

Aktivitas antioksidan, kandungan fenolat dan flavonoid total ekstrak kulit batang *Dillenia auriculata* (Dilleniaceae)

Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Dillenia auriculata* (Dilleniaceae) bark extract

LIANA[✉], TRI MURNINGSIH

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jl. Raya Jakarta Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat.
Tel. +62-21-8765066, Fax. +62-21 8765059, ✉email: akuliana47@gmail.com.

Manuskrip diterima: 27 September 2018. Revisi disetujui: 14 Desember 2018.

Abstrak. Liana, Murningsih T. 2018. Aktivitas antioksidan, kandungan fenolat dan flavonoid total ekstrak kulit batang *Dillenia auriculata* (Dilleniaceae). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 5: 129-133*. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kandungan fenolat dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *Dillenia auriculata*. Kandungan fenolat total ditentukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu sedangkan flavonoid total dengan pereaksi aluminium klorida. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan penangkap radikal bebas DPPH (Difenilpicrilhidrazil), reduksi ion cupri dan pemucatan β -karoten. Vitamin C, vitamin E dan BHT (Butylhydroxytoluene) digunakan sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak mengandung fenolat total $19,70 \pm 0,05$ mg GAE /g ekstrak dan flavonoid total $19,53 \pm 0,08$ mg RE/g ekstrak. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan DPPH menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai nilai $IC_{50} = 32,28 \pm 0,02$ μ g/mL lebih besar dibanding Vit C dan Vit E; reduksi ion cupri pada konsentrasi 50 μ g/mL sebesar $72,27 \pm 0,03$ % lebih kecil dari vitamin C; pemucatan β -karoten sebesar $76,19 \pm 0,04$ % lebih kecil dari vitamin E dan BHT. Aktivitas antioksidan ekstrak kemungkinan terkait dengan kandungan fenolat dan flavonoidnya.

Kata kunci: Antioksidan, *Dillenia auriculata*, fenolat, flavonoid

Abstract. Liana, Murningsih T. 2018. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Dillenia auriculata* (Dilleniaceae) bark extract. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 5: 129-133*. Total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity of *Dillenia auriculata* bark extract were determined in this study. The phenolic total was determined using Folin-Ciocalteu reagent and total flavonoid content using aluminum chloride reagent. Antioxidant activity was carried out using free radical scavenging (DPPH), cupric reducing power and β -carotene bleaching assay. Vitamin C, vitamin E and BHT (Butylated hydroxytoluene) were used as positive control. The result showed that total phenolic content was 19.70 ± 0.05 mg GAE /g extract and total flavonoid was 19.53 ± 0.08 mg RE/g extract. The IC_{50} value for DPPH- free radical activity was 32.28 ± 0.02 μ g/mL higher than positive control vitamin C and vitamin E, antioxidant activity by cupric reducing power on concentration 50 μ g/mL was 72.27 ± 0.03 % lower than vitamin C; β -carotene bleaching was found 76.19 ± 0.04 % lower than positive control vitamin E and BHT. The antioxidant properties may be attributed to the presence of phenolic and flavonoid compounds present in the extract.

Keywords: Antioxidant, *Dillenia auriculata*, phenolic, flavonoid

PENDAHULUAN

Pada proses metabolisme normal, tubuh memproduksi radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*; ROS) tetapi tubuh juga memproduksi antioksidan yang disebut antioksidan endogen yang mampu menetralkan sehingga tidak menimbulkan masalah. Namun apabila tubuh terpapar oleh radikal bebas yang berasal dari lingkungan sekitar seperti polusi udara (asap rokok), logam berat (timbal) dari hasil pembakaran mesin mobil, pestisida, bahan tambahan pada makanan (pengawet dan pewarna) dan lainnya menyebabkan kadar radikal bebas menjadi lebih tinggi. Pada kondisi ini tubuh (antioksidan endogen) tidak mampu lagi menetralkan sehingga akan terjadi keadaan yang tidak seimbang antara ROS dengan antioksidan dan terjadilah

cekaman oksidatif (Miguel 2010).

Pada keadaan cekaman oksidatif, kelebihan radikal bebas dapat menyerang sel dan bereaksi dengan lipida, protein dan asam nukleat sehingga menimbulkan kerusakan membran sel atau bahkan kerusakan sel secara keseluruhan dan menyebabkan terjadinya disfungsi organ. Hal ini dapat menimbulkan berbagai macam penyakit serius antara lain kanker, jantung, aterosklerosis, katarak, penuaan dini serta penyakit neurodegeneratif seperti alzheimer dan yang lainnya (Kris-Etherton et al. 2004; Conforti et al. 2008).

Untuk mengatasi keadaan diperlukan antioksidan eksogen yaitu senyawa antioksidan dari luar seperti vitamin C, vitamin E, β -karoten atau senyawa antioksidan alami lainnya yang berasal dari tumbuhan. Pada umumnya senyawa antioksidan dari tumbuhan adalah senyawa golongan polifenol (fenolat) dan golongan flavonoid. Kulit

batang merupakan bagian tumbuhan yang banyak mengandung senyawa fenolat dan flavonoid. Senyawa ini mempunyai sifat redoks yang mampu bertindak sebagai agen pereduksi maupun pendonor hidrogen sehingga dapat bersifat antioksidan (Murningsih 2015).

Dillenia adalah genus dari famili Dilleniaceae terdiri dari sekitar 100 jenis tumbuhan, berasal dari daerah tropik dan subtropik seperti Asia Tenggara, Australia dan pulau-pulau di samudra Hindia. Tetapi hanya beberapa jenis saja yang telah digunakan untuk pengobatan secara tradisional oleh masyarakat lokal di beberapa negara. India dan Vietnam menggunakan *Dillenia indica* untuk mengobati demam, batuk, sembelit, diabetes melitus dan desentri. Thailand menggunakan *Dillenia parviflora* untuk mengobati diare. Malaysia menggunakan *Dillenia suffruticosa* untuk penyembuhan luka, demam, rematik dan menghambat pertumbuhan sel kanker (Yazan dan Nurdin 2014; Lima et al 2014).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas farmakologi dari beberapa jenis *Dillenia*, antara lain *Dillenia indica* dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antimikroba (Alam et al. 2011), antiinflamasi (Yeshwante et al. 2009), antioksidan (Deepa dan Jena 2011), antidiabetes (Talukdar et al. 2012). *Dillenia Suffruticosa* mempunyai aktivitas sebagai antikanker (Foo et al. 2016; Armania et al. 2013). Sedangkan *Dillenia pentagyna* Roxb mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi (Zothanpuia dan Kakoti 2017). Namun, sampai saat ini belum ada laporan penelitian tentang aktivitas farmakologi dari *Dillenia auriculata*.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan yang meliputi aktivitas menangkap radikal bebas DPPH, aktivitas mereduksi ion cupri dan aktivitas menghambat pemucatan β -karoten serta penetapan kandungan senyawa fenolat dan flavonoid total pada kulit batang *Dillenia auriculata*.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak metanol dari kulit batang *Dillenia auriculata* Mart. (Dilleniaceae) berasal dari Pulau Waigeo (Papua Barat) milik Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi - LIPI.

Cara kerja

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan 3 cara yaitu dengan menangkap radikal bebas (DPPH), reduksi ion cupri dan pemucatan β -karoten.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan menangkap radikal bebas (DPPH)

Metode dari Molyneux (2004) digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak dengan menangkap radikal bebas (DPPH). Pipet 1 mL larutan ekstrak dengan seri konsentrasi (10 - 40) $\mu\text{g/mL}$ dalam vial kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH dalam metanol (0,05 M) dan 3 mL metanol. Campuran dihomogenkan kemudian didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu mini 1240 pada panjang gelombang 517 nm.

Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C dan vitamin E sedangkan kontrol negatif tanpa larutan uji. Pengujian dilakukan 3 kali ulangan. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{A_1 - A_s}{A_1} \times 100\%$$

A_1 : nilai absorbansi kontrol negatif (tanpa sampel)

A_s : nilai absorbansi larutan uji

Kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (X) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (Y) dari seri replikasi pengukuran.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan reduksi ion cupri

Kapasitas reduksi ion cupri dari ekstrak diukur dengan menggunakan modifikasi dari metode Gülçin (2010) dan Wang dan Li (2011). Pipet 0,5 mL larutan CuSO_4 dalam air (10 mM) ke dalam vial selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan neocoproine dalam etanol (7,5 mM) dan 2 mL larutan bufer $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (10 mM, pH 7,5); kemudian tambahkan 400 μL larutan sampel (kontrol positif vitamin C) dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ kemudian ditambahkan bufer hingga volume menjadi 4 mL, diamkan 30 menit selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Percobaan dilakukan dalam 3 kali ulangan. Kapasitas reduksi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_s - A_0}{A_m - A_0} \times 100\%$$

A_s : Absorbansi sampel

A_0 : Absorbansi kontrol negatif

A_m : Absorbansi maksimum (vitamin C 100 $\mu\text{g/mL}$)

Penentuan aktivitas antioksidan dengan pemucatan β -karoten

Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan menggunakan metode pemucatan β -karoten menurut metode Mishra et al. (2009). Pipet 2 mL larutan β -karoten dalam kloroform (5 mg/mL) dimasukkan dalam labu distilasi kemudian tambahkan 200 μL asam linoleat dan 400 μL tween 40. Kloroform diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C. Selanjutnya tambahkan 100 mL akuades sedikit demi sedikit diatas "stirrer" hingga membentuk emulsi. Pipet 5 mL larutan emulsi ditambahkan pada setiap tabung reaksi yang berisi 0,2 mL larutan sampel (100 $\mu\text{g/mL}$). Larutan campuran dalam tabung reaksi diinkubasi pada suhu 50°C. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 470 nm pada interval waktu 15 menit selama 120 menit dengan menggunakan UV-Vis spektrophotometer (Shimadzu). Sebagai kontrol positif digunakan vitamin E dan BHT. Percobaan dilakukan dengan tiga kali ulangan. Perhitungan Aktivitas Antioksidan (AA) dihitung menurut (Ismail dan Hong 2002).

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \left(1 - \frac{As_0 - As_t}{Ac_0 - Ac_t} \right) \times 100\%$$

As_0 : Absorbansi sampel/kontrol positif awal (t : 0 menit)

As_t : Absorbansi sampel/kontrol positif pada t : 120 menit

Ac_0 : Absorbansi kontrol negatif awal (t : 0 menit)

Ac_t : Absorbansi kontrol negatif pada t : 120 menit

Penetapan kandungan fenolat total

Penetapan kandungan senyawa fenolat total dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (Orak 2006). Larutan ekstrak (0,1 mL) dengan konsentrasi 100 µg/mL diukur kandungan fenolat totalnya berdasarkan kurva standar asam galat (Merck). Kurva standar asam galat dibuat pada variasi konsentrasi 20-100 µg/mL. Percobaan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Kandungan fenolat total dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar dan dinyatakan setara dengan mg asam galat (GAE)/g ekstrak.

Penetapan kandungan flavonoid total

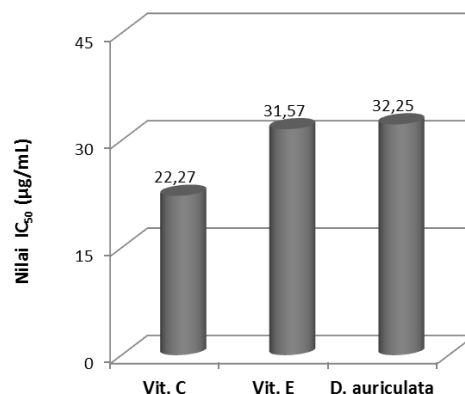
Penetapan kandungan flavonoid total dilakukan secara kolorimetri (Rohman et al. 2010). Larutan ekstrak (1,00 mL) dengan konsentrasi 100 µg/mL diukur kadar flavonoid totalnya berdasarkan kurva standar rutin (Nakarai Chemicals LTD, Jepang). Kurva standar dibuat pada variasi konsentrasi 20-100 mg/mL. Percobaan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Kandungan flavonoid total dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar dan dinyatakan setara dengan mg rutin (RE)/g ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menangkap radikal bebas DPPH

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil karena mempunyai satu atom nitrogen yang elektronnya tidak berpasangan. Apabila bereaksi dengan senyawa (ekstrak) yang mempunyai daya antioksidan maka akan terjadi peredaman (penangkapan) elektron yang tidak berpasangan dari DPPH tersebut membentuk difenilpicrilhidrazin yang stabil. Terjadinya reaksi ini ditandai dengan perubahan warna, warna ungu dari DPPH memudar berubah menjadi kuning dari difenilpicrilhidrazin.

Hasil uji aktivitas menangkap radikal bebas DPPH yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai nilai IC_{50} sebesar 32,25 µg/mL. Sedangkan vitamin C memiliki nilai IC_{50} 22,27 µg/mL dan vitamin E sebesar 31,57 µg/mL seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mampu bertindak sebagai donor atom hidrogen atau dapat dikatakan bahwa ekstrak *D. auriculata* mempunyai sifat antioksidan.



Gambar 1. Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH dari ekstrak *Dillenia auriculata* dan kontrol positif. Nilai IC_{50} merupakan rerata dari 3 kali ulangan

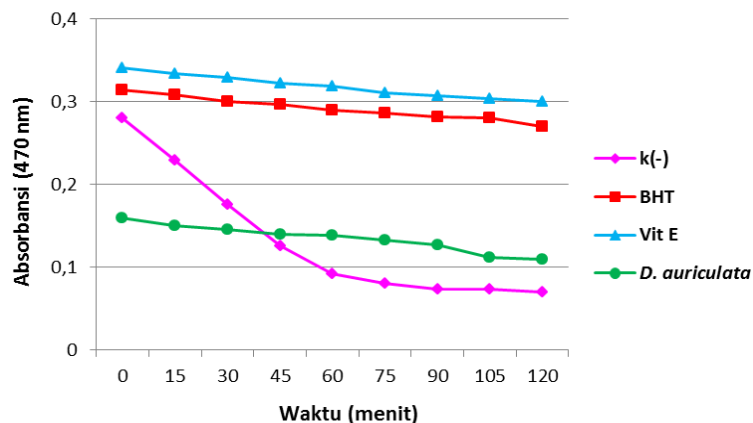
Reduksi ion cupri

Penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan reaksi reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{+} dikenal dengan CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), prinsipnya adalah pembentukan senyawa kelat oleh pereaksi bis (neocuproin) copper (II) sebagai agen pengoksidasi kromogenik membentuk senyawa kompleks neocuproin copper (I) yang stabil dan mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 450 nm (Vijayakumar et al. 2013). Aktivitas antioksidan *D. auriculata* dengan reduksi Cu^{2+} pada konsentrasi 50 µg/mL sebesar 72,27 % namun nilai aktivitas antioksidan ini lebih kecil dibanding kontrol positif vitamin C (100 %).

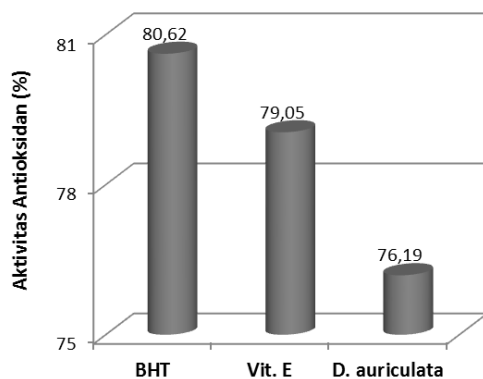
Pemucatan β -karoten

Pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode pemucatan β -karoten, selama proses inkubasi yang dilakukan pada suhu 50°C menyebabkan asam linoleat berubah menghasilkan senyawa radikal bebas (hidroperoksida). Radikal bebas yang terbentuk akan menyerang molekul-molekul β -karoten dan menyebabkan terjadinya degradasi (pemucatan) warna dari β -karoten. Gambar 2 memperlihatkan bahwa kontrol negatif mengalami penurunan nilai absorbansi dengan cepat atau secara visual terjadi degradasi warna β -karoten secara cepat, hal ini disebabkan di dalam kontrol negatif tidak mengandung senyawa antioksidan. Gambar 2 juga memperlihatkan bahwa adanya kandungan senyawa antioksidan yang terdapat pada ekstrak *D. auriculata* ataupun kontrol positif (vitamin C dan BHT) yang dapat memperlambat pembentukan radikal bebas (hidroperoksida). Jadi kecepatan degradasi warna β -karoten dalam metode ini tergantung pada kekuatan aktivitas senyawa antioksidannya (Maisarah et al. 2013).

Aktivitas antioksidan ekstrak *D. auriculata* yang diuji dengan metode pemucatan β -karoten dihitung menurut Yim et al. (2010). Pada konsentrasi 100 µg/mL dengan waktu inkubasi 120 menit aktivitas antioksidan ekstrak sebesar 76,19 ± 0,04 % lebih kecil dibanding kontrol positif (Vit E = 79,05 ± 0,02 % dan BHT = 80,62 ± 0,05 %).



Gambar 2. Penurunan nilai absorbansi β -karoten pada ekstrak *Dillenia auriculata*, vitamin E, BHT dan kontrol negatif. Nilai absorbansi merupakan rerata dan 3 kali ulangan



Gambar 3. Aktivitas antioksidan (pemucatan β -karoten) dari ekstrak *D. auriculata*, BHT dan Vit E. pada waktu inkubasi 120 menit. Nilai aktivitas antioksidan merupakan rerata dari 3 kali ulangan

Penetapan kandungan fenolat total

Kandungan fenolat total ditetapkan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dan menggunakan asam galat sebagai standar senyawa fenolat. Prinsip dari metode ini berdasarkan pada reaksi oksidasi fenolat oleh molybdotungstate (pereaksi Folin-Ciocalteu) menghasilkan senyawa berwarna biru dengan panjang gelombang maksimum 765 nm (Orak 2006). Dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi dari asam galat $y=0,0259x + 0,0057$ ($R^2=0,9998$) dapat dihitung kandungan fenolat total dalam ekstrak uji yang dinyatakan setara dengan $19,70 \pm 0,05$ mg asam galat/g ekstrak.

Penetapan kandungan flavonoid total

Kandungan flavonoid total dalam ekstrak dihitung dengan berdasarkan persamaan kurva kalibrasi dari senyawa rutin ($y=0,0208x+0,001$; $R^2 = 0,9992$) dan dinyatakan setara dengan mg rutin (RE)/g ekstrak). Hasil menunjukkan bahwa kandungan flavonoid total setara dengan $19,53 \pm 0,08$ mg RE/g ekstrak.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ekstrak kulit batang *D. auriculata* mempunyai aktivitas antioksidan pada

ketiga metode uji yang berbeda (aktivitas menangkap radikal bebas DPPH, aktivitas mereduksi ion cupri dan aktivitas menghambat pemucatan β -karoten). Disamping itu ekstrak juga mengandung senyawa fenolat dan flavonoid. Nampaknya ada keterkaitan antara kandungan fenolat dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Hubungan antara kandungan senyawa fenolat, flavonoid dengan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kuantitas dan struktur kimia dari senyawa tersebut. Semakin besar jumlah kandungan senyawa fenolat ataupun flavonoid akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Terlihat ada hubungan antara struktur kimia fenolat dan flavonoid dengan aktivitas antioksidannya. Senyawa fenolat yang mengandung 1 gugus -OH hanya mempunyai aktivitas sangat kecil. Aktivitas antioksidan akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah gugus -OH dalam molekulnya. Sedangkan aktivitas antioksidan dari flavonoid sangat berkaitan dengan posisi -OH pada struktur molekulnya (Khan et al. 2012; Murningsih 2012).

Kesimpulan

Ekstrak metanol kulit batang *D. auriculata* mengandung senyawa fenolat setara $19,70 \pm 0,05$ mg GAE /g ekstrak dan flavonoid setara dengan $19,53 \pm 0,08$ mg RE/g ekstrak. Ekstrak mempunyai aktivitas antiradikal bebas (DPPH) dengan nilai $IC_{50}= 32,28 \pm 0,02$ μ g/mL, mempunyai kemampuan mereduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ pada konsentrasi 50 μ g/mL sebesar 72,27 %. Serta dapat menghambat laju peluruhan warna β -caroten dengan nilai aktivitas antioksidan ekstrak sebesar $76,19 \pm 0,04$ %. Semakin besar jumlah kandungan senyawa fenolat ataupun flavonoid akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian ini memberitahukan bahwa *D. auriculata* berpotensi sebagai antioksidan alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam MB, Chowdhury NS, Mazumder MEH, Haque EK. 2011. Antimicrobial and toxicity study of different fraction of *Dillenia indica* Linn bark extract. Intl J Pharmaceut Sci Res 2 (4): 860-866.

- Armania N, Yazan LS, Ismail IS, Foo JB, Tor YS, Ishak N, Ismail N, Ismail M. 2013. *Dillenia suffruticosa* Extract Inhibits Proliferation of Human Breast Cancer Cell Lines (MCF-7 and MDA-MB-231) via Induction of G2/M Arrest and Apoptosis. *Molecules* 18: 13320-13339.
- Conforti F, Sosa S, Marrelli M, Menichini F, Statti GA, Uzunov D, Tubaro A, Menichini F, Loggia RD. 2008. *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *J Ethnopharmacol* 116, 144-151.
- Deepa N, Jena BS. 2011. Antioxidant fraction from bark of *Dillenia indica*. *International J Food Prop* 14: 1152-1159.
- Foo JB, Yazan LS, Tor YS, Wibowo A, Ismail N, Armania N, Cheah YK, Abdullah R. 2016. *Dillenia suffruticosa* dichloromethane root extract induced apoptosis towards MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. *J Ethnopharmacol* 187: 195-204.
- Gülçin I. 2010. Antioxidant activity of resveratrol: A structure-activity insight. *Innov Food Sci Emerg Technol* 11: 210-218.
- Ismail A, Hong TS. 2002. Antioxidant activity of selected commercial seaweeds. *Malaysian J Nutr* 8 (2): 167-177.
- Khan RA, Khan MR, Sahreen S, Ahmmed M. 2012. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of various solvent extract of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chem Central J* 6: 12-16.
- Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL, Etherton TD. 2004. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and antiinflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Ann Rev Nutr* 24: 511-538.
- Lima CC, Lemos RPL, Conserva Lm. 2014. Dilleniaceae family: an overview of its ethnomedicinal uses, biological and phytochemical profile. *J Pharmacogn Phytochem* 3 (2): 181-204.
- Maisarah AM, Amira N, Asmah R, Fauziah O. 2013. Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *Intl Food Res J* 20 (3): 1043-1048.
- Miguel MG. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short reveiw. *Molecules* 15: 9252-9287.
- Mishra J, Yousuf A, Aradhana RDS. 2009. Phytochemical investigation and in-vitro antioxidant potential of leaves of *Murraya koenigii*. *Intl J Integr Biol* 7 (3): 171-174.
- Molyneux P. 2004. The Use of The stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J Sci Tecnol* 26 (2): 211-219
- Murningsih T. 2012. Sifat antioksidan, kandungan fenolat dan flavonoid total ekstrak kulit batang mertapang (*Terminalia copelandii* Elmer). *Berita Biologi* 11 (1): 85-92.
- Murningsih T. 2015. Pengaruh pelarut pada kandungan fenolat total dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *Toona sinensis*. *Berita Biologi* 14 (2): 169-175.
- Orak HH. 2006. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, poly-phenoloxidase activities in red grape varieties, *Electr J Polish Agric Univ Food Sci Technol* 9: 118.
- Rohman A, Riyanto S, Yuniarti N, Saputra WR, Utami R, Mulatsih W. 2010. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoic of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal* 17, 97-106.
- Talukdar A, Talukdar N, Deka S, Sahariah BJ. 2012. *Dillenia indica* (outenga) as anti-diabetic herb found in assam: A review. *Intl J Pharmaceut Sci Res* 3 (8): 2482-2486.
- Vijayakumar A, Kumar PP, Jeyaraj B. 2013. Antioxidant activity of *Illicium griffithii* Hook. F. & Thoms seed - in vitro. *Asian J Pharmaceut Clin Res* 6 (2): 269-273.
- Wang L, Li X. 2011. Antioxidant activity of durian (*Durio zibethinus* Murr.) shell in vitro. *Asian J Pharmaceut Biol Res* 1 (4): 542-551.
- Yazan LS, Armania N. 2014. *Dillenia* species: A review of the traditional uses, active constituents and pharmacological properties from pre-clinical studies. *Pharmaceut Biol* 52 (7): 890-897.
- Yeshwante SB, Juvekar AR, Nagmoti DM, Wankhede SS, Shah AS, Pimprikar RB, Saindane DS. 2009. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts of *Dillenia indica* L. leaves. *J Young Pharmaceut* 1: 63-66
- Yim HS, Chye FY, Tan CT, Ng YC, Ho CW. 2010. Antioxidant activities and total phenolic content of aqueous extract of *Pleurotus ostreatus* (cultivated oyster mushroom). *Malaysian J Nutr* 16 (2): 281 - 291.
- Zothanpuia, Kakoti BK. 2017. In vitro and in vivo anti-inflammatory activity of *Dillenia pentagyna* Roxb. bark, a folklore medicine of Mizoram. *Sci Vision* 17 (2): 69-77.