

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Rosemary* (*Rosemarinus officinalis* L.) dengan Metode DPPH dan FRAP serta Pengaplikasianya sebagai Zat Aktif dalam Lotion

**Antioxidant Activity Test of Rosemary Leaves (*Rosemarinus officinalis* L.)
Ethanolic Extract with DPPH and FRAP Method and Its Application as an Active
Substance in Lotion**

Ni Ketut Esati*, Elisabeth Oriana Jawa La, Gusti Ayu Dewi Lestari

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha, Bali, Indonesia

*Email Korespondensi: esati0110@gmail.com

Abstrak

Salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomis tinggi yaitu tanaman *rosemary* (*Rosemarinus officinalis* L.). Tanaman ini mempunyai aroma dan rasa yang khas dan banyak mengandung senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antijamur, antivirus, antibakteri, antitumor, antitrombotik, dan antidepresan. Pemanfaatan tanaman *rosemary* terutama ekstrak daunnya dapat dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan pengujian terhadap ekstrak tersebut, sehingga tujuan dari penelitian ini adalah melakukan pengujian kandungan metabolit sekunder, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan FRAP, serta mengaplikasikannya sebagai zat aktif dalam produk *lotion*. Dari hasil penelitian ini didapatkan rendemen ekstrak etanol daun *rosemary* sebanyak 16,87%. Hasil pengujian ekstrak tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, tannin, dan triterpenoid, namun memberikan hasil yang negatif terhadap saponin. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan FRAP ekstrak menghasilkan nilai IC₅₀ berturut-turut 10,68 ppm dan 51,84 ppm. Dengan demikian ekstrak etanol daun *rosemary* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan pengujian metode DPPH dan aktivitas yang kuat dengan metode FRAP. Produk antioksidan sediaan topikal berupa *lotion* dengan zat aktif dari ekstrak etanol daun *rosemary* memberikan hasil pengamatan selama 14 hari yaitu: warna hijau pucat (tidak terjadi perubahan warna selama penyimpanan), aroma wangi vanili, dan tekstur agak cair.

Kata Kunci: Daun *rosemary*, ekstrak etanol, antioksidan, DPPH, FRAP

Abstract

One of the plants that have high economic value is rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.). This plant has a distinctive aroma and taste and contains many compounds that can be used as antioxidants, antifungals, antivirals, antibacterials, antitumors, antithrombotics, and antidepressants. Utilization of the rosemary plant, especially its leaf extract, can be done by first testing the extract, so the purpose of this research is to test the content of secondary metabolites, antioxidant activity using the DPPH and FRAP methods, and apply it as an active substance in lotion products. The research found that the yield of rosemary leaf ethanol extract was 16.87%. This extract contained secondary metabolites including alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids/triterpenoids, but gave negative results for saponins. The antioxidant activity test using the DPPH and FRAP extract methods resulted in IC_{50} values of 10.68 ppm and 51.84 ppm, respectively. Therefore, rosemary leaf ethanol extract had a very strong antioxidant activity by testing the DPPH method and strong activity by the FRAP method. Topical antioxidant products in the form of lotions with active substances from ethanolic extract of rosemary leaves gave result for 14 days observation: pale green (colour didn't change during storage), vanilla scent, and slightly liquid texture.

Keywords: rosemary leaf, ethanol extract, antioxidant, DPPH, FRAP

Submitted: 23 February 2022

Accepted: 28 August 2022

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i4.1129>

1 Pendahuluan

Kecenderungan dalam suatu senyawa atau molekul dengan unsur-unsur yang memiliki elektron berpasangan, jika di dalam senyawa/molekul tersebut terdapat elektron tidak berpasangan, maka terbentuklah radikal bebas. Di dalam tubuh radikal bebas terbentuk akibat metabolisme sel normal *in situ* atau dari sumber lingkungan luar seperti pengaruh polusi udara, makanan yang dibakar/digoreng, penggunaan obat/terapi obat kimia, dan lainnya. Yang menjadikan radikal bebas ini berbahaya bagi kesehatan saat jumlahnya dalam tubuh melebihi senyawa antioksidan (senyawa yang menghambat/menangkal aktivitas radikal bebas), yang akan menyebabkan stres oksidatif. Proses ini memicu munculnya penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, gangguan autoimun, penuaan dini, penyakit kardiovaskular, dan neurodegeneratif. Untuk mengatasi stres oksidatif diperlukan asupan antioksidan agar dapat menyeimbangkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan dapat berasal dari produksi sendiri dalam tubuh, mengkonsumsi antioksidan alami yang

terkandung pada sayuran dan buah-buahan, ataupun menggunakan produk/suplemen antioksidan [1]. Kebutuhan akan produk berbahan antioksidan mengalami peningkatan. Hal tersebut memberi peluang untuk mengeksplorasi dan memanfaatkan tanaman yang kelimpahannya di daerah ini sangat banyak, untuk menjadi bahan aktif dalam produk antioksidan.

Salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan kelimpahannya banyak yaitu tanaman *rosemary*. Tanaman *Rosmarinus officinalis* L., sering disebut *rosemary* atau rosmarin adalah tanaman aromatik dengan daun berbentuk jarum, yang termasuk ke dalam famili *Lamiaceae* [2]. Tanaman *rosemary* dapat tumbuh di tanah-tanah yang gembur dan subur serta di dalam ruangan dengan kondisi udara yang hangat dan cerah, yang banyak mendapatkan sinar matahari. Di Indonesia *rosemary* banyak dimanfaatkan untuk penyedap makanan dan bahan pewangi [3]. Berdasarkan studi pustaka, *rosemary* memiliki khasiat terapeutik dan digunakan dalam industri obat tradisional, farmasi, kosmetik, terutama untuk antioksidan dan antiinflamasi.

Tanaman ini juga banyak mengandung metabolit sekunder, berupa senyawa fenolik (diterpenoid dan flavonoid) yang dimanfaatkan sebagai antioksidan, serta kandungan senyawa volatil yang bersifat sebagai antijamur, antivirus, antibakteri, antitumor, antitrombotik, dan antidepresan [4]. Dengan demikian, peneliti ingin melakukan ekstraksi terhadap daun *rosemary* untuk dilakukan pengujian dengan dua metode uji antioksidan yaitu dengan pereaksi DPPH dan FRAP, serta dimanfaatkan sebagai bahan antioksidan dalam sediaan *lotion*.

Kemampuan antioksidan melakukan aktivitasnya untuk menghambat radikal bebas dapat ditentukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan beberapa pereaksi yang berfungsi sebagai oksidan, diantaranya 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) yang diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm, sedangkan senyawa kompleks Fe^{3+} (kalium heksasianoferat) yang tereduksi oleh agen antioksidan membentuk senyawa kompleks Fe^{2+} atau dikenal dengan uji *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) diukur serapannya pada 720 nm [5], [6], [7]. Pada penelitian yang dilakukan oleh Maesaroh, *et al.*, 2018, mendapatkan hasil bahwa metode DPPH memiliki keefektifan yang tinggi dari metode FRAP, namun kedua metode tersebut memiliki nilai korelasi yang kuat ($R>0,98$), sehingga sangat memungkinkan untuk menggantikan satu sama lainnya [5]. Oleh karena itu pada penelitian ini bertujuan untuk melakukan perbandingan hasil uji dari kedua metode tersebut terhadap ekstrak daun *rosemary*. Ekstrak diperoleh dari proses maserasi dan remerasasi simplisia kering daun *rosemary* dengan etanol 96%. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak tersebut. Uji aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan metode DPPH dan FRAP. Pengaplikasian ekstrak daun *rosemary* dijadikan sebagai bahan aktif pada *lotion*. *Lotion* merupakan produk kosmetik sediaan topikal yang dimanfaatkan untuk menjaga kelembaban kulit, dengan adanya zat aktif antioksidan akan melindungi kulit dari radikal bebas, sehingga kulit terlihat lebih sehat dan awet muda [8].

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah daun *rosemary* (*Rosmarinus officinalis* L), pereaksi DPPH, etanol 96% (Merck), kloroform, pereaksi Dragendorff, gliserin, pereaksi amonia, pereaksi FeCl_3 , pereaksi Mayer, akuades, larutan asam asetat (CH_3COOH), asam askorbat, NaOH , KH_2PO_4 , asam oksalat, setil alkohol, kalium ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), parafin cair, asam trikloroasetat (TCA), asam stearat, trietanolamin (TEA), metil paraben, propil paraben, aroma vanili, larutan HCl 2N, butanol, asam sulfat pekat (H_2SO_4), dan dapar fosfat.

Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator*, oven, peralatan gelas, *waterbath*, cawan porcelin, mortal, stempel, aluminium foil, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Evolution 201), sendok tanduk, kertas saring, timbangan, blender, pHmeter, dan sentrifugator (Plc).

2.2 Pembuatan ekstrak etanol daun *rosemary* dan uji kandungan metabolit sekunder

Sebanyak 500gram simplisia kering daun *rosemary* direndam (maserasi) selama 3 hari dengan pelarut etanol 96% dalam wadah tertutup rapat, sambil sesekali diaduk, selanjutnya hasil maserasi disaring menggunakan corong buchner, filtrat ditampung. Residu daun *rosemary* diremaserasi, diulangi dengan pelarut yang sama sebanyak 3 kali replikasi. Hasil saringan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental daun *rosemary*. Selanjutnya dihitung rendemen ekstrak tersebut. Ekstrak kental daun *rosemary* diuji kandungan metabolit sekundernya, meliputi uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan steroid/triterpenoid menggunakan pereaksi warna. Kedalam ekstrak etanol daun *rosemary* ditetes dengan pereaksi warna, kemudian dilihat perubahan warna dan endapan yang terbentuk [9].

2.3 Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan uji DPPH dan FRAP

2.3.1 Uji DPPH

Larutan uji ekstrak etanol daun *rosemary* dengan variasi konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang telah ditutupi dengan alumunium foil (keadaan gelap). Selanjutnya ditambahkan larutan DPPH 40 ppm masing-masing sebanyak 2 mL sebagai sampel uji, kemudian semua sampel uji diinkubasi selama tiga puluh menit dengan suhu suhu ruang. Sampel uji diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH dan dicatat absorbansinya sebagai A (absorbansi sampel), sedangkan untuk mendapatkan Ac (absorbansi kontrol) digunakan absorbansi dari pengukuran larutan DPPH 40 ppm. Pengukuran ini dilakukan 3 kali replikasi. Data-data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung % inhibisi. Selanjutnya untuk memperoleh *inhibition curve*, diplot konsentrasi ekstrak dengan nilai % inhibisi, dari kurva tersebut akan diperoleh persamaan regresi linear $y = bx + a$. Perhitungan % inhibisi dan IC₅₀ menggunakan rumus pada persamaan 1 dan 2 [10].

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Ac - A}{Ac} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 1})$$

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (\text{Persamaan 2})$$

Keterangan:

- Ac : nilai absorbansi kontrol
A : nilai absorbansi sampel
a : nilai intersep dari persamaan regresi linear
b : nilai kemiringan (slope) dari persamaan regresi linear

2.3.2 Uji FRAP

Larutan ekstrak daun *rosemary* dan larutan standar asam askorbat dengan variasi konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL, masing-masing ditambahkan 1 mL larutan dapar fosfat dan 1 mL K₃Fe(CN)₆ kemudian inkubasi selama dua puluh menit pada suhu 50°C. Selanjutnya ke

dalam larutan tersebut ditambahkan 1 mL TCA dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama sepuluh menit. Bagian lapisan atas yang terbentuk dipisahkan, ditambahkan 1 mL akuades, 0,5 mL FeCl₃ 0,05%, dan diamkan selama sepuluh menit (sebagai sampel uji). Absorbansi larutan sampel uji diukur pada panjang gelombang 720 nm. Pengukuran ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Data-data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung %RP. Selanjutnya untuk memperoleh *Reducing curve*, diplot konsentrasi ekstrak dengan nilai % RP, dari kurva tersebut akan diperoleh persamaan regresi linear $y = bx + a$, yang digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀. % RP dihitung dengan menggunakan persamaan 3 [11]:

$$\% RP = \left[1 - \left(1 - \frac{A}{Ac} \right) \times 100\% \right] \quad (\text{Persamaan 3})$$

Keterangan:

- % RP : percent of reducing power
Ac : nilai absorbansi kontrol asam askorbat
A : nilai absorbansi sampel

2.4 Pembuatan lotion antioksidan ekstrak daun *rosemary*

Lotion dibuat dengan formulasi menggunakan kadar bahan dalam persen b/v (gram/100 mL) yaitu ekstrak 2%; asam stearat 2%; trietanolamin 0,5%; parafin cair 5%; setil alkohol 3%; gliserin 5%; metil paraben 0,1%; propil paraben 0,02%; dan penambahan aroma vanili [8]. *Lotion* berbahan aktif ekstrak daun *rosemary* yang terbentuk kemudian dilakukan uji organoleptis yang meliputi perubahan warna, bau, dan tekstur.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstrak Etanol Daun *Rosemary* dan uji kandungan metabolit sekunder

Hasil dari ekstraksi didapatkan ekstrak kental etanol daun *rosemary* sebanyak 84,36 gram, dan pada proses ekstraksi digunakan 500 gram simplisia, sehingga didapatkan rendemen ekstrak sebesar 16,87%. Persen rendemen merupakan perbandingan antara hasil

banyaknya metabolit yang didapatkan setelah ekstraksi dengan bobot sampel/simplisia kering yang digunakan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya melebihi 10% [12]. Oleh karena itu ekstrak etanol daun *rosemary* yang didapatkan pada penelitian ini dinyatakan baik, karena hasil rendeman >10%. Uji kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun *rosemary* disajikan pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh adalah dalam ekstrak etanol daun *rosemary* mengandung senyawa alkaloid, tanin, triterpenoid, dan flavonoid, sedangkan untuk saponin menunjukkan hasil yang negatif. Hal ini sesuai dengan percobaan terdahulu yang dilakukan dengan hasil skrining fitokimia pada tanaman rosemarin (*Rosmarinus Officinalis* L) atau *rosemary* menunjukkan hasil positif pada pengujian alkaloid, flavonoid, dan tanin [13].

Tabel 1. Hasil Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dalam Ekstrak Kental Etanol Daun *Rosemary*

Golongan senyawa	Hasil	Literatur
Alkaloid	Positif (+)	Hasil positif ditunjukan dengan terbentuknya endapan kuning
Tanin	Positif (+)	Hasil positif ditunjukan dengan warna hitam kehijauan
Steroid/ Triterpenoid	Positif (+) Triterpenoid	Hasil positif ditunjukan dengan terbentuknya cincin kecoklatan / violet (triterpenoid), cincin biru kehijauan (steroid)
Saponin	Negatif (-)	Hasil postif ditunjukan dengan terbentuknya busa yang tidak hilang
Flavonoid	Positif (+) Terbentuk warna merah	Terbentuk larutan berwarna merah, kuning atau jingga

3.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Rosemary*

Tabel 2 disajikan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan Tabel 3 untuk metode FRAP yang dinyatakan sebagai nilai IC₅₀. Ekstrak etanol daun *rosemary* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 10,68 ppm pada metode DPPH dan 51,84 ppm pada metode FRAP, yang artinya pada masing-masing konsentrasi ekstrak (ppm) tersebut dapat menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin kuat aktivitas antioksidannya [12]. Berdasarkan hasil penelitian ini, daun *rosemary* (*Rosmarinus*

officinalis L.) mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada uji dengan metode DPPH dan aktivitas kuat pada uji dengan metode FRAP.

Tabel 2. Hasil perhitungan % inhibisi dan IC₅₀ ekstrak daun *rosemary* pada 519 nm pada Metode DPPH

Ekstrak daun <i>rosemary</i> (ppm)	Absorbansi rata-rata	%Inhibisi	Persamaan Regresi linear	IC ₅₀
10	0,132	41,85		
20	0,032	85,90		
30	0,020	91,19		
40	0,042	81,50	y = 2,0013x + 28,634	10,68 ppm
50	-0,089	139,21		
60	-0,119	152,42		

Tabel 3. Hasil perhitungan % RP dan IC₅₀ ekstrak etanol daun *rosemary* pada Metode FRAP

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata		% RP	Persamaan regresi linear	IC ₅₀
	Ekstrak (A)	Asam askorbat (Ac)			
10	0,350	0,111	315,32		
20	0,392	0,293	133,79		
30	0,497	0,458	108,52		
40	0,486	0,825	58,91	y = -4,3424x + 275,12	51,84 ppm
50	0,478	0,921	51,90		
60	0,942	0,905	70,40		

Berdasarkan tabel di atas nilai IC₅₀ ekstrak diperoleh hasil yang berbeda dengan metode pengukuran yang berbeda pula. Menurut Maesaroh, dkk (2018), metode uji peredaman radikal DPPH memberikan hasil yang lebih efektif, dengan nilai konsentrasi batas deteksi dan batas kuantisasi yang lebih rendah terhadap pengukuran standar asam askorbat dibandingkan dengan metode FRAP. Namun kedua metode memiliki korelasi yang sangat tinggi sehingga saling mempengaruhi dan dapat saling mengantikan [5]. Kekuatan antioksidan ekstrak etanol daun *rosemary*, berhubungan dengan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak, terutama kandungan alkaloid, tanin, triterpenoid, dan flavonoid. Metabolit sekunder terutama senyawa fenolik memiliki kemampuan mengeliminasi radikal karena kemampuannya untuk mendonorkan ion

hidrogen, sehingga membuat radikal bebas yang bersifat reaktif menjadi stabil [14], [15], [16].

3.3 Aplikasi Ekstrak Etanol Daun Rosemary dalam Lotion sebagai Agen Antioksidan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa ekstrak etanol daun *rosemary* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga sangat cocok diaplikasikan sebagai bahan aktif dalam produk kosmetik, salah satunya yaitu *lotion*. Produk kosmetik *lotion* ini merupakan salah satu produk antioksidan sediaan topikal yang berupa emulsi cair yang terdiri dari fase minyak dan fase cair yang distabilkan oleh emulgator, yang mengandung zat aktif berupa ekstrak etanol daun *rosemary* di dalamnya. Gambar 1 disajikan hasil pembuatan *lotion* ekstrak etanol daun *rosemary*. Hasil uji organoleptis yang dilakukan pengamatan selama 14 hari yaitu: warna hijau pucat (tidak terjadi perubahan warna selama penyimpanan), aroma wangi vanili, dan tekstur agak cair.



Gambar 1. Lotion ekstrak etanol daun *rosemary*

4 Kesimpulan

Pengujian ekstrak etanol daun *rosemary* memberikan hasil bahwa dalam ekstrak tersebut mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memberi efek terhadap besarnya aktivitas antioksidan. Baik menggunakan metode uji DPPH maupun FRAP, ekstrak daun *rosemary* dapat dengan sangat kuat menghambat radikal bebas. Dalam

pengaplikasian ekstrak etanol daun *rosemary* menghasilkan produk sediaan *lotion* yang secara organoleptis memiliki kualitas yang baik.

5 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboran STF Mahaganeshya yang telah membantu dalam proses pelaksanaan penelitian.

7 Daftar Pustaka

- [1] Lien Ai Pham-Huy, Hua He, Chuong Pham-Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 4(2): 89–96.
- [2] USDA (United States Department of Agriculture: Natural Resources Conservation Service). 2020. *Rosmarinus officinalis* L. Rosemary. cited 25/10/2020 06.00 AM. (WITA): <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ROOF>
- [3] BPPSDMP (Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian) Kementrian Pertanian. 2020. Budidaya Tanaman Rosemary. cited 25/10/2020 04.20 AM. (WITA): <http://cybex.pertanian.go.id/artikel/93458/budidaya-tanaman-rosemary/>
- [4] Macedo, L. Erica, M. Lucas, M. 2020. (Review) Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia Rosmarinus* Spenn.) and its Topical Applications. *Plants.* 9 (651): 1-12.
- [5] Maesaroh, K. Dikdik, K. Jamaludin, A.A. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta.* 6(2): 93-100.
- [6] Apak, R. Gorinstein, S. Bohm, V. Karem, M. Schaich. 2013. Methods of Measurement and Evaluation of Natural Antioxidant Capacity/Activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry.* 85(5): 957-998.
- [7] Panda, S. K. 2012. Assay Guided Comparison for Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Activities with Special Reference to Medicinal Plants. *Intech.* 15(1): 381-399.
- [8] Auliasari, N., S. Hindun., H. Nugraha. 2018. Lotion Formulation of Ethanol Extract Sweet of Orange Peel (*Citrus X aurantium* L.) as Antioxidant. *Journal Ilmiah Farmako Bahari.* 9(1): 21-34.

- [9] Putri, W.S., Warditiani, N.K., Larasanty, L.P.F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4): 56-60.
- [10] Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N.K. 2011. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*. 130(2012): 1036-1043.
- [11] Gashahun G.S., Solomon L.B. 2018. Study of the Antioxidant Activities of Avocado (*Persea Americana Mill.*) and Three Banana (*Musa Paradisiac L.*) varieties by FRAP and Rancimat Assays. *Anatomy Physiol Biochem Int J.* 6(1): 555678.
- [12] Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical DPPH for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science Technology*. 26, 211-219.
- [13] Ranna, M., 2020. Ekstraksi Antioksidan Daun Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) dengan Metode Ultrasound-Assisted Extraction. *Skripsi*. S.T. Fakultas Teknologi Industri, Universitas Pertamina, Jakarta.
- [14] Saija A .et al., 1995. Flavonoids as Antioxidant Agents : Importance of Their Interaction with Biomembranes. *Free Radic and Med.* 19(4), 481-486.
- [15] Novi, F.U., 2020. *Potensi Antioksidan dari Biji Kopi Robusta 9 Daerah di Pulau Jawa*, Edisi pertama. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia,71.
- [16] Gan, J., Feng, Y., He, Z., Li, X., and Zhang, H. 2017. Correlations between Antioxidant Activity and Alkaloids and Phenols of Maca (*Lepidium meyenii*). *Hindawi Journal of Food Quality*. 2017(1): 1-10.