
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL KULIT BATANG FALOAK

Rollando¹, Eva Monica²

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang, Indonesia
E-mail: ro.llando@machung.ac.id

ABSTRAK

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanolik kulit batang faloak dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan senyawa radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Prinsip metode DPPH adalah penurunan intensitas absorbansi larutan DPPH yang berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50* (IC_{50}). Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dengan menggunakan standar baku asam galat. Prinsip metode Folin-Ciocalteu adalah senyawa fenolik teroksidasi oleh reagen Folin-Ciocalteu sehingga larutan uji berwarna biru yang dapat diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 750 nm. Kandungan fenolik total dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air ekstrak metanolik kulit batang faloak secara kualitatif mempunyai senyawa antioksidan dan secara kuantitatif mempunyai nilai IC_{50} sebesar $45,628 \pm 1,474 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong dalam antioksidan sangat kuat. Fraksi air ekstrak metanolik kulit batang faloak memiliki kandungan fenolik total sebesar $6,971 \pm 0,167 \text{ mg}$ ekuivalen asam galat per gram fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak.

Kata kunci : *Antioksidan; kulit batang faloak; fraksi air; DPPH; kandungan fenolat total*

ABSTRACT

Testing the water fraction of the antioxidant activity of methanol extract of the bark of faloak done qualitatively and quantitatively using a radical compound 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The principle of DPPH is a decrease in the intensity of absorbance of DPPH solution is proportional to the increase in the concentration of antioxidant compounds represented by Inhibition Concentration 50 (IC_{50}). Determination of total phenolic content carried by the Folin-Ciocalteu reagent using standard gallic acid. The principle of the method Folin-Ciocalteu are phenolic compounds oxidized by the Folin-Ciocalteu reagent that the blue test solution that can be measured with a visible spectrophotometer at a wavelength of 750 nm. Total phenolic content expressed as equivalent mass of gallic acid. The results showed that the fraction of methanolic water extract of faloak stem bark qualitatively has antioxidant compounds and quantitatively has an IC_{50} value of $45.628 \pm 1.474 \mu\text{g} / \text{mL}$ belonging to a very strong antioxidant. The water fraction of methanolic extract of stem bark faloak has total phenolic content of $6.971 \pm 0.167 \text{ mg}$ gallic acid equivalents per gram of water fraction of methanol extract of bark faloak

Keywords : *Antioxidants; Faloak bark water fraction; DPPH; total phenolic content*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas akan sangat reaktif menyerang molekul-molekul alami tubuh seperti lipoprotein, asam lemak tak jenuh, protein, serta unsur DNA tubuh termasuk karbohidrat.^{1,2}

Reaksi radikal bebas bila tidak dihentikan akan menimbulkan penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi penyakit.^{3,4,5}

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkap radikal bebas dengan cara memberikan elektron (*electron donor*). Antioksidan sintesis biasa digunakan ke dalam formulasi makanan seperti *tert-butyl hydroquinone* (tBHQ), *butyl hydroxyl anisol* (BHA) dan propil galat (PG) mempunyai efektivitas

yang tinggi dalam menghambat radikal bebas, akan tetapi dapat menyebabkan kanker melalui mutasi DNA.^{6,7} Sehingga diperlukan usaha untuk mencari senyawa antioksidan baru yang aman dan efektif.

Masyarakat Nusa Tenggara Timur telah mengenal tumbuhan falok (*Sterculia quadrifida* R.Br.) sebagai tumbuhan obat. Secara empiris, air rebusan kulit batang tumbuhan falok digunakan sebagai obat hepatitis, tifus, maag, dan pemulihan stamina. Melalui uji kualitatif golongan senyawa kimia menyatakan bahwa ekstrak aseton, etil asetat, metanol, dan *n*-heksana dari kulit batang tumbuhan falok memiliki senyawa flavonoid, fenolik dan terpenoid.⁸

Senyawa fenol ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan.⁹ Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. Tujuan metode ini adalah untuk meneliti parameter konsentrasi yang ekuivalen

memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Pada penentuan kandungan fenolik total digunakan metode Folin-Ciocalteu. Metode ini umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total setara massa ekuivalen asam galat.¹⁰

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian acak lengkap. Kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak metanol kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br), fraksinasi, uji aktivitas antioksidan secara kualitatif, uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif, dan penetapan kandungan fenolik total.

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit batang faloak yang berasal dari Balai Penelitian Kehutanan Kupang, Nusa Tenggara Timur. Bahan kimia kualitas

farmasetis (CV. General Labora) berupa akuades. Bahan kimia kualitas pro analitik (E.Merck) meliputi metanol. Bahan kualitas pro analitik (Sigma Chem. Co., USA) meliputi rutin, DPPH, reagen Folin-Ciocalteu, asam galat. Bahan kualitas teknis (Brataco Chemica), yaitu: wasbensin dan etil asetat dan *aluminium foil*.

Alat-alat yang digunakan: *vortex* (Junke & Kunkel), spektrofotometer UV-VIS (Perkin Elmer Lambda 20), blender, corong, *Buchner*, *oven*, mikropipet 10-1000 μ L; 1-10 mL (Acura 825, Socorex), neraca analitik (Scaltec SBC 22, BP 160P), *vacuum rotary evaporator* (Junke & Kunkel), *waterbath* (labo-tech, Heraceus), tabung reaksi tertutup, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis (Pyrex-Germany dan Iwaki).

Prosedur kerja

Sampling bahan dan determinasi

Bahan baku penelitian diperoleh dari pohon faloak yang tumbuh di kota

Kupang dan sekitarnya. Pohon faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) yang digunakan dalam penelitian ini adalah pohon yang telah berdiameter minimal 30 cm.

Determinasi tanaman faloak dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Program Studi Farmasi Universitas Ma Chung.

Ekstraksi dan fraksinasi

1 kg kulit batang faloak kering, dibersihkan dan dihaluskan dengan blender. Simplisia yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 30 gram dan dituang ke dalam bejana maserasi, ditambah metanol sampai terendam sempurna, dan dicampur homogen. Campuran dimaserasi pada suhu ruangan selama dua hari. Filtrat diperoleh melalui penyaringan dan ampas penyaringan diremaserasi dengan metanol secukupnya selama 2 hari dan disaring. Pelarut hasil penyaringan filtrat diuapkan hingga diperoleh ekstrak metanol kulit batang faloak.

Ekstrak metanol kulit batang faloak ditambah 300 mL air hangat dan di ekstraksi cair-cair menggunakan wasbensin dengan perbandingan larutan ekstrak wasbensin (1:1 v/v), kemudian didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase air akan berada pada paling bawah, sedangkan fase washbensin berada pada bagian atas.

Hasil partisi diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi wasbensin dan fraksi air. Selanjutnya, fraksi air diekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat dengan perbandingan larutan fraksi air-etil asetat (1:1 v/v) sehingga didapat fraksi air dan etil asetat. Fraksi air diuapkan pelarutnya hingga didapat ekstrak kental.

Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah DPPH dilarutkan ke dalam metanol p.a sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM. Larutan tersebut ditutup dengan alumunium foil dan harus selalu dibuat baru

Pembuatan larutan standar rutin

Pembuatan larutan stok rutin dilakukan dengan menimbang 2,5 mg rutin dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10,0 mL.

Larutan perbandingan dibuat dengan cara 0,5; 1,0; 1,5; 2,5; 3,0 mL larutan stok rutin diambil, kemudian ditambah metanol p.a sampai 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar rutin sebesar 12,5; 25,0; 37,5; 50,0; dan 62,5 µg/mL.

Pembuatan larutan uji

Larutan uji untuk aktivitas antioksidan dibuat dengan menimbang 25,0 fraksi air dan ditambahkan metanol p.a sampai 25,0 mL. Sebanyak 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mL larutan tersebut, kemudian ditambah metanol p.a sampai 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 100; 150; 200; 250; 300 µg/mL.

Larutan uji untuk penentuan kandungan fenolik total dibuat dengan

menimbang 7,5 mg fraksi air dan ditambahkan metanol p.a sampai diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 750,0 µg/mL.

Pembuatan larutan asam galat

Pembuatan larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 500 µg/mL dalam akuades:metanol p.a (1:1). Diambil 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; dan 3,0 mL larutan tersebut, kemudian ditambahkan akuades : metanol p.a (1:1) sampai 10,0 mL.

Uji pendahuluan

Uji pendahuluan senyawa fenolik dilakukan dengan cara 0,5 mL larutan uji 750,0 µg/mL dan larutan perbandingan asam galat 150,0 µg/mL ditambah 2,5 mL pereaksi fenol Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan akuades (1:10 v/v) kedalam tabung reaksi. Diamkan selama 10 menit. Tambahkan 7,5 mL larutan natrium karbonat 1 M. Kemudian amati warna larutan tersebut.

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan dilakukan dengan 1 mL larutan DPPH

dimasukkan ke dalam masing-masing tiga tabung reaksi. Ditambahkan masing-masing dengan 1 mL metanol p.a, larutan pembanding rutin 37,5 µg/mL, dan larutan uji 200,0 µg/mL. Selanjutnya, larutan tersebut ditambahkan dengan 3 mL metanol p.a. Setelah 30 menit, amati warna pada larutan tersebut.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan cara pada 3 labu ukur 10 mL, dimasukkan masing-masing 0,5; 1,0; 1,5 mL larutan DPPH. Ditambahkan larutan tersebut dengan metanol p.a hingga tanda batas. Diamkan selama OT (*operating time*). Lakukan *scanning* panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 400-600 nm.

Pengukuran aktivitas antioksidan

Estimasi aktivitas antioksidan total larutan uji dilakukan dengan cara 1 mL

larutan DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup kemudian ditambah dengan 1 mL larutan pembanding dan uji pada berbagai seri konsentrasi telah dibuat. Selanjutnya larutan tersebut ditambah dengan metanol p.a hingga tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama OT. Diukur absorpsi larutan uji dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum hasil optimasi. Pengujian dilakukan dengan 5 kali replikasi.

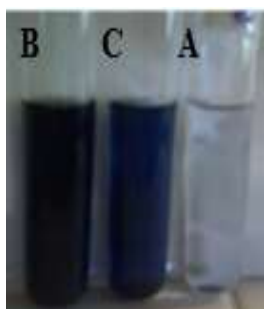
Pengukuran kandungan fenolik total

Estimasi kandungan fenolik total larutan uji dilakukan dengan cara diambil 0,5 mL larutan uji 750 µg/mL, lalu masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan dilanjutkan sebagaimana perlakuan pada pembuatan kurva baku asam galat. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekuivalen asam galat (mg ekuivalen asam galat per g fraksi air). Lakukan 5 kali replikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksi air yang diberi reagen Folin-Ciocalteu menunjukkan warna biru (gambar 1). Dapat disimpulkan fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak mengandung senyawa fenolat.

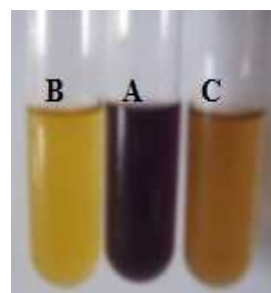
Fraksi air ekstrak metanol yang memiliki potensi aktivitas antioksidan maka akan bereaksi dengan radikal DPPH yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Ketika elektron menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansi akan menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil.¹¹



Gambar 1. Uji senyawa fenolik. Blangko (A), fraksi air + Folin Ciocalteu (B), asam galat + Folin Ciocalteu (C)

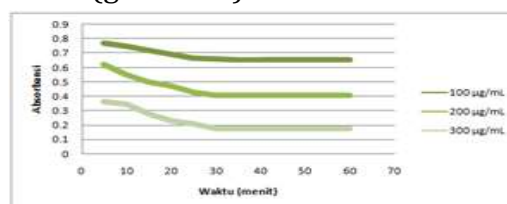
Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning. Gambar 2

terlihat adanya penurunan intensitas warna larutan uji fraksi air ekstrak metanol dari warna ungu menjadi warna kuning. Dengan demikian dapat disimpulkan hasil pengujian positif dan didalam fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.



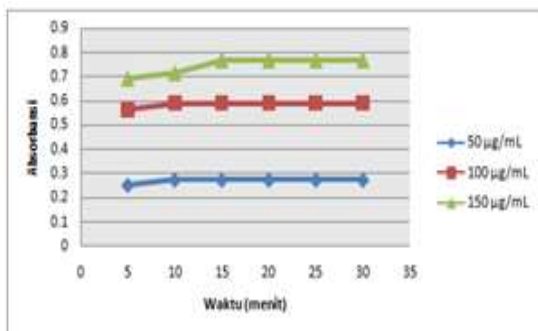
Gambar 2. Uji aktivitas antioksidan. Blangko (A), fraksi air + DPPH (B), rutin + DPPH (C)

Penentuan OT aktivitas antoksidan pada larutan perbandingan dan larutan uji di tiga tingkat konsentrasi, absorbansi stabil pada menit ke-30 hingga menit ke-60. Sehingga pengukuran larutan akan memberikan hasil yang reproduibel bila diukur antara menit ke-30 sampai menit ke-60 (gambar 3).



Gambar 3. Grafik penentuan OT rutin

Penentuan OT asam galat menunjukkan dari menit ke-10 sampai ke-30 absorbansi senyawa *molybdenum blue* yang merupakan senyawa hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu terbentuk secara stabil. Dapat disimpulkan bahwa pengukuran absorbansi pada penetapan kadar kandungan fenolat total agar mendapatkan hasil yang reliabel dan valid dilakukan pada menit ke-10 sampai ke-30 (gambar 4).



Gambar 4. Grafik Penentuan OT Asam Galat

Hasil pengukuran tiga konsentrasi larutan DPPH didapatkan hasil panjang gelombang maksimum rata-rata adalah 515,8 nm. Hasil pengukuran tiga konsentrasi asam galat yang sudah direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu didapatkan hasil panjang

gelombang maksimum rata-rata adalah 750 nm. Hal ini sesuai dengan panjang gelombang teoritis yaitu 750 nm. Jadi Untuk menentukan kandungan fenolat total menggunakan panjang gelombang 750 nm.

Tabel 1. Parameter Validasi

Parameter Validasi	Hasil	Standar (APVMA) Konsentrasi zat aktif < 0,1%
Linearitas	$r = 0,9999$	$r = 0,997$
Akurasi	Recovery = 93,750 – 120,186 %	Recovery = 75-125%
Presi	CV = 1,7701 %	CV = < 20 %
Spesifisitas	Tidak terdapat serapan pengganggu pada λ 500-900 nm.	Tidak terdapat serapan pengganggu pada λ penentuan

Penilaian parameter validasi disajikan pada tabel 1. Linearitas menunjukkan kemampuan metode untuk menghasilkan hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit dalam sampel. Nilai linearitas yang didapat dari hasil pengujian adalah 0,999. Nilai tersebut telah sesuai dengan nilai parameter linearitas yang disyaratkan oleh APVMA yaitu lebih dari 0,997.

Akurasi merupakan analisis kedekatan hasil analisis yang diperoleh dengan

menggunakan metode analisis tertentu dengan nilai yang sebenarnya. Berdasarkan ketiga macam konsentrasi yang diuji dalam validasi metode penentuan aktivitas antioksidan, dihasilkan rentang nilai *recovery* sebesar 93,750–120,186%. Nilai tersebut telah sesuai dengan nilai parameter akurasi yang disyaratkan oleh APVMA yaitu dengan rentang 75-125%.

Presisi dari metode analisis dinyatakan dalam CV (*Coeffisien of Variant*). Dalam menghitung nilai CV digunakan tiga tingkatan konsentrasi dalam lima kali replikasi. Berdasarkan ketiga macam konsentrasi yang diuji dalam uji aktivitas antioksidan didapatkan nilai CV sebesar 1,7701%. Nilai tersebut telah sesuai dengan nilai parameter presisi yang disyaratkan oleh APVMA yaitu dengan nilai CV < 20%.

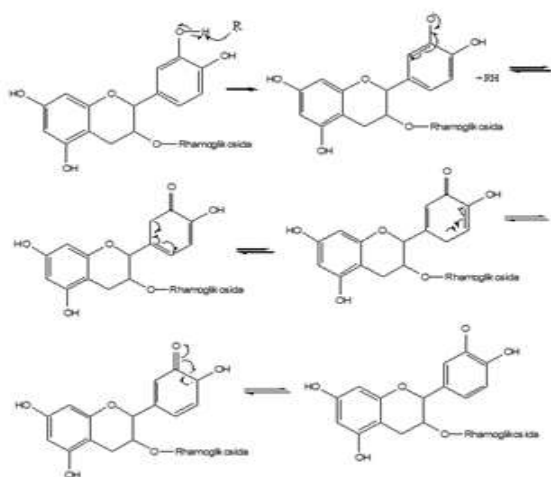
Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain

dalam matriks sempel seperti ketidakmurnian, produk degradasi dan komponen lain. Hasil *scanning* larutan pembanding rutin dan larutan uji fraksi air pada rentang gelombang 450-550 nm, menunjukkan tidak terdapat serapan pada panjang gelombang 515,8 nm (panjang gelombang deteksi).

Hasil *scanning* larutan asam galat dan fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak pada rentang gelombang 500-900 nm, tidak terdapat serapan pada panjang gelombang 750 nm (panjang gelombang deteksi). Hal tersebut menunjukkan ketika rutin direaksikan dengan radikal DPPH maka yang terdeteksi hanya absorbansi DPPH dari hasil reaksi, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode uji aktivitas antioksidan fraksi air memiliki spesifisitas yang baik.

Parameter yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk

mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan nilai aktivitas antioksidan.¹² Semakin kecil nilai IC_{50} senyawa uji, maka semakin poten senyawa uji tersebut sebagai antioksidan.¹³



Gambar 5. Mekanisme Penghambatan Radikal Bebas Oleh Rutin

Reaksi penghambatan radikal bebas DPPH oleh karena adanya rutin ditunjukkan pada gambar 5, dimana radikal bebas DPPH digambarkan sebagai •R. Pada saat penambahan senyawa yang bersifat antioksidan, satu elektron bebas yang terdapat pada DPPH akan mengikat •H yang berasal dari senyawa

antioksidan, sehingga sifat radikal bebas yang dimiliki oleh DPPH akan hilang.¹⁴ Hilangnya sifat radikal bebas ini menyebabkan tidak terjadinya delokalisasi elektron dalam molekul DPPH, sehingga warna ungu akan berkurang intensitasnya. Pengurangan intensitas warna ini sebanding dengan jumlah radikal bebas DPPH yang ditangkap oleh senyawa antioksidan.¹⁵

Rata-rata nilai IC_{50} rutin sebesar $10,176 \pm 0,380 \mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa dibutuhkan rutin dengan konsentrasi $10,176 \pm 0,380 \mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH sedangkan nilai IC_{50} fraksi air sebesar $45,628 \pm 1,474 \mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa dibutuhkan fraksi air ekstrak metanol kulit batang falok dengan konsentrasi $45,628 \pm 1,474 \mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH (tabel 2). Berdasarkan nilai IC_{50} , aktivitas antiosidan rutin lebih

besar daripada aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanolik kulit batang faloak, akan tetapi berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan, baik rutin maupun fraksi air memiliki aktivitas antioksidan pada tingkat sangat kuat karena IC_{50} keduanya kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 2. Hasil Perhitungan IC_{50}

Sampel	Tingkatan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dengan metode DPPH				
	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Sangat kuat (< 50 $\mu\text{g/mL}$)	Kuat (50-100 $\mu\text{g/mL}$)	Sedang (101-150 $\mu\text{g/mL}$)	Lemah (> 150 $\mu\text{g/mL}$)
Rutin	10,176	√			
Fraksi air	45,628	√			

Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat. Hubungan antara asam galat dan absorbansinya setelah direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dihitung menggunakan persamaan $y = 0,006x - 0,052$; dengan nilai koefisien korelasi, $r = 0,9999$. Nilai r ini lebih besar r tabel ($df = 5$; $p = 0,05$), sebesar 0,878.¹⁶

Hasil perhitungan nilai kandungan fenolik total rata-rata pada sampel

sebesar $6,971 \pm 0,167$ mg ekivalen asam galat per gram fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak (tabel 3).

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kandungan Fenolik Total

Fraksi air	Absorbansi	Kandungan fenolik ($\mu\text{g/mL}$)	Kandungan fenolik total (mg ekivalen asam galat per g fraksi)	\bar{x} (rata-rata) \pm SD
Replikasi 1	0,569	103,5	6,891	
Replikasi 2	0,604	109,333	7,267	
Replikasi 3	0,572	104	6,915	$6,971 \pm 0,167$
Replikasi 4	0,573	104,667	6,921	
Replikasi 5	0,606	104	6,861	

KESIMPULAN

Nilai aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak dengan menggunakan radikal bebas DPPH yang dinyatakan sebagai IC_{50} sebesar $(45,628 \pm 1,474)$ $\mu\text{g/mL}$ dan kandungan fenol total pada fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak yang dinyatakan dengan massa ekivalen asam galat sebesar $(6,971 \pm 0,167)$ mg ekivalen asam galat per gram fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Program Studi Farmasi Universitas Ma Chung atas dukungan yang diberikan selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gaytán-Martínez M, Cabrera-Ramírez ÁH, Morales-Sánchez E, Ramírez-Jiménez AK, Cruz-Ramírez J, Campos-Vega R, et al. Effect of nixtamalization process on the content and composition of phenolic compounds and antioxidant activity of two sorghums varieties. *J Cereal Sci.* 2017 Sep 1;77:1–8.
2. Zhang X, Xu M, Zhang J, Wu L, Liu J, Si J. Identification and evaluation of antioxidant components in the flowers of five *Chimonanthus* species. *Ind Crops Prod.* 2017 Aug 1;102:164–72.
3. Szilvás Á, Blázovics A, Székely G, Dinya E, Fehér J, Mózsik G. Comparative study between the free radicals and tumor markers in patients with gastrointestinal tumors. *J Physiol-Paris.* 2012 Jan 1;95(1):247–52.
4. Karbowski M, Kurono C, Wozniak M, Ostrowski M, Teranishi M, Nishizawa Y, et al. Free radical-induced megamitochondria formation and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 2011 Feb 1;26(3):396–409.
5. Hekimi S, Lapointe J, Wen Y. Taking a “good” look at free radicals in the aging process. *Trends Cell Biol.* 2011 Oct 1;21(10):569–76.
6. Bagchi D, Swaroop A, Preuss HG, Bagchi M. Free radical scavenging, antioxidant and cancer chemoprevention by grape seed proanthocyanidin: An overview.

- Mutat Res Mol Mech Mutagen. 2014 Oct;768:69–73.
7. Gharavi,N., Haggarty,S., dan El-Kdai, A.O.S., Chemoprotective and carcinogenic Effect of tert-Butylhydroquinone and Its Metabolites, Current Drug Metabolism 2007; 8, 1-7
8. Siswadi., Rianawati,H., Saragih,G., dan Hadi, D., The Potency of Faloak's (*Sterculia quadrifida* R.Br) Active Compunds As Natural Remedy, Prosiding Seminar International, Kementrian Kehutanan bagian Penelitian dan Pengembangan Hutan 2014; Bogor.
9. Blum-Silva CH, Chaves VC, Schenkel EP, Coelho GC, Reginatto FH. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. Rev Bras Farmacogn. 2015 Jan 1;25(1):1–6.
10. Meng J, Fang Y, Zhang A, Chen S, Xu T, Ren Z, et al. Phenolic content and antioxidant capacity of Chinese raisins produced in Xinjiang Province. Food Res Int. 2011 Nov 1;44(9):2830–6.
11. Fadl Almoulah N, Voynikov Y, Gevrenova R, Schohn H, Tzanova T, Yagi S, et al. Antibacterial, antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. South Afr J Bot. 2017 Sep 1;112:368–74.
12. Fan J, Feng H, Yu Y, Sun M, Liu Y, Li T, et al. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum*. Carbohydr Polym. 2017 Feb 10;157:629–36.
13. Othman A, Ismail A, Abdul Ghani N, Adenan I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans.

Food Chem. 2012 Jan
1;100(4):1523–30.

14. Zhang R, Zhang B-L, He T, Yi T, Yang J-P, He B. Increase of rutin antioxidant activity by generating Maillard reaction products with lysine. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016 Jun 1;26(11):2680–4.
15. Cruz-Zúñiga JM, Soto-Valdez H, Peralta E, Mendoza-Wilson AM, Robles-Burgueño MR, Auras R, et al. Development of an antioxidant biomaterial by promoting the deglycosylation of rutin to isoquercetin and quercetin. *Food Chem*. 2016 Aug 1;204:420–6.
16. Hastie T, Tibshirani R, Friedman J. *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction*. Springer Science & Business Media; 2013. 545 p.