



JURNAL RONA TEKNIK PERTANIAN
ISSN : 2085-2614; e-ISSN 2528 2654
JOURNAL HOMEPAGE : <http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/RTP>



Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*

Shinta R. Dewi^{*1)}, Nailly Ulya²⁾, Bambang D. Argo¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Bioproses, Jurusan Keteknikan Pertanian,
Fakultas Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya, Indonesia

²⁾Alumni Mahasiswa S1 Jurusan Keteknikan Pertanian,
Fakultas Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya, Indonesia

*E-mail: shinta.rd17@yahoo.com

Abstrak

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak diisolasi dari tanaman karena manfaatnya sebagai antioksidan, anti mikroba, dan antikanker. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh. Oleh karena itu, kandungan total flavonoid (TFC) dan aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak jamur *Pleurotus ostreatus* penting untuk diteliti. Flavonoid diekstrak menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) dengan variasi waktu ekstraksi (2, 3, dan 4 menit) dan variasi rasio antara jamur dan pelarut (1:30, 1:35, dan 1:40). Kandungan flavonoid dianalisis dengan metode kolorimetri menggunakan aluminium klorida, sedangkan aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi TFC dan aktivitas antioksidan. Kandungan flavonoid tertinggi diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 4 menit dan rasio jamur:pelarut 1:30, yaitu sebesar 1,53 mg QE/ g dw dengan nilai IC₅₀ sebesar 14,66 mg/ml.

Kata kunci : Ekstraksi, *Pleurotus ostreatus*, flavonoid, MAE, aktivitas antioksidan

Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Pleurotus ostreatus* Extract

Shinta Rosalia Dewi^{*1)}, Nailly Ulya²⁾, Bambang Dwi Argo¹⁾

¹⁾Study Program of Bioprocess Technology, Department of Agricultural Engineering,
Faculty of Agricultural Technology-University of Brawijaya, Indonesia

²⁾Graduate of Bachelor Degree of Department of Agricultural Engineering,
Faculty of Agricultural Technology-University of Brawijaya, Indonesia

*E-mail: shinta.rd17@yahoo.com

Abstract

Flavonoids-phenolic substances- are isolated from plant due to their benefits as an antioxidant, an antimicrobial, and an anticancer. As an antioxidant, flavonoids can scavenge free radicals that damage body cells. In this study, the total flavonoid content (TFC) and its antioxidant activity (IC₅₀) of *Pleurotus ostreatus* -an oyster mushroom-extract were investigated. The flavonoid was extracted by using Microwave-assisted Extraction (MAE) at different of extraction time (2, 3, and 4 minutes) and ratio of *P.ostreatus* and solvent (1:30, 1:35 and 1:40). The flavonoid contents were determined by aluminium chloride colorimetric method whereas the antioxidant activity was determined by DPPH method. The results revealed that the higher extraction time, the higher TFC and antioxidant activity, where the highest TFC was obtained at 4 minutes extraction with ratio of *P.ostreatus* and solvent of 1:30. The highest TFC of *P.ostreatus* extract was 1.53 mg QE/ g dw with antioxidant activity (IC₅₀) of 14.66 mg/ml.

Keywords : Extraction, *Pleurotus ostreatus*, flavonoid, MAE, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Pleurotus ostreatus (*P. ostreatus*) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat seperti antikanker, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan. *P. ostreatus* berpotensi sebagai antikanker saat diujikan pada sel MCF-7 (Fazira dkk., 2016). Adanya potensi antikanker dan antioksidan tersebut disebabkan salah satunya karena adanya kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang mempunyai sifat antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Sayuti dan Yenrina, 2015) dan tidak merusak sel tubuh. *P. ostreatus* mempunyai potensi yang baik sebagai antioksidan karena mempunyai kandungan flavonoid. Flavonoid yang terdapat pada jamur tiram putih (*P. ostreatus*) adalah golongan flavanon, flavonol, dan flavanol (Gasecka, *et. al.*, 2016; González-Palma, *et. al.*, 2016). Menurut Gasecka *et. al.* (2016), kandungan flavonoid dalam jamur tiram putih sebesar 0,021 mg Rutin Equivalent/g dw. Sementara, Arbaayah dan Kalsom (2013) melakukan penelitian ekstraksi flavonoid jamur tiram putih menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi-pengadukan, dan diperoleh hasil bahwa kandungan total flavonoid dalam *P. ostreatus* sebanyak 3,39 mg QE/g dw. González-Palma *et. al.* (2016) juga melaporkan bahwa kandungan flavonoid dalam *P. ostreatus* yang diekstraksi dengan metode maserasi dan sokletasi masing-masing sebesar 0,069 dan 0,131 mg QE/g dw.

Beberapa metode ekstraksi dapat dilakukan untuk mengisolasi flavonoid dari tanaman, seperti maserasi, refluks, sokletasi, dan sonikasi. Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling mudah, murah dan cukup efektif serta mencegah kerusakan ekstrak yang biasanya dapat terjadi pada ekstraksi dengan metode panas. Namun, maserasi mempunyai kelemahan, yaitu waktu ekstraksi yang cukup lama dan kebutuhan pelarut yang cukup tinggi. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstraksi flavonoid dari *P.ostreatus* dilakukan dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE), yaitu modifikasi dari metode maserasi dengan adanya pemanasan gelombang mikro guna mempersingkat waktu ekstraksi, menurunkan kebutuhan pelarut, dan meningkatkan efektivitas proses ekstraksi. Gelombang mikro memanaskan dan menguapkan air sel bahan sehingga sel mengalami *swelling*, meregang dan pecah (Calinesu *et. al.*, 2001). Akibatnya, analit sampel mudah untuk keluar dan terekstrak oleh pelarut. Menurut Desai dan Parikh (2015), MAE merupakan proses

ekstraksi dengan pemanasan singkat menggunakan pelarut dalam jumlah yang lebih sedikit, sehingga lebih efisien, rendah energi dan ramah lingkungan. Selain itu, MAE merupakan metode ekstraksi yang lebih efektif dibandingkan maserasi karena menghasilkan rendemen senyawa yang lebih tinggi (Rafiee *et. al.*, 2011). Pada penelitian ini, dipelajari ekstraksi flavonoid dari *P. ostreatus* dengan metode MAE dan analisis *total flavonoid content* (TFC) serta uji aktivitas antioksidannya. Analisis TFC dilakukan dengan metode kolorimetri aluminium klorida, sedangkan pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah microwave (Samsung tipe MG23H3185), *rotary evaporator* (Heidolph), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10), blender, rak pengering, neraca digital, stirrer, vortex, ayakan 60 mesh, oven, sentrifuge, mikropipet dan peralatan gelas. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) segar berumur 7 minggu, kuersetin, NaNO₂, AlCl₃, NaOH, akuades, metanol, dan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi flavonoid *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*)

P. ostreatus dikeringkan menggunakan rak pengering pada suhu 45°C selama 3x24 jam kemudian dikecilkan ukuran dengan blender dan diseragamkan ukurannya menjadi 60 mesh. Selanjutnya, *P. ostreatus* ditambah dengan pelarut akuades dengan variasi rasio *P. ostreatus*:pelarut sebesar 1:30, 1:35 dan 1:40 dan diekstraksi dengan metode MAE selama variasi waktu 2, 3, dan 4 menit pada daya 180 watt. Setelah proses ekstraksi selesai, suspensi hasil ekstraksi didinginkan pada suhu ruang kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55°C, kecepatan 65 rpm dan tekanan 105 mbar. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dianalisis kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya.

2. Uji Total Flavonoid Content (TFC) (Rebaya *et. al.*, 2015, dimodifikasi)

Kandungan total flavonoid (TFC) ditentukan dengan metode kolorimetri aluminium klorida. Untuk pengujian TFC, setiap sampel ekstrak diambil sebanyak 2,5 ml kemudian ditambahkan akuades hingga volumenya menjadi 3 ml. Selanjutnya ke dalam campuran ditambahkan 0,3 ml larutan NaNO₂ 20% dan didiamkan selama 6 menit lalu ditambah 0,3

ml larutan AlCl_3 10% dan didiamkan selama 6 menit. Setelah didiamkan, ke dalam campuran ditambah 4 ml larutan NaOH 1 M dan akuades hingga volumenya menjadi 10 ml lalu divortex. Selanjutnya masing-masing larutan standar diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap, dan diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 511 nm. Larutan standar yang digunakan untuk pengujian flavonoid adalah kuersetin dengan konsentrasi 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, dan 1500 mg/L. Untuk pengukuran larutan standar, masing-masing konsentrasi di-*treatment* dengan prosedur yang sama dengan pada pengukuran sampel. TFC dihitung dengan rumus pada Persamaan (1).

$$\text{Total flavonoid} = \frac{c \times V \times fp}{m} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :
c : kesetaraan kuersetin (mg/L)
V : volume sampel (L)
fp : faktor pengenceran
m : massa sampel (g)

TFC diinterpretasikan sebagai miligram *Quercetin Equivalent* per gram *dry weight* (mg QE/g dw) sampel.

3. Uji Aktivitas Antioksidan (Ivanovic *et. al.*, 2014 dimodifikasi)

Untuk pengujian aktivitas antioksidan, pertama-tama disiapkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm yaitu dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak *P. ostreatus* dalam 50 ml akuades. Selanjutnya disiapkan ekstrak flavonoid dengan 4 konsentrasi (10.000; 7500; 5000 dan 2500 ppm). Sebanyak 1 ml sampel ekstrak ditambah dengan 7 ml metanol dan 2 ml DPPH 0,2 nM. Campuran selanjutnya divortex dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Untuk larutan blanko, sebanyak 7 ml metanol direaksikan dengan 2 ml DPPH 0,2 nM dan divortex serta didiamkan selama 30 menit. Absorbansi sampel dan blanko diukur dengan dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 521 nm. Untuk menghitung IC_{50} , dibuat kurva antara konsentrasi sampel dan %kapasitas antioksidan sehingga diperoleh persamaan $y = ax + b$. Nilai %kapasitas absorbansi dihitung dengan rumus pada Persamaan (2).

$$\text{kapasitas antioksidan} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

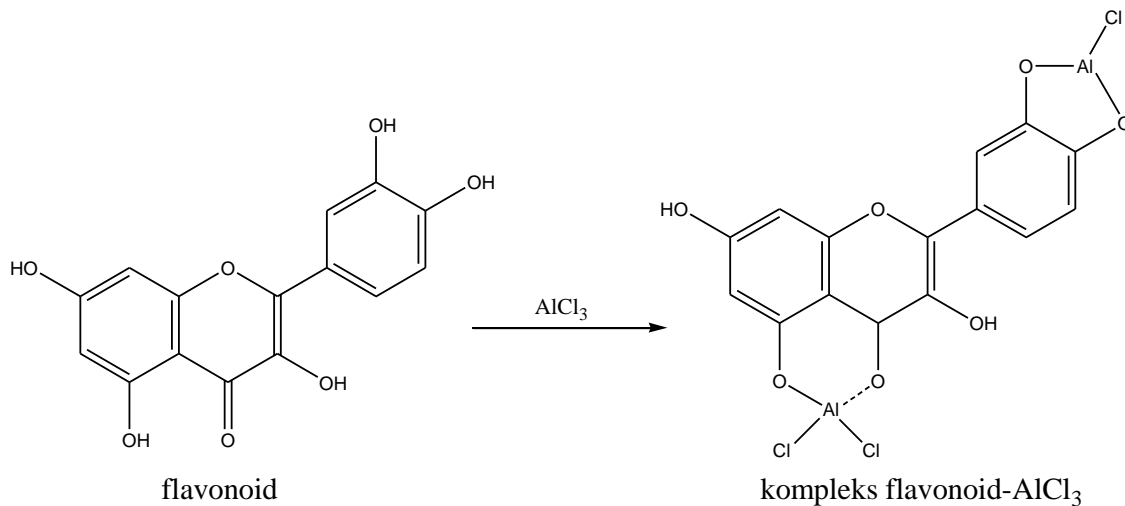
Dari persamaan $y = ax + b$, nilai IC_{50} (x) dapat dihitung dengan rumus pada Persamaan (3).

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} \dots\dots\dots (3)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Total Flavonoid Content (TFC) Ekstrak *P. ostreatus*

Flavonoid dari *P. ostreatus* diekstrak dengan metode MAE dengan variasi waktu (2, 3, dan 4 menit) serta variasi rasio bahan dan pelarut (1:30, 1:35, dan 1:40). Kadar flavonoid dalam ekstrak diukur secara kuantitatif dengan metode alumunium klorida dengan menggunakan larutan standar kuersetin, sehingga hasilnya dihitung sebagai miligram QE (*Quercetin Equivalent*) per gram dw (*dry weight*) sampel *P. ostreatus*. Kuersetin digunakan sebagai standar karena kuersetin merupakan flavonoid yang mempunyai reaktivitas tinggi dibandingkan rutin, daflon, diosmin dan morin (Mir *et. al.*, 2014). Pada saat pengujian TFC, flavonoid akan bereaksi dengan $AlCl_3$ dan terbentuk kompleks berwarna kuning. Reaksi antara flavonoid dan $AlCl_3$ ditampilkan pada Gambar 1.

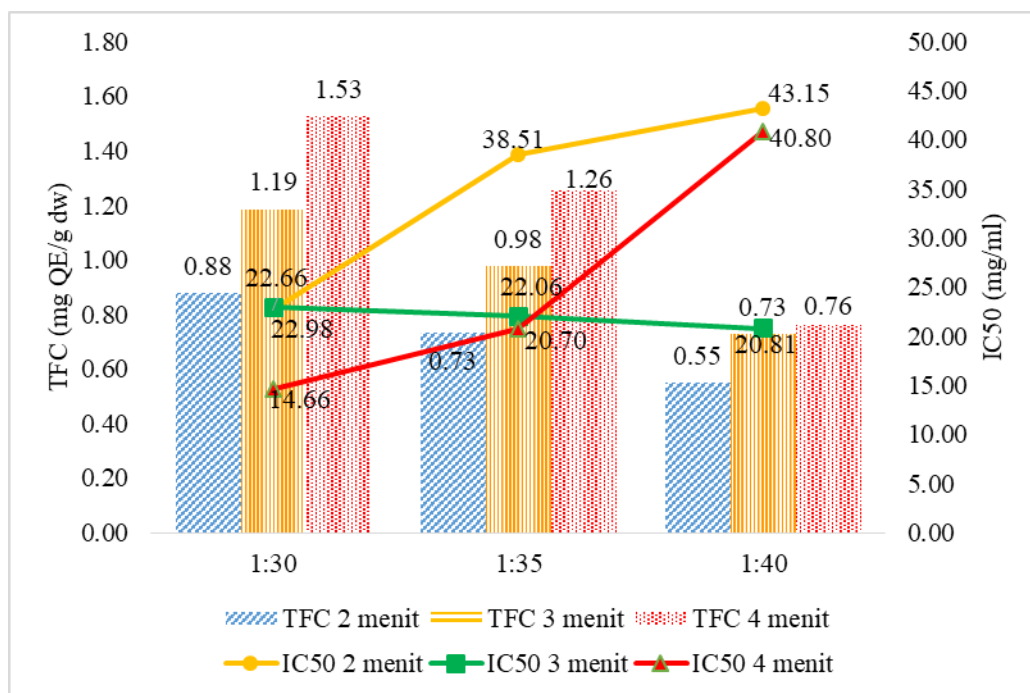


Gambar 1. Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dan $AlCl_3$

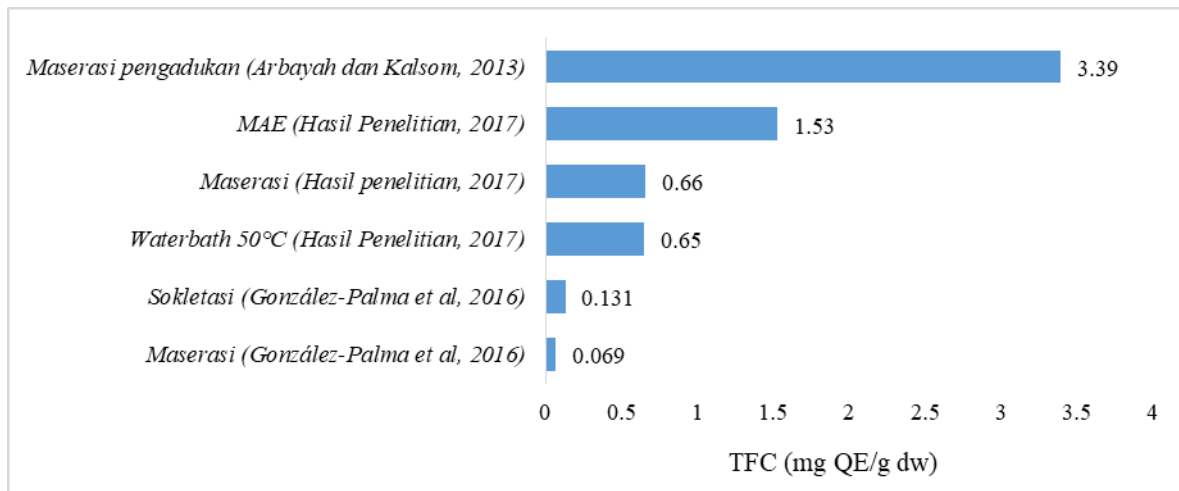
Ekstrak flavonoid *P. ostreatus* yang diperoleh berwarna coklat dan pekat. Hasil pengujian TFC pada ekstrak *P. ostreatus* (Gambar 2) menunjukkan bahwa kandungan flavonoidnya berkisar antara 0,55 – 1,53 mg QE/g dw. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi, kandungan flavonoid dalam ekstrak *P. ostreatus* semakin tinggi. Pelarut akan menembus dinding sel tanaman dan masuk ke rongga sel yang mengandung flavonoid, sehingga flavonoid akan larut dalam pelarut air dan akan ditarik keluar bersama dengan pelarut. Semakin lama waktu ekstraksi, semakin lama paparan

gelombang mikro pada sampel, sehingga interaksi flavonoid dengan pelarut akan semakin efektif. Akibatnya kandungan flavonoid yang terambil akan semakin banyak.

Sementara, jika ditinjau dari variasi rasio bahan dan pelarut, diketahui bahwa semakin banyak pelarut yang digunakan, kandungan flavonoid yang terekstrak semakin rendah. Hal ini disebabkan karena volume pelarut yang berlebih dapat menyebabkan *thermal stress* pada ekstraksi, di mana gelombang mikro yang dipaparkan akan terkonsentrasi pada pelarut. Akibatnya, efektivitas gelombang mikro dalam memecah sel dan mengeluarkan flavonoid dari dalam bahan menjadi semakin berkurang sehingga total flavonoid yang terekstrak semakin sedikit.



Gambar 2. Total flavonoid content (TFC) dan aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak *P. ostreatus* hasil penelitian

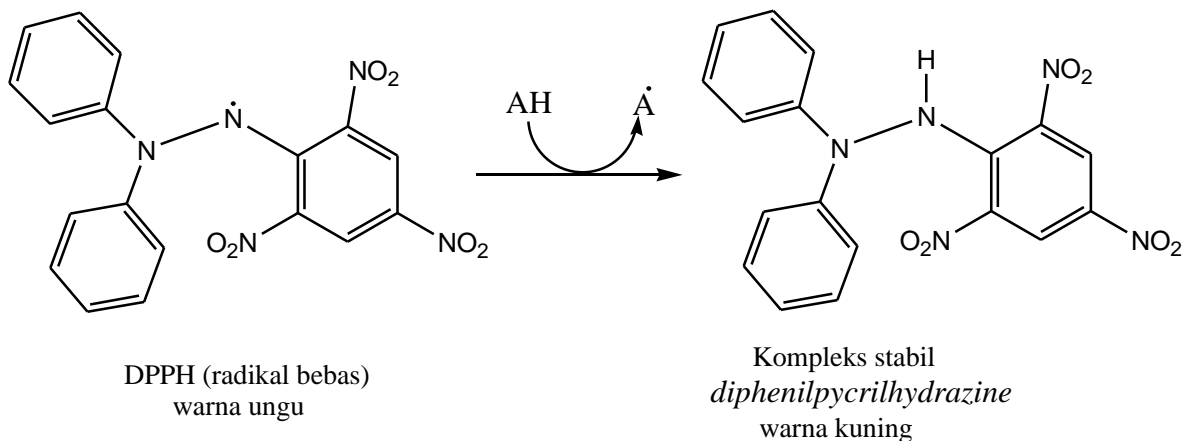


Gambar 3. Perbandingan TFC beberapa penelitian

Kandungan total flavonoid tertinggi didapatkan pada rasio 1:30 dengan waktu ekstraksi 4 menit, yaitu sebesar 1,53 mg QE/g dw. Apabila dibandingkan dengan kontrol (maserasi atau pemanasan waterbath) seperti yang disajikan pada Gambar 3, nilai TFC ekstrak yang diperoleh dengan MAE lebih tinggi lebih dari dua kali lipat dibandingkan TFC pada maserasi (waktu ekstraksi 4 menit) maupun pemanasan waterbath (suhu 50°C, 4 menit). Nilai TFC hasil penelitian juga lebih tinggi dibandingkan TFC yang dilaporkan oleh González-Palma *et. al.* (2016), di mana ekstraksi flavonoid dilakukan menggunakan metode maserasi (pelarut akuades, waktu 5 menit) dan sokletasi (pelarut akuades, 5 menit). Akan tetapi, jika dibandingkan dengan hasil penelitian Arbayah dan Kalsom (2013), nilai TFC hasil penelitian lebih rendah. Hal ini karena Arbayah dan Kalsom (2013) melakukan ekstraksi dengan metode maserasi ditambah pengadukan menggunakan pelarut etanol selama 24 jam, sehingga flavonoid yang terambil lebih banyak. Senyawa flavonoid mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda, namun pada umumnya flavonoid bersifat semipolar sehingga akan lebih efektif jika diekstrak dengan pelarut semipolar, seperti etanol dan metanol. Menurut Andersen dan Markham (2006), flavonoid akan lebih efektif jika diekstrak dengan alkohol atau campuran alkohol dan akuades. Sementara, pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah pelarut polar yaitu akuades, sehingga dimungkinkan tidak semua senyawa flavonoid terekstrak oleh akuades. Pemilihan pelarut akuades dikarenakan akuades merupakan *green solvent* yang lebih ramah lingkungan dan tidak berbahaya jika nantinya hasil penelitian akan diaplikasikan dalam bidang kesehatan.

2. Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Ekstrak *P. ostreatus*

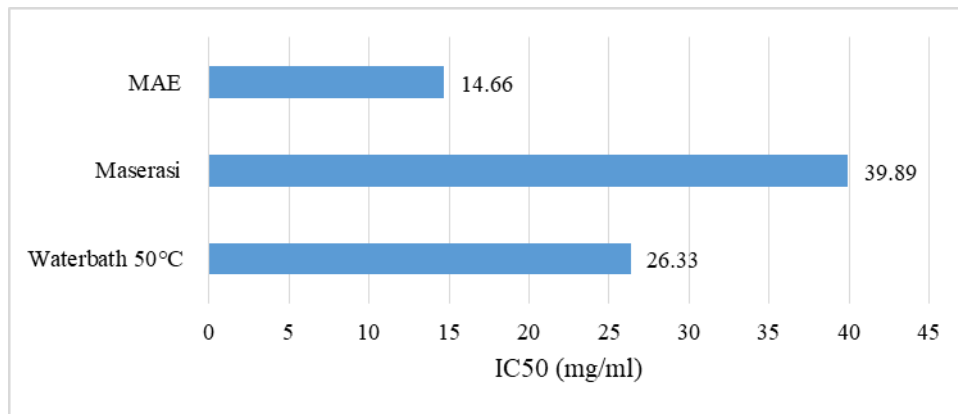
Ekstrak *P. ostreatus* mempunyai kandungan flavonoid yang berpotensi dimanfaatkan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak flavonoid *P. ostreatus* dinyatakan sebagai *Inhibitor Concentration 50* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi aktivitas radikal bebas sebesar 50%, di mana semakin kecil nilai IC₅₀, maka aktivitas antioksidannya akan semakin tinggi. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yaitu dengan memanfaatkan senyawa radikal bebas DPPH dalam pelarut polar seperti metanol untuk menguji senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas (Sadeli, 2016). Penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan akan menyebabkan terjadinya reduksi senyawa DPPH sehingga menyebabkan warna ungu memudar dan terbentuk kompleks *diphenilpicrylhydrazine* warna kuning (Izza, *et. al.*, 2016) yang bersifat non-radikal. Reaksi antara DPPH dan antioksidan (AH) dapat dilihat pada Gambar 4, sedangkan hasil pengujian aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak *P. ostreatus* hasil penelitian ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 4. Reaksi antara antioksidan dengan radikal bebas (DPPH)

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ ekstrak *P. ostreatus* berkisar antara 14,66 – 43,15 mg/ml. Secara umum, meningkatnya waktu ekstraksi menyebabkan peningkatan TFC dan penurunan nilai IC₅₀, yang artinya semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang ada di dalam ekstrak seperti flavonoid. Flavonoid akan mendonorkan hidrogen atau elektronnya kepada radikal bebas untuk menstabilkan senyawa radikal, sehingga semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak, aktivitas antioksidannya juga akan semakin tinggi. Namun, pada rasio bahan dan pelarut 1:40 peningkatan TFC dari 2 ke 4 menit tidak menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak *P. ostreatus*

tidak hanya berasal dari flavonoid saja, tetapi juga disebabkan karena adanya senyawa fenolik lain yang juga berpotensi sebagai antioksidan. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan terbaik diperoleh pada ekstrak dengan nilai TFC tertinggi, yaitu pada perlakuan ekstraksi rasio bahan dan pelarut 1:30 selama 4 menit, dengan nilai TFC dan IC₅₀ masing-masing sebesar 1,53 mg QE/g dw dan 14,66 mg/ml.



Gambar 5. Perbandingan nilai IC₅₀ beberapa penelitian

Berdasarkan Gambar 5, apabila dibandingkan antara nilai IC₅₀ hasil ekstraksi dengan MAE dan kontrol (ekstraksi dengan maserasi dan pemanasan waterbath) diketahui bahwa aktivitas antioksidan ekstrak flavonoid yang diperoleh dengan metode MAE lebih tinggi dibandingkan ekstrak maserasi (suhu ruang, 4 menit) maupun pemanasan waterbath (suhu 50°C, 4 menit), di mana nilai ini sebanding dengan semakin tingginya kandungan flavonoid dalam ekstrak. Hal ini membuktikan bahwa ekstraksi flavonoid dengan menggunakan metode MAE lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan metode maserasi maupun pemanasan waterbath, karena membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk mendapatkan total flavonoid yang lebih banyak. Selain itu, ekstraksi dengan gelombang mikro juga dapat mengurangi aktivitas enzimatis yang dapat merusak senyawa aktif yang akan diekstrak (Salas *et.al.*, 2010).

KESIMPULAN

Pleurotus ostreatus mempunyai kandungan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid dari *P.ostreatus* diekstrak dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk memperpendek waktu ekstraksi dan mengefektifkan proses ekstraksi. Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada ekstrak dengan perlakuan rasio bahan:pelarut 1:30 dan waktu ekstraksi 4 menit, yaitu masing-masing

sebesar 1,53 mg QE/ g dw dan 14,66 mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak semakin rendah nilai IC_{50} nya, sehingga aktivitas antioksidannya semakin tinggi. TFC dan aktivitas antioksidan ekstrak yang diperoleh dengan metode MAE lebih tinggi dibandingkan TFC dan aktivitas antioksidan ekstrak maserasi maupun pemanasan waterbath.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, Øyvind M dan Markham, Kenneth R. 2006, Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC press.
- Arbaayah, H.H dan Y. Kalsom, Umi. 2013. Antioxidant Properties in the Oyster Mushrooms (*Pleurotus spp.*) And Split Gill Mushroom (*Schizophyllum commune*) Ethanolic Extracts. Mycosphere 4 (4): 661-673, ISSN 20777019
- Calinescu I., Ciuculescu C., Popescu M., Bajanaru S., Epure G., 2001, Microwaves Assisted Extraction of Active Principles from Vegetal Material, Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, 12, 1-6.
- Desai, M.A., Parikh, J., 2015. Extraction of essential oil from leaves of lemon grass using microwave radiation: optimization, comparative, kinetic, and biological studies. ACS Sustainable Chem. Eng. 3, 421–431.
- Fazira, Eliza; Ulya, Nailly; Trilaksana, Mohammad I A; dan Zahro', Fatimmatuz. 2016. Formulasi Nanoflavon Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Menggunakan Teknologi Sonikasi sebagai Senyawa Antikanker Payudara. The 2nd International Conference on Food, Agriculture, and Natural Resources
- M. Gasecka, M. Mleczek, M. Siwulski, P. Niedzielski, 2016, Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc, European Food Research and Technology, 242 (5), 723-732
- González-Palma, I., H.B. Escalona-Buendía, E. Ponce-Alquicira, M. Téllez-Téllez, V.K. Gupta, G. Díaz-Godínez, and J. Soriano-Santos, 2016. Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Pleurotus ostreatus* in Different Growth Stages. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 7, 1099.
- J. Ivanovic, V. Tadic, S. Dimitrijevic, M. Stamenic, S. Petrovic, I. Zizovic, 2014, Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Čačanska Bestrna”, *Industrial Crops and Products*, Vol 53, 274-281.
- Mir, S. A.; Bhat, A. S; dan Ahangar, A.A. 2014. A simplified 2, 4-Dinitrophenylhydrazine Assay for Flavonoids and its Comparison with a Standard Flavonoid Assay.

International Journal of PharmTech Research, Vol.6, No.2, pp 751-758, ISSN : 0974-4304

- N. Izza, S.R Dewi, A.W Putranto, Dian R. Yuneri, Maria Yeniaska S. Dachi, Ekstraksi Senyawa Fenol Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus*) Dengan Pulse Electric Field (PEF), Jurnal Teknologi Pertanian, Vol. 17, No. 2, 91-96
- Rafiee, Z., Jafari, Alami, Khomeiri, M., 2011, Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Olive Leaves; A Comparison with Maceration, J. Animal and Plant Sci., 21(4):738-745.
- A. Rebaya, S. I. Belghith, B. Baghdikian, V. M. Leddet, F Mabrouki, E. Olivier, J. K. Cherif, M. T. Ayadi, 2015, Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (*Cistaceae*), Journal of Applied Pharmaceutical Science, Vol. 5 (01), 052-057
- Sadeli, Richard A. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (*Ananas comosus* (L). Merr.). Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Salas, P.G., Aranzazu M.S., Antonio S.C., and Alberto F.G. 2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruits and Vegetable Samples. *Molecules*. 15 : 8813-8826
- Sayuti, Kesuma dan Yenrina, Rina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang: Andalas Press University.