

# AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, DAN FLAVONOID TOTAL DAUN MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L)

Antioxidant Activity, Total Phenolics and Total Flavonoid Contents of Mengkudu  
(*Morinda citrifolia* L) Leaves

Abdul Rohman, Sugeng Riyanto, Nurul Khusna Hidayati<sup>1</sup>

## ABSTRAK

*Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk: (i) menentukan aktivitas antioksidan ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu, (ii) menentukan kandungan fenolik dan flavonoid total, serta (iii) menentukan hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik total dan flavonoid totalnya. Daun mengkudu dimaserasi dengan metanol lalu diuapkan hingga diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol dilarutkan dalam air lalu dipartisi dengan heksan, kloroform, dan etil asetat untuk memperoleh fraksi-fraksi heksan, kloroform, etil asetat, dan air. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan uji penangkapan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Kandungan fenolik total dan flavonoid total ditentukan dengan teknik spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  123,72  $\mu$ g/ml dibanding fraksi etil asetat ( $IC_{50}$  290,78  $\mu$ g/ml), fraksi kloroform ( $IC_{50}$  349,29  $\mu$ g/ml), dan ekstrak metanol daun mengkudu sebelum dipartisi ( $IC_{50}$  244,98  $\mu$ g/ml). Semua ekstrak dan atau fraksi uji mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibandingkan dengan vitamin E ( $IC_{50}$  8,27  $\mu$ g/ml). Kandungan fenolik total ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu berkisar antara  $0,20 \pm 0,02$  sampai  $5,91 \pm 0,06$  % b/b EAG, sedangkan kandungan flavonoid totalnya berkisar antara  $0,21 \pm 0,01$  sampai  $0,75 \pm 0,01$  %b/b EK. Kandungan fenolik total ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu dan nilai  $IC_{50}$ -nya menunjukkan hubungan linier  $y = -38,985x + 355,209$ ; dengan nilai koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 0,982, sedangkan hubungan antara flavonoid total ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu dengan  $IC_{50}$ -nya mempunyai persamaan regresi linier  $y = -369,637 + 404,668$ ; dengan nilai  $r^2 = 0,9467$ .*

**Kata kunci :** antioksidan, daun mengkudu, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

## ABSTRACT

*Antioxidants are the compounds having an ability to inhibit free radical reactions in the human body. This research aimed: (i) to evaluate the antioxidant activity of extract and/ fractions from mengkudu leave, (ii) to determine total phenolic and total flavonoid contents, and (iii) to correlate the total phenolic and total flavonoid contents of those extract and/ fractions with their antioxidant activities. Mengkudu leaves were extracted by methanol, evaporated, dissolved in aquadest, and subsequently partitioned using hexane, chloroform, and ethyl acetate to afford hexane, chloroform, ethyl acetate, and water fractions. The antioxidant activity was determined by radical scavenging assay using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical. The total phenolic and total flavonoid contents were determined spectrophotometrically. The results showed that among extract and/ fractions of mengkudu leaves evaluated, water fraction revealed the highest antioxidant activity with  $IC_{50}$  values 123.72  $\mu$ g/ml compared to those of ethyl acetate fraction ( $IC_{50}$  290.78  $\mu$ g/ml), chloroform fraction ( $IC_{50}$  349.29  $\mu$ g/ml), and methanol extract before being partitioned ( $IC_{50}$  244.98  $\mu$ g/ml). The antioxidant activities of these extract and/ fractions are lower than that of vitamin E ( $IC_{50}$  8.27  $\mu$ g/ml). The total phenolic contents ranged from  $0.20 \pm 0.02$  to  $5.91 \pm 0.06$  g of gallic acid equivalent/100 gram dry material, whereas the total flavonoid contents ranged from  $0.21 \pm 0.01$  to  $0.75 \pm 0.01$  g of quercetin equivalent/100 gram dry material. A linier positive relationship existed between the total phenolic contents of these extract and/ fractions with their antioxidant activities  $y = -38.985x + 355.209$ ;  $r^2 = 0.982$ , while the correlation between the total flavonoid contents and their antioxidant activities revealed a linier regression  $-369.637 + 404.668$ ;  $r^2 = 0.9467$ .*

**Keywords:** antioxidant, mengkudu leaves, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

<sup>1</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, Telp. 0274-6492565

## PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh manusia. Adanya radikal bebas dipercayai sebagai penyebab sejumlah penyakit seperti kardiovaskuler, neurodegeneratif, dan kanker jenis tertentu. Dalam tubuh, senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil, anion superoksida, dan oksigen singlet akan menyerang asam lemak tidak jenuh pada membran sel dan menyebabkan peroksidasi lipid yang dikaitkan dengan proses penuaan dan karsinogenesis (Madhujith dan Shahidi, 2005).

Uji aktivitas antioksidan digunakan dan diterima oleh para peneliti sebagai petunjuk antikanker. Meskipun demikian, aktivitas antioksidan tidak menggambarkan secara penuh sehingga diperlukan informasi lain seperti antimutagenisitas, anti-inflamasi, dan antiproliferasi (Tsai, 2005).

Beberapa antioksidan sintetik seperti BHA (butil hidroksi anisol), BHT (butil hidroksi toluen), PG (propil galat), dan TBHQ (*tert*-butil hidrokuinon) dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (Amarowicz dkk., 2000).

Daun mengkudu mengandung 5 glikosida flavonol yaitu: kuersetin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosida; kaemperol-3-O- $\alpha$ -L-ramnapirosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida; kuersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnapirosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida; kuersetin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-ramnapirosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranosida; dan kaemperol-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 2)- [ $\alpha$ -L-ramnapirosil-(1 $\rightarrow$ 6)  $\beta$ -D-galakopiranosida (Sang dkk., 2005). Senyawa-senyawa polifenol seperti senyawa-senyawa flavonoid (termasuk flavonol) mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron dari elektron yang tidak berpasangan dalam

radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Pokorny dkk., 2001).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu, kandungan fenolik dan flavonoid total, serta menentukan hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik total dan flavonoid totalnya.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

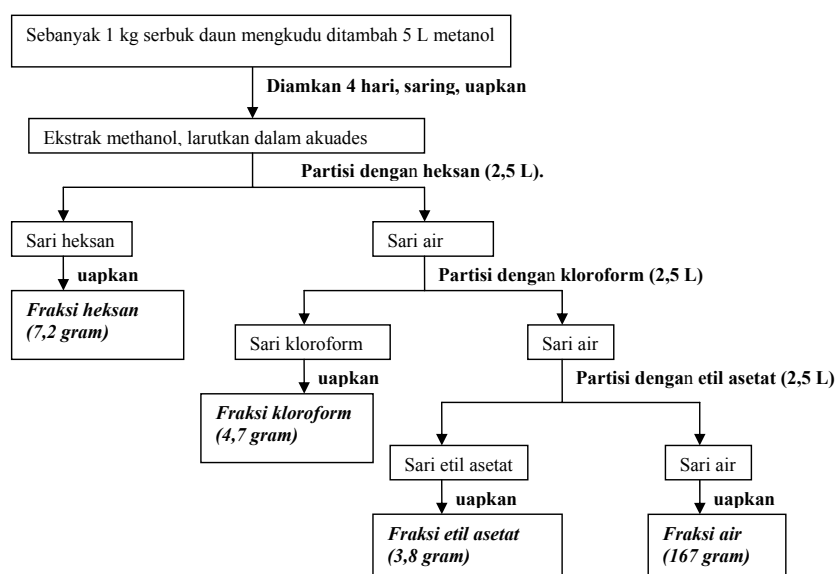
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: daun mengkudu yang berasal dari daerah di sekitar Fakultas Farmasi UGM, Sleman, Yogyakarta, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil), vitamin E, asam galat, kuersetin (Sigma.Co), pereaksi Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, natrium nitrit, aluminium klorida, natrium hidroksida, etanol, metanol, etil asetat, dan amonia diperoleh dari E. Merck. Heksan (Water associates), aqua bidestilata (Ika Pharmindo), dan aquades.

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *Vacuum rotary evaporator*, neraca elektrik, spektrofotometer UV-VIS (Genesys-5), *Delivery pipet* (Gilson pipetmen), *yellow and white tip*, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di Laboratorium Analisis.

### Prosedur Pelaksanaan

**Penyiapan ekstrak dan fraksi.** Sebanyak 1 kg daun mengkudu yang telah diserbuk ditambah 5 liter metanol, lalu dicampur homogen sambil sesekali diaduk. Proses selanjutnya untuk memperoleh ekstrak dan fraksi-fraksi daun mengkudu dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema partisi ekstrak metanol daun Mengkudu

**Penentuan aktivitas antioksidan.** Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH sesuai dengan Kikuzaki dkk. (2002) dengan cara berikut: sebanyak 50 µl ekstrak atau fraksi uji dengan berbagai konsentrasi (yang memberikan nilai IC<sub>50</sub> yakni konsentrasi ekstrak dan atau fraksi uji yang memberikan persen aktivitas antioksidan senilai 50 % dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier), ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,4 mM, dan 3,950 ml etanol. Campuran selanjutnya divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm terhadap blanko (yang terdiri atas 50 µl ekstrak dan 4,950 ml etanol). Dilakukan juga pengukuran absorbansi kontrol yang terdiri atas 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan 4,0 ml etanol. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\text{Persen (\%)} \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

Sebagai pembanding digunakan vitamin E yang sudah diketahui sebagai antioksidan.

**Penentuan kandungan fenolik total.** Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode spektrofotometri visibel sesuai dengan Chun dkk. (2003), dengan cara sebagai berikut: sejumlah ekstrak atau fraksi uji dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml, ditambah dengan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5-8 menit. Larutan selanjutnya ditambah 4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% dan ditambah aqua bidestilata sampai batas tanda. Setelah 2 jam, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 765 nm. Sebagai blanko digunakan aqua bidestilata dan reagen Folin-Ciocalteu. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat tiap 100 gram berat kering subfraksi (% b/b EAG).

**Penentuan kandungan flavonoid total.** Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri visibel sesuai dengan Zou dkk. (2004). Sejumlah ekstrak atau fraksi uji dimasukkan dalam labu takar 10 ml, ditambah 4 ml aquades dan 0,3 ml larutan NaNO<sub>2</sub>, lalu dibiarkan selama 6 menit. Setelah itu larutan ditambah dengan 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan dibiarkan selama 5 menit. Larutan selanjutnya ditambah 4 ml NaOH 10% dan aquades sampai 10 ml. Larutan dibiarkan selama 15 menit dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm, terhadap blanko yang terdiri atas semua pereaksi yang digunakan akan tetapi tidak mengandung kuersetin atau sampel uji. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai gram ekivalen kuersetin tiap 100 gram subfraksi (% b/b EK).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode penangkapan radikal (*radical scavenging*) menggunakan radi-

kal DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ini berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa uji untuk mengurangi intensitas warna radikal DPPH pada 515 nm (Prior dkk., 2005). Penggunaan DPPH untuk metode penangkapan radikal mempunyai keuntungan yaitu mudah digunakan, mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi, dan dapat menganalisis sejumlah besar sampel dalam jangka waktu yang singkat (Kim dkk., 2002). Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi senyawa (ekstrak/fraksi) uji yang dibutuhkan untuk mengurangi intensitas warna radikal DPPH sebesar 50% (Zou dkk., 2004). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, semakin aktif ekstrak/fraksi (senyawa uji) tersebut sebagai antioksidan. Hasil penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dan atau fraksi daun mengkudu dapat dilihat pada Tabel 1.

**TABEL 1. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YANG DIEKSPRESIKAN DENGAN NILAI IC<sub>50</sub> SAMPEL UJI**

Sampel uji	$\bar{X}$ Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL) ± SD
Fraksi air	123,72 ± 1,46
Fraksi etil asetat	290,78 ± 3,08
Fraksi kloroform	349,29 ± 6,41
Fraksi heksan	n.d
Ekstrak metanol sebelum dipartisi	244,98 ± 3,37

n.d *not detected* (tidak terdeteksi)

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa fraksi air mempunyai aktivitas antioksidan yang paling besar (nilai IC<sub>50</sub> paling kecil), baik dibandingkan dengan fraksi-fraksi lain atau dengan ekstrak metanol sebelum dilakukan partisi. Urutan aktivitas antioksidan dari yang paling besar yang didasarkan pada nilai IC<sub>50</sub> adalah: fraksi air (IC<sub>50</sub> = 123,72 µg/mL) > ekstrak metanol sebelum dipartisi (IC<sub>50</sub> = 244,98 µg/mL) > fraksi etil asetat (IC<sub>50</sub> = 290,78 µg/mL) > fraksi kloroform (IC<sub>50</sub> = 349,29 µg/mL). Sementara itu fraksi heksan tidak ditentukan aktivitas antioksidannya karena peningkatan konsentrasi fraksi heksan tidak menunjukkan penurunan absorbansi larutan DPPH secara linier.

Sebagai pembanding digunakan vitamin E yang sudah diketahui sebagai antioksidan. Hasil pengukuran antioksidan vitamin E menunjukkan bahwa vitamin E mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 8,27 µg/ml. Baik fraksi-fraksi air, etil asetat, dan kloroform atau dengan ekstrak metanol sebelum dilakukan partisi mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kecil daripada vitamin E. Hal ini dapat diketahui dari nilai IC<sub>50</sub> vitamin E yang masih lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> ketiga fraksi dan ekstrak metanol sebelum dipartisi.

Dibandingkan dengan buahnya, daun mengkudu mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Fraksi etil asetat, kloroform, dan metanol buah mengkudu mempunyai nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 46,7; 227,7; dan 888,6  $\mu\text{g/ml}$  (Abdul dan Sugeng, 2005).

Aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan fenolik dan flavonoid totalnya. Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya (Kahkonen dkk., 1999).

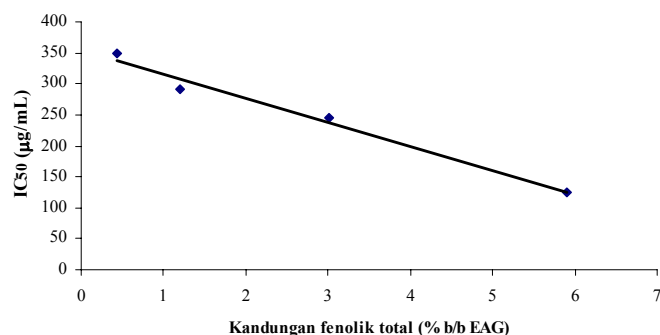
**Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total**

Penentuan kandungan fenolik total bertujuan untuk melihat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik totalnya. Kandungan senyawa fenolik total diekspresikan dengan % b/b ekuivalen asam galat (%b/b EAG) karena belum diketahuinya struktur kimia senyawa fenolik yang ada pada ekstrak etil asetat, kloroform, maupun fraksi-fraksinya. Hasil penentuan kandungan fenolik total fraksi dan atau ekstrak daun mengkudu disajikan pada Tabel 2.

**TABEL 2. KANDUNGAN FENOLIK TOTAL SAMPEL UJI, DIHITUNG SEBAGAI % b/b EKIVALEN ASAM GALAT (% b/b EAG)**

Sampel uji	$\bar{X}$ Kandungan fenolik total (% b/b EAG) $\pm$ SD
Fraksi Air	5,91 $\pm$ 0,06
Fraksi etil asetat	1,21 $\pm$ 0,04
Fraksi kloroform	0,43 $\pm$ 0,02
Fraksi heksan	0,20 $\pm$ 0,02
Ekstrak metanol sebelum dipartisi	3,02 $\pm$ 0,02

Pada Tabel 2 diketahui bahwa fraksi air mempunyai kandungan fenolik total yang paling besar diantara fraksi/ekstrak uji. Hasil ini sejalan dengan aktivitas antioksidannya. Gambar 2 merupakan grafik yang menunjukkan hubungan



**Gambar 2.** Hubungan antara kandungan fenolik total fraksi dan atau ekstrak daun mengkudu dengan nilai  $IC_{50}$ -nya.

antara aktivitas antioksidan (diekspresikan dengan nilai  $IC_{50}$ ) fraksi/ekstrak daun mengkudu dengan kandungan fenolik totalnya.

Hubungan antara kandungan fenolik total (x) dengan  $IC_{50}$  (y) fraksi/ekstrak mempunyai koefisien korelasi  $r^2 = 0,9820$ , ( $y = -38,985x + 355,209$ ) (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa 98,20 % aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi dari senyawa-senyawa fenolik (Javanmardi dkk., 2003).

Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya. Senyawa fenolik beraksi sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengkelat logam yang potensial (Kahkonen dkk., 1999).

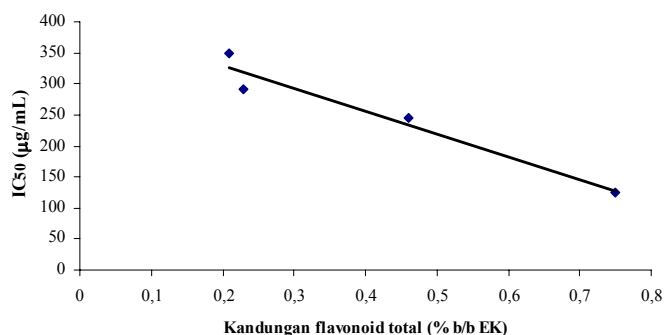
Penentuan kandungan flavonoid total yang dilakukan secara spektrofotometri dan diekspresikan dengan % b/b ekuivalen kuersetin (% b/b EK) bertujuan untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoidnya. Hasil penentuan kandungan flavonoid total fraksi dan atau ekstrak daun mengkudu disajikan pada Tabel 3.

**TABEL 3. KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL SAMPEL UJI YANG DIEKSPRESIKAN DENGAN % b/b EK**

Sampel uji	$\bar{X}$ Kandungan flavonoid total (% b/b EK) $\pm$ SD
Fraksi Air	0,75 $\pm$ 0,01
Fraksi etil asetat	0,23 $\pm$ 0,02
Fraksi kloroform	0,21 $\pm$ 0,01
Fraksi heksan	n.d
Ekstrak metanol sebelum dipartisi	0,46 $\pm$ 0,22

n.d = not detected (tidak terdeteksi)

Urutan kandungan flavonoid total yang paling tinggi adalah: fraksi air > ekstrak metanol sebelum dipartisi > fraksi etil asetat > fraksi kloroform. Sementara itu, fraksi heksan



**Gambar 3.** Hubungan antara kandungan flavonoid total fraksi dan atau ekstrak daun mengkudu dengan nilai  $IC_{50}$ -nya.



kandungan flavonoid totalnya tidak terdeteksi (Tabel 3). Data ini mendukung hasil penentuan aktivitas antioksidan fraksi-fraksi dan ekstrak metanol, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak air paling tinggi diantara fraksi dan ekstrak daun mengkudu yang diuji.

Gambar 3 merupakan grafik yang menyatakan hubungan antara kandungan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan yang diekspresikan dengan nilai IC<sub>50</sub> fraksi/ekstrak daun mengkudu.

Hubungan antara kandungan flavonoid total (x) dengan nilai IC<sub>50</sub> (y) fraksi-fraksi dan ekstrak metanol sebelum dipartisi mempunyai koefisien korelasi  $r^2 = 0,9467$ , ( $y = -369,637 + 404,668x$ ) (Gambar 3). Hasil ini menunjukkan bahwa 94,67% aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi dari flavonoid, sedangkan 5,33 % yang lain berasal dari senyawa lain selain flavonoid seperti senyawa fenolik sederhana atau senyawa karoten.

## KESIMPULAN

1. Diantara fraksi dan atau ekstrak daun mengkudu yang diuji, fraksi air mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi pada pengujian menggunakan DPPH dengan nilai IC<sub>50</sub> 123,72 µg/ml dibandingkan dengan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat, fraksi kloroform, dan ekstrak metanol sebelum dipartisi yang masing-masing mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 244,98; 290,78; dan 349,29 µg/mL. Aktivitas antioksidan ekstrak dan atau fraksi uji ini masih lebih kecil dibanding vitamin E (IC<sub>50</sub> vitamin E 8,27 µg/ml).
2. Hubungan antara kandungan fenolik total fraksi/ekstrak daun mengkudu dengan IC<sub>50</sub>-nya mempunyai koefisien determinasi ( $r^2$ )=0,9820 dengan persamaan regresi linier  $y = -38,985x + 355,209$ ; sementara itu hubungan antara kandungan flavonoid total fraksi/ekstrak daun mengkudu dengan IC<sub>50</sub>-nya mempunyai persamaan regresi linier  $y = -369,637 + 404,668x$  dengan  $r^2 = 0,9467$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Muda 2006.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdul, R dan Sugeng, R. (2005). Aktivitas antioksidan ekstrak buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L). *Agritech* **25**: 131-136.

Amarowicz, R., Naczki, M. dan Shahidi, F. (2000). Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *JAACS* **77**: 957-961.

Chun, O.K., Kim, D.O. dan Lee, C.Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **51**: 8067-8072.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. dan Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian ocimum accessions. *Journal of Food Chemistr* **83**: 547-550.

Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. dan Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **47**: 3954-3962.

Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. dan Taniguchi, H. (2002). Antioxidants properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **50**: 2161-2168.

Kim, D.K., Lee, K.W., Lee, H.J. dan Lee, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **50**: 3713-3717.

Madhujit, T. dan Shahidi, F. (2005). Antioxidant potential of pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science* **70**: S85-S90.

Pokorni, J., Yanishlieva, N. dan Gordon, M. (2001). *Antioxidant in Food: Practical Application.*, CRC Press, New York.

Prior, R.L., Wu, X. dan Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **55**: 2698A-J.

Sang, S., Cheng, X., Zhu, N., Stark, R.E., Badmaev, V., Ghai, G., Rosen, R.T. dan Ho, C.T. (2005). Flavonol glycosides and novel iridoid glycoside from the leaves of *Morinda citrifolia*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **49**: 4478-4481.

Tsai, T.H., Tsai, P.J. dan Ho, S.C. (2005). Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. *Journal of Food Science* **70**: C93-C97.

Zou, Y., Lu, Y. dan Wei, D. (2004). Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **52**: 5032-50.