

Efek Temperatur dan Waktu Terhadap Total Kandungan Antioksidan Dari 5 Jenis Tanaman Herbal dengan Metode Phenanthroline Termodifikasi

Etriyanto Arman^a, Refinel^a, Yefrida^{a*}

^aDepartemen Kimia, Universitas Andalas, Padang 25156, Indonesia

*Corresponding author: yefrida@sci.unand.ac.id

Abstract

This research determines the effect of temperature, maceration time, extract storage time at room temperature and refrigerator temperature of the total antioxidant content in miana leaves (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br), papaya leaves (*Carica papaya*), rambutan leaves (*Nephelium lappaceum*), bay leaves (*Eugenia polyantha*) and green betel leaves (*Piper betel* L). The determination of total antioxidant content was carried out by modified phenanthroline method. Based on the research data. It was found that the optimum conditions for total antioxidant content in the samples above were at 100°C with 60 minutes of maceration time and without storage time of the extracted samples before being analyzed. The total antioxidant content of miana leaves, papaya leaves, rambutan leaves, bay leaves, and green betel leaves analyzed in the optimum conditions are 3.0865; 1.1554; 0.4641; 0.6764; and 3.3630 mmol Fe/g DW, respectively.

Keywords

herbal plants
modified phenanthroline
temperature
time
total antioxidants

Received: November 2023

Revised: November 2023

Accepted: November 2023

Available online: November 2023

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayatinya. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia terdiri atas 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan yang ada di dunia, dimana 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat sebagai obat (jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di kawasan asia)[1]. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan yang rata-rata tinggi setiap tahun. Menurut WHO obat-obatan herbal melayani kebutuhan kesehatan sekitar 80% dari populasi dunia, terutama bagi jutaan orang di daerah pedesaan yang tinggal di negara berkembang[2]. Indonesia sebagai negara berkembang sebagian besar penduduknya masih menggunakan obat tradisional untuk keperluan di bidang kesehatan, hal ini diduga karena tanaman herbal memiliki efek samping yang sedikit dan dapat diterima oleh tubuh dengan baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman herbal mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid dan fenolik yang lebih efektif dan lebih aman dari pada antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik terbukti memiliki efek toksik yang lebih berbahaya dari pada antioksidan alami[3]. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan tanaman herbal yang biasa dikonsumsi sebagai obat tradisional oleh masyarakat

diantaranya: Daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br), daun pepaya (*Carica papaya*), daun rambutan (*Nephelium lappaceum*), daun salam (*Eugenia polyantha*), dan daun sirih hijau (*Piper betel* L). Tanaman ini dipilih karena mudahnya ditemukan dan tingginya penggunaannya oleh masyarakat dalam pengobatan, terutama pada bagian daunnya dengan cara meminum air rebusannya. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan herbal terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas, karena adanya antioksidan dalam tumbuhan tersebut. Secara alami tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti daun, batang, akar, ranting, buah bunga dan biji. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menentukan kandungan antioksidan dalam tanaman obat[4], bayam, kangkung, katuk, mangkoka[5], dan berbagai bahan alam lainnya. Oleh karena itu penelitian mengenai antioksidan, terutama pada tanaman herbal telah menjadi perhatian khusus oleh para peneliti.

Tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenolik yang berguna sebagai penangkap radikal bebas, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Menurut

Mrmosanin (2015) beberapa senyawa golongan dari flavonoid bersifat sensitif pada suhu panas dan hal ini berakibat kepada terjadinya degradasi kimia, fisik dan mikrobiologi. Degradasi kimiawi seperti hidrolisis atau oksidasi dapat terjadi seiring dengan meningkatnya temperatur selama proses pemanasan ataupun selama waktu penyimpanan[6]. Selain suhu dan waktu penyimpanan waktu maserasi juga berpengaruh terhadap kandungan antioksidan tersebut[7].

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini akan dilihat bagaimana pengaruh suhu, waktu maserasi dan waktu penyimpanan ekstrak terhadap kandungan antioksidan total dari daun miana, daun pepaya, daun rambutan, daun salam dan daun sirih hijau. Penentuan kandungan antioksidan total terhadap tanaman herbal ini dilakukan dengan metode fenantrolin modifikasi. Metode fenantrolin menggunakan FeCl_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 1,10 orto-fenantrolin yang dilarutkan dalam metanol, sedangkan fenantrolin modifikasi menggunakan air sebagai pelarut, sehingga dapat membantu mengurangi limbah metanol dan biaya analisis[8]. Metode ini didasarkan pada reduksi Fe (III) menjadi Fe (II) oleh antioksidan. Ion Fe (III) yang tereduksi menjadi ion Fe (II) akan membentuk kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ yang berwarna merah jingga dari kompleks yang stabil pada pH 2-9. Kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis[9]. Pada penelitian ini akan ditentukan persen kadar air, pengaruh suhu, waktu maserasi, dan waktu penyimpanan ekstrak pada suhu ruang dan suhu *refrigerator* terhadap tanaman herbal yang digunakan.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan kimia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun miana, daun pepaya, daun rambutan, daun salam, daun sirih hijau, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 1,10-fenantrolin (Merck), dan akuades.

2.2 Peralatan

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah spektrofotometer UV/VIS (PD-303S), neraca analitik (Mettler AE 200), kertas saring, cawan porselen, desikator, oven, *hotplate*, termometer dan peralatan gelas laboratorium.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Penentuan Kadar Air

Sebanyak 3 buah cawan porselen dioven selama ± 30 menit pada suhu 105°C kemudian diletakkan dalam desikator ± 15 menit dan ditimbang. Sampel basah ditimbang masing-masingnya sebanyak ± 5 gram, dimasukkan kedalam masing-masing cawan. Cawan porselen dan sampel di oven selama ± 3 jam pada suhu 105°C , setelah itu dimasukkan kedalam desikator ± 15 menit, sampai didapatkan berat konstan. Dihitung kadar airnya. Menggunakan rumus:

$$\text{Persen kadar air} = \frac{\text{berat air sampel}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4 Ekstraksi Sampel dengan Metode Maserasi

2.4.1 Variasi Suhu

Akuades dipanaskan diatas *hotplate* sampai mencapai suhu masing-masingnya 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100°C , kemudian sampel segar dipotong-potong, dihomogenkan, dan ditimbang sebanyak ± 1 gram, dimasukkan kedalam masing-masing gelas piala. Kemudian ditambahkan 50 mL akuades yang telah dipanaskan dengan masing-masing suhu 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100°C setelah itu didiamkan 15 menit, ekstrak disaring dengan kertas saring dan disimpan dalam botol gelap, ditentukan kandungan antioksidan total masing-masing ekstrak.

2.4.2 Variasi Waktu Maserasi

Pengerjaanya sama seperti cara kerja poin 2.4.1 dimana menggunakan suhu optimum yang didapatkan dengan variasi waktu maserasi 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit, kemudian ditentukan kandungan antioksidan total masing-masing ekstrak.

2.4.3 Variasi Waktu Penyimpanan pada Suhu Ruang

Pengerjaannya sama seperti cara kerja poin 2.4.1 dimana menggunakan suhu dan waktu maserasi optimum dengan variasi waktu penyimpanan ekstrak pada suhu ruang yaitu: 0 (tanpa penyimpanan), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, dan 240 menit, kemudian ditentukan kandungan antioksidan total masing-masing ekstrak.

2.4.4 Variasi Waktu Penyimpanan Pada Suhu Refrigerator

Pengerjaannya sama seperti cara kerja poin 2.4.1 dimana menggunakan suhu dan waktu maserasi optimum dengan variasi waktu penyimpanan ekstrak pada suhu *refrigerator* yaitu: 0 (tanpa penyimpanan), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, dan 240 menit, kemudian ditentukan kandungan antioksidan total masing-masing ekstrak.

2.5 Penentuan Kandungan Antioksidan Total

2.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Besi (II)

Deret larutan standar Fe (II) dengan konsentrasi 0,05 ; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mmol/L, masing-masing diambil sebanyak 1 mL. Kemudian ditambahkan akuades 2 mL dan 1mL larutan 1,10 ortho-fenantrolin 0,5%. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar dan diukur serapannya pada panjang gelombang 510 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplotkan konsentrasi dengan absorban.

2.5.2 Penentuan Kandungan Antioksidan dengan Metode Fenantrolin Modifikasi

Dipipet masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL, diencerkan dalam labu ukur 10 mL. Akuades dipipet 2 mL dimasukkan dalam botol vial, ditambah 1mL ekstrak yang telah diencerkan, ditambah 1 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,2% dan 1 mL orto-fenantrolin 0,5%, larutan diinkubasi selama 20 menit, diukur absorban pada panjang gelombang 510 nm. Untuk blanko ditambahkan 3 mL akuades dimasukkan dalam botol vial, ditambah 1 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,2% dan 1 mL orto-fenantrolin 0,5%[8].

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Kadar Air Sampel

Penentuan kadar air dalam sampel bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam sampel basah. Nilai persen kadar air ini digunakan untuk menentukan berat kering sampel, sehingga kandungan antioksidan total dalam sampel dapat dinyatakan dalam berat kering. Nilai berat kering ini digunakan untuk perhitungan antioksidan total. Perhitungan persentase kadar air dilakukan pada sampel basah masing-masingnya sebanyak ± 5 gram yang dilakukan dengan 3 kali ulangan. Data masing-masing sampel disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Kadar Air Sampel

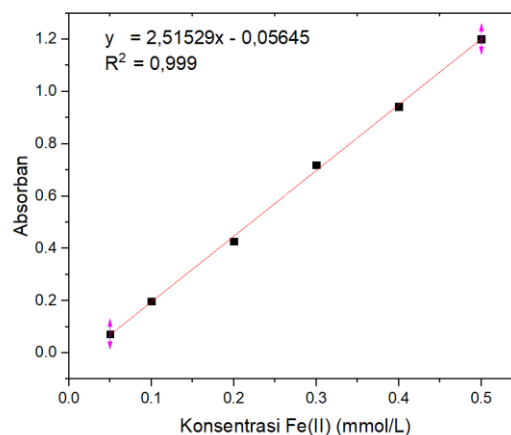
Sampel	Kadar air (%)
Daun rambutan	50
Daun salam	57
Daun papaya	74
Daun sirih hijau	83
Daun miana	90

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa daun miana memiliki kadar air tertinggi dan kadar air terendah terdapat dalam sampel daun rambutan.

3.2 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Fe (II)

Kurva kalibrasi larutan standar Fe (II) digunakan untuk menentukan konsentrasi dari masing-masing sampel.

Pada penelitian ini, kurva kalibrasi dibuat dengan variasi konsentrasi standar sebesar 0,05; 0,1 ; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mM dengan memplotkan berbagai konsentrasi larutan standar Fe (II) dengan nilai absorban sehingga didapatkan kurva kalibrasi. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi yang berfungsi sebagai acuan dari kandungan antioksidan total sampel, seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar Fe (II)

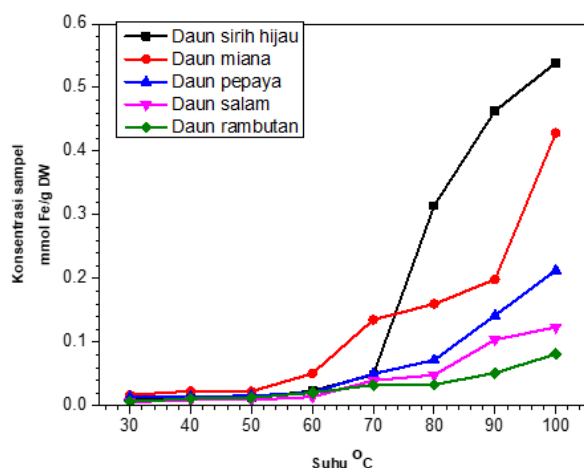
Dari kurva kalibrasi larutan standar terlihat bahwa nilai koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh bernilai positif dan mendekati satu yaitu sebesar 0,999 yang artinya 99,90% nilai absorban ditentukan oleh konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sebanding dengan peningkatan absorban, dimana semakin besar konsentrasi standar maka nilai absorban yang diperoleh juga semakin besar[9].

3.3 Kandungan Antioksidan Total Sampel

3.3.1 Variasi Suhu

Penentuan kandungan antioksidan total berdasarkan variasi suhu dilakukan dengan menggunakan metode fenantrolin modifikasi. Kandungan antioksidan total dalam masing-masing sampel yang diberikan perlakuan variasi suhu 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100°C disajikan pada Gambar 2.

Dari gambar dapat dilihat bahwa suhu sangat berpengaruh terhadap kandungan antioksidan total dalam sampel, suhu optimum untuk semua sampel dengan pelarut akuades adalah 100 °C. Dimana terlihat bahwa pada saat suhu 100 °C kandungan antioksidan total masih meningkat sedangkan pelarut yang digunakan sudah mendidih, dan apabila ada pelarut yang memiliki titik didih lebih tinggi dari akuades dan aman dikonsumsi serta bersifat polar dimungkinkan senyawa antioksidan total akan mengalami kenaikan tetapi akan mengalami penurunan pada suhu tertentu.

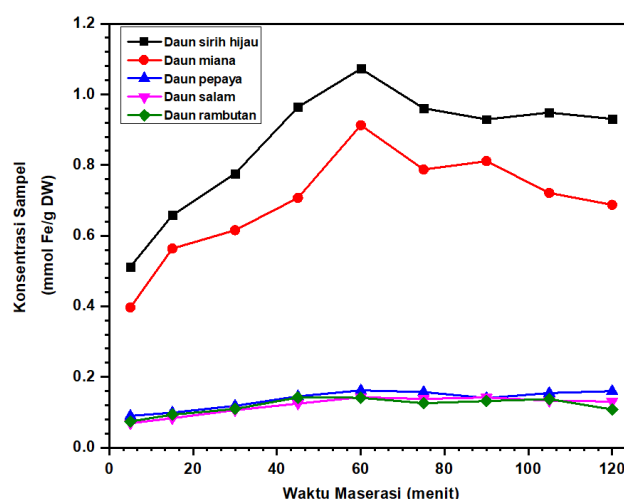


Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap kandungan antioksidan total sampel

Hal ini disebabkan karena semakin tinggi suhu maka semakin banyak senyawa antioksidan yang terlarut dalam pelarut yang digunakan, karena suhu yang panas dapat merusak dinding sel dari tumbuhan sehingga senyawa antioksidan akan terlarut dalam pelarut dan proses ekstraksi akan berjalan lebih cepat. Hal ini mendukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim, dkk., 2015 yang menyatakan bahwa suhu ekstraksi 95 °C dengan lama waktu ekstraksi 25 menit menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi. Hal ini disebabkan karena kelarutan senyawa antioksidan dalam pelarut akan semakin besar dengan meningkatnya suhu, difusi yang terjadi juga semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan berjalan lebih cepat dari pada tanpa pemanasan[10]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sitorus, dkk., 2013 menyatakan, tingginya total antioksidan pada suhu tinggi disebabkan oleh proses pemanasan yang membuat dinding sel tanaman menjadi rusak sehingga senyawa-senyawa dalam sel termasuk senyawa antioksidan dapat keluar sel dan larut dalam pelarut air. Selain itu, pemanasan juga diduga menyebabkan pemutusan ikatan kimia dari makromolekul menghasilkan molekul-molekul yang relatif lebih kecil berat molekulnya. Molekul-molekul kecil tersebut termasuk senyawa antioksidan yang relatif lebih mudah larut dalam air dari pada makromolekulnya[11].

3.3.2 Variasi Waktu Maserasi

Kandungan antioksidan total dalam masing-masing sampel yang diberikan perlakuan suhu 100 °C karena merupakan suhu optimum dan variasi waktu maserasi 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit disajikan pada Gambar 3.

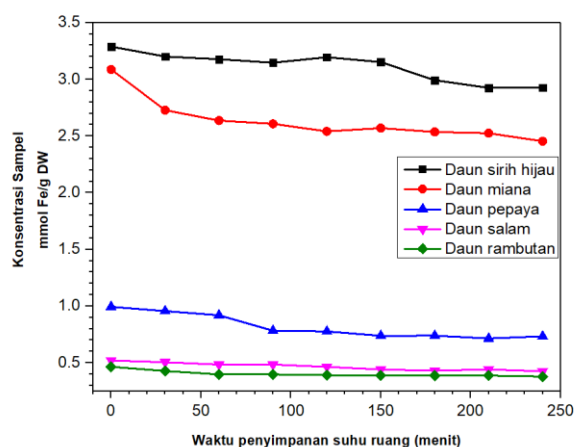


Gambar 3. Pengaruh waktu maserasi terhadap kandungan antioksidan total sampel

Dari gambar dapat dilihat bahwa waktu maserasi optimum didapat pada waktu maserasi 60 menit, hal ini disebabkan karena waktu maserasi yang terlalu lama dapat menyebabkan senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel akan rusak dan mudah teroksidasi karena salah satu sifat dari senyawa antioksidan adalah mudah teroksidasi, sebaliknya waktu ekstraksi yang terlalu cepat menyebabkan tidak semua senyawa aktif akan terekstrak sempurna dari tanaman yang digunakan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Imran, dkk., 2016 tentang pengaruh pelarut terhadap indeks antioksidan ekstrak teh dan teh susu dengan interval waktu yaitu 30, 60, dan 90 menit diperoleh interval yang bagus pada saat 60 menit[12]. Hasil yang sama juga didapatkan oleh Lapornik, dkk., 2005 dengan variasi waktu maserasi yaitu 1, 12, dan 24 jam dan pelarut yang digunakan air, etanol 70%, dan metanol 70 % menyimpulkan bahwa untuk pelarut metanol dan etanol semakin lama waktu maserasi kandungan polifenol semakin besar, sedangkan dengan pelarut air semakin lama waktu maserasi kandungan ekstrak semakin menurun seiring dengan lamanya waktu ekstraksi[7].

3.3.3 Variasi Waktu Penyimpanan Ekstrak Pada Suhu Ruang (29±2 °C)

Kandungan antioksidan total dalam masing-masing sampel yang diberikan perlakuan suhu 100 °C dan waktu maserasi 60 menit karena merupakan kondisi optimum, disimpan ekstraknya pada variasi 0 (tanpa penyimpanan), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, dan 240 menit yang disimpan dalam suhu ruang disajikan pada gambar 4.



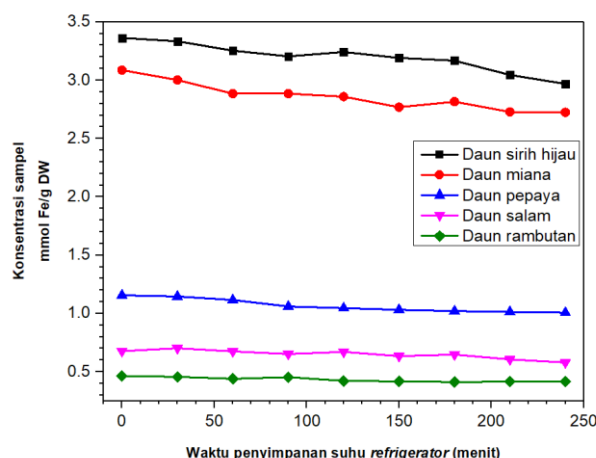
Gambar 4. Pengaruh waktu penyimpanan pada suhu ruang terhadap kandungan antioksidan total sampel

Dari Gambar 4 dapat dilihat bahwa penyimpanan ekstrak semakin lama akan menyebabkan kandungan antioksidan total yang terdapat dalam ekstrak akan berkurang, karena semakin lama ekstrak disimpan kemungkinan untuk terkontaminasi akan semakin besar sehingga semakin lama ekstrak disimpan akan semakin menurun aktivitas antioksidannya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kusuma, dkk., 2017 tentang pengaruh lama dan suhu penyimpanan ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* didapatkan informasi bahwa rata-rata zona hambat pada suhu ruang dan suhu refrigerator menunjukkan bahwa pada hari ketiga ekstrak sudah mengalami penurunan dalam menghambat bakteri *Streptococcus agalactiae*. Penyebab penurunan ini diduga ekstrak daun sirih hijau mengalami penurunan kualitas yang disebabkan oleh kerusakan dan berkurangnya senyawa antibakteri serta terkontaminasi oleh mikroba seperti tumbuhnya khamir, dan kapang[13].

3.3.4 Kandungan Antioksidan Total Sampel dengan Variasi Waktu Penyimpanan Ekstrak Pada Suhu Refrigerator ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)

Kandungan antioksidan total dalam masing-masing sampel yang diberikan perlakuan suhu 100°C dan waktu maserasi 60 menit karena merupakan kondisi optimum, disimpan ekstraknya pada variasi 0 (tanpa penyimpanan), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, dan 240 menit dalam refrigerator disajikan pada Gambar 5. Dari Gambar 5 terlihat bahwa penyimpanan ekstrak dalam refrigerator juga mengalami penurunan seiring dengan lamanya penyimpanan, namun penurunannya tidak terlalu signifikan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati. 2017 yang menyatakan

bahwa ekstrak yang disimpan pada suhu rendah mampu meredam aktivitas radikal bebas dengan lebih baik dibandingkan dengan ekstrak yang disimpan pada suhu yang lebih tinggi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lamanya waktu penyimpanan dan suhu penyimpanan yang tinggi dapat mempercepat terjadinya degradasi senyawa-senyawa yang terkandung didalam ekstrak sehingga hal ini berdampak terhadap penurunan kandungan antioksidan.



Gambar 5. Pengaruh waktu penyimpanan pada suhu refrigerator terhadap kandungan antioksidan total sampel

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh suhu, waktu maserasi, dan waktu penyimpanan pada suhu ruang dan suhu refrigerator terhadap kandungan antioksidan total dari daun miana, daun pepaya, daun rambutan, daun salam, dan daun sirih hijau dengan menggunakan metode fenantrolin modifikasi. Data hasil penelitian didapatkan kondisi optimum terhadap kandungan antioksidan total pada semua sampel yaitu pada suhu 100°C , waktu maserasi 60 menit tanpa waktu penyimpanan ekstrak. Suhu 100°C menyebabkan senyawa antioksidan yang terdapat pada tanaman akan terekstrak lebih banyak dari pada suhu dibawah 100°C . Waktu ekstraksi yang terlalu cepat menyebabkan tidak semua senyawa aktif akan terekstrak sempurna dari tanaman yang digunakan, begitupun jika waktu ekstraksi yang terlalu lama menyebabkan senyawa dalam ekstrak akan terhidrolisis. Semakin lama waktu penyimpanan kandungan antioksidan akan berkurang baik disimpan pada suhu ruang maupun suhu refrigerator. Kandungan antioksidan total pada kondisi optimum dari daun rambutan, daun salam, daun pepaya, daun sirih hijau dan daun miana berturut-turut adalah 0,046; 0,067; 0,115; 0,336 dan 0,343 mmol Fe/g DW.

Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu baik materil maupun materil dari awal penelitian hingga artikel ini ditulis.

Kontribusi Penulis

Konseptualisasi: Y.

Kurasi data: Y., E.A.

Investigasi: E.A.

Metodologi: Y.

Visualisasi: E.A.

Penulisan – draft asli: Y., R., E.A.

Menulis – mengulas & menyunting: Y., R., E.A.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan pada penerbitan artikel ini.

Referensi

- [1] I.A. Nugroho, Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia, Apforgen News Letter Edisi 2, 2010.
- [2] W.H. Organization, General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine WHO, Geneva, Swithzerland Vol. 1, 2001.
- [3] S.J.G. and R.P. M, Invitro Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoid of Wild Edible Mushroom *Macrolepiota mastoidea* (fr.) Singer, . Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 5 (2013) 161–166.
- [4] H.B. Li, C.C. Wong, K. Cheng, F. Chen, Antioxidant Properties in vitro and Total Phenolic Contents in Methanol Extract from Medicinal Plants, 385-390. 41 (2008).
- [5] Yefrida, F. Ilahi, Refilda, Perbandingan Metode DPPH dan Fenantrolin Pada Penentuan Antioksidan Total Dalam Sampel Bayam (*Amaranthus Hybridus* L.), Kangkung (*Ipomoea Reptans*), Katuk (*Sauropus Adrogynus* (L)), dan Mangkokan (*Poliscias Scutellaria*) Secara Spektrofotometri, J. Kim. Unand. 5 (2016).
- [6] J.M. Mrmosanin, A.N. Pavlovic, J.. Veljkovic, The Effect of Storage Temperature and Thermal Processing on Cathecins, Procyanidins and Total Flavonoid Stability in Commercially Available Cocoa Powder, Physics, Chem. Technol. 13 (2015) 39–49.
- [7] B. Lapornik, M. Prosek, A.G. Wondra, Comparison of Extracts Prepared from Plant By-Products Using Different Solvents and Extraction Time, J. Food Eng. 7 (2005) 214–222.
- [8] Yefrida, H. Suyani, A. Alif, M. Efdi, H. Aziz, Modification of Phenanthroline Method to determine Antioxidant Content in Tropical Fruits Methanolic Extract, Res. J. Chem. Environ. 22 (2018).
- [9] Yefrida, M. U, U. L, Validasi Metoda Penentuan Antioksidan Total Dalam Sampel Jeruk Secara Spektrofotometri dengan Menggunkan Oksidator FeCl₃ dan Pengompleks Orto Fenantrolin, J. Ris. Kim. 7 (2014) 77–81.
- [10] M. Ibrahim, A., Yunianta., F.H. Sriherfyna, Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah, J. Pangan Dan Agroindustri. 3 (2015) 530–541.
- [11] E. Sitorus, L.I. Momuat., D.G. Katja, Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth), J. Ilm. Sains. 13 (2013).
- [12] A. Imran, M.S. Butt., F. Saeed., M.S. Arshad., T. Sultan., M. Sohaib, Effect of Different Time Solvent Interactions on Polyphenol Content of Milky Tea, 2016.
- [13] M.S. Kusuma, T.E. Susilorini., P. Surjowardojo, Pengaruh Lama dan Suhu Penyimpanan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn) dengan Aquades terhadap Daya Hambat Bakteri *Streptococcus Agalactiae* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah, J. Trop. Anim. Prod. 18 (2017) 9–16.