. Purwaningsih, Rinto. 2011. Anatomi, Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Daun Mangrove Api-api (*Avicennia marina*). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia., 14(2) : 143-152.
- Krzynowek J, Murphy J. 1987. Proximate Composition, energy, fatty acid, sodium and Cholesterol content of Finfish, Shellfish, and Their Products. Technical Report NMFS 55. United States, NOAA.
- Kubola J., S. Siriamornpun. 2008. Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Bitter Gourd (*Momordica carantia* L.) Leaf, Stem and Fruit Fraction Extracts in vitro. Food Chemistry 110 : 881-890.
- Kuppusamy P., M.M. Yusoff, N.R. Parine dan N. Govindan. 2015. Evaluation of In-vitro Antioxidant and Antibacterial Properties of *Commelina nudiflora* L. Extracts Prepared by Different Polar Solvents. Saudi Journal of Biological Sciences., 22: 293–301.
- Limantara, L., R. Christiana dan H. Kristopo. 2008. Fotodegradasi dan Aktivitas Antioksidan Klorofil a dari Serbuk Spirulina (*Spirulina sp.*). Jurnal Chemistry., 8(2): 236-241.
- Nimse, S.B. dan D. Pal. 2015. Free Radicals, Natural antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. Journal of Royal Society of Chemistry., 5: 27986–28006.

- Patria, W.D. dan C.J. Soegihardjo. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra*.Miq.) yang Tumbuh di Pohon Kepel (*S. burahol* (Bl.) Hook. F.). Jurnal Farmasi Sains., 10(1):51-60.
- Permana, D., Lajis, N. Abas, F., Othman, A. G. Ahmad, R. Kitajama, M. Takayama, H. Aimi, N. 2003. Antioxidative Constituents of Hedotis Diffusa Wild. Vol. 9, No. 1, Hlm. 7-9
- Prasad N. P. Yang, B. Dong, X. Jiang G. Zhang, H. Xie H. Jiang Y. 2009. Flavonoid Contents and Antioxidant Activities from Cinnamomum sp. Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies 10: 627-632.
- Purwaningsih, S., E. Salamah, Y.P. Sukarno dan E. Deskawati. 2013. Aktivitas Antioksidan Dari Buah Mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada Suhu Yang Berbeda. JPHPI., 16(3): 199-206.
- Saha M. R, Hasan S. M. R, Akter R, Hossain M. M, Alam M. S, Alam M. A, Mazumder M. E. H. 2008. In Vitro free Radical Scavenging Activity of Methanol Extract of the Leaves of *Mimusops lengi* linn. Bangladesh Journal of Veteriner Medicine 6(2):197-200
- Sarastani, D., S.T. Soekarto, T.R. Muchtadi, D. Fardiaz dan A. Apriyantono. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Antung (*Parinarium glaberrimum*). Jurnal Teknologi dan Industri Pangan., 13(2): 149-156.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- Setha, B., F.F. Gasperzs, A.P.S. Idris, S. Rahman dan M.N. Mailoa. 2013. Potential of Seaweed *Padina* Sp. as a Source of Antioxidant. International Journal of Scientific and Technology Research., 3(6): 221-224.
- Wichi H. P. 1988. Enhanced Tumour Development by Butylated Hydroxytoluene (BHT) from the Properties of Effect on Fure Stomach and Esophageal Aquamoua Epithelium. Food Chemical toxicology 26:727-723.
- Winarno F.G. 1984. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia, Jakarta.
- Yogananth, N., V. Anuradha, M. Y. S. Ali., R. Muthezhilan., A. Chanthuru. 2015. Chemical Properties of Essential Oil From *R. mucronata* mangrove Leaf Against Malarial Mosquito *Anopheles stephensi* and Filarial Mosquito *Culex quinquefasciatus*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease., 5(1): 67-79.