

Analisis Kapasitas Antioxidant Minuman Sumber Vitamin C

Antioxidant Capacity Analysis of Vitamin C Source Drink

Fahrul Rozi^{1*}, Chaidir Masyhuri Majiding¹, Muhammad Nuzul Azhim Ash Siddiq¹, Karera Aryatika¹, Ika Wiryawirawanti¹

¹Prodi Gizi, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia.

*Corresponding Author: fahrulrozi13@fkm.unmul.ac.id

Abstract

Background: Antioxidant is a reductant that can provide an electron to inhibit oxidation reaction by binding free radicals and molecules highly reactive. Through this ability, antioxidants can prevent several pathological conditions in humans such as several non-communicable diseases. Therefore, this research was designed to determine the process of analyzing the antioxidant content of antioxidant source samples.

Objectives: This study aims to analyze antioxidant activity on food sources of antioxidant and to find out the method that was used for analyzing antioxidant activity of the food source.

Methods: This research was conducted on December 15, 2021, at the Biochemistry Laboratory, Department of Community Nutrition, IPB University. The materials used in this study included a health drink as a source of vitamin C (You C 1000 Lemon Water; containing 1000 mg of vitamin C), a standard ascorbic acid solution (1 mg/mL), DPPH, methanol, and distilled water. The equipment used included volumetric flasks, micropipettes, Mohr pipettes and bulbs, measuring cups, a vortex mixer, a spectrophotometer, cuvettes, tissue paper, and a closed cabinet. The method used to measure antioxidant activity was the DPPH method.

Results: The result of this study showed that the standard measurement between 0.5-10 mg/dL concentration indicated an ideal absorbance value (0.289-0.701). The higher of the concentration on the standard, the absorbance value decreases, the more electrons donated by ascorbic acid to make DPPH free radicals more stable.

Conclusion: The highest percent inhibition was found in 0.833 mg/dL concentration (84.88%). The mean percent of inhibition in sample was 83.41%.

Keywords

Antioxidant, DPPH, Vitamin C

Abstrak

Latar Belakang: Antioksidan adalah suatu reduktan yang dapat memberikan elektron untuk menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas yang sangat reaktif. Melalui kemampuannya ini, antioksidan dapat mencegah berbagai kondisi patologis pada manusia seperti beberapa penyakit tidak menular, antara lain penyakit jantung, kanker, diabetes melitus, hipertensi, dan sebagainya. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengetahui proses analisis kandungan antioksidan dari sampel yang merupakan sumber antioksidan.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan pada bahan pangan yang merupakan sumber antioksidan serta mengetahui metode yang digunakan untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari bahan pangan tersebut.

Metode: Penelitian ini dilakukan pada tanggal 15 Desember 2021 di Laboratorium Biokimia, Departemen Gizi Masyarakat, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi minuman kesehatan sebagai sumber vitamin C (You C 1000 Lemon Water; mengandung 1000 mg vitamin C), larutan standar asam askorbat (1 mg/mL), DPPH, metanol, dan air suling. Alat yang digunakan antara lain labu ukur, mikropipet, pipet Mohr dan bola hisap, gelas ukur, vortex mixer, spektrofotometer, kuvet, tisu, dan lemari tertutup. Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode DPPH.

Hasil: Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pengukuran standar pada konsentrasi 0,5–10 mg/dL menghasilkan nilai absorbansi yang ideal (0,289–0,701). Semakin tinggi konsentrasi pada standar, maka nilai

<https://jurnalgiziunmul.com/index.php/inj>

absorbansi menurun, yang menunjukkan semakin banyak elektron yang didonorkan oleh asam askorbat untuk menstabilkan radikal bebas DPPH.

Kesimpulan: Persentase inhibisi tertinggi ditemukan pada konsentrasi 0,833 mg/dL yaitu sebesar 84,88%. Rata-rata persen inhibisi pada sampel adalah sebesar 83,41%.

Kata Kunci

Antioksidan, DPPH, Vitamin C

Pendahuluan

Antioksidan adalah reduktan atau senyawa yang dapat memberikan elektron (donor elektron) untuk menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul-molekul yang sangat reaktif (Flieger et al., 2021). Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya sehingga senyawa ini bersifat reaktif dalam mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron dari molekul di sekitarnya. Reaktivitas senyawa radikal bebas dapat berdampak negatif seperti kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, dan kanker (Martemucci et al., 2022). Oleh karena itu, antioksidan memainkan peran penting bagi tubuh manusia dalam menjaga kesehatan, khususnya mencegah terjadinya penyakit-penyakit tersebut.

Antioksidan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer/antioksidan enzimatis adalah antioksidan yang menghambat pembentukan senyawa radikal bebas dengan cara mengubah radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif sebelum radikal bebas tersebut bereaksi. Antioksidan ini meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase. Antioksidan sekunder/antioksidan eksternal/antioksidan non-enzimatis adalah antioksidan yang tidak diproduksi oleh tubuh dan karena itu berasal dari makanan, seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, beta karoten, isoflavon, dan sebagainya. Sementara itu, antioksidan tersier adalah antioksidan yang memperbaiki kerusakan sel jaringan akibat radikal bebas, seperti enzim perbaikan DNA dan metionin sulfoksida reduktase (Flieger et al., 2021).

Vitamin C digunakan sebagai antioksidan dalam penelitian ini. Vitamin C adalah antioksidan yang larut dalam air dan mudah

teroksidasi secara reversibel membentuk dehidro-L-askorbat serta melepaskan dua atom hidrogen, sehingga menjadikan vitamin C sebagai agen pereduksi yang kuat. Sebagai antioksidan, vitamin C bertindak sebagai donor elektron yang bentuk tereduksinya dapat dikembalikan lagi menjadi asam askorbat oleh glutathione (Gegotek & Skrzydlewska, 2022). Umumnya, vitamin C digunakan sebagai standar dalam pengujian aktivitas antioksidan.

Metode spektrofotometri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah metode untuk mengukur kapasitas antioksidan dengan menggunakan reagen berupa DPPH. Metode ini termasuk metode yang sederhana, mudah, cepat, dan hanya memerlukan sampel dalam jumlah kecil. Penangkapan hidrogen dari senyawa antioksidan oleh DPPH menjadi dasar metode ini. DPPH bertindak sebagai radikal bebas stabil yang ditangkap oleh antioksidan dari sampel, lalu dikonversi menjadi DPPH-H (bentuk tereduksi dari DPPH). Penangkapan hidrogen tersebut menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning, yang kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan hasil pengujian, semakin kuning atau semakin jernih perubahan warna yang terjadi, yang ditunjukkan oleh semakin kecil nilai absorbansi yang terukur, maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal DPPH (Baliyan et al., 2022).

Sebagian besar uji aktivitas antioksidan dilakukan melalui metode DPPH menggunakan spektrofotometri dibandingkan menggunakan HPLC atau elektroforesis karena dianggap lebih sederhana dan efisien (Akar et al., 2017). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari sumber makanan yang mengandung antioksidan dalam bentuk minuman kesehatan yang menjadi sumber vitamin C (vitamin C 1000 mg), serta untuk mengetahui metode yang digunakan

dalam menganalisis aktivitas antioksidan dari bahan pangan tersebut.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari bahan pangan. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 15 Desember 2021 di Laboratorium Biokimia, Departemen Gizi Masyarakat, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minuman kesehatan sumber vitamin C (You C 1000 Lemon Water; mengandung 1000 mg vitamin C), larutan standar asam askorbat 1 mg/mL, DPPH, metanol, dan akuades. Alat yang digunakan meliputi labu ukur, mikropipet, pipet Mohr dan bulb, gelas ukur, vortex, spektrofotometer, kuvet, tisu, dan lemari tertutup.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu pembentukan kurva standar vitamin C sebagai antioksidan dan analisis kapasitas antioksidan menggunakan metode spektrofotometri DPPH. Pembentukan kurva standar vitamin C dilakukan pada konsentrasi larutan standar asam askorbat sebesar 0,05; 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 mg/mL (Mf). Tahap ini diawali dengan perhitungan volume larutan standar asam askorbat (Vs) dengan konsentrasi 1 mg/mL (Ms) dan volume akhir larutan standar sebesar 10 mL (Vf) menggunakan rumus pengenceran molar, sehingga diketahui volume larutan standar asam askorbat yang harus ditambahkan untuk setiap konsentrasi secara berurutan yaitu 0,5; 10; 20; 40; 60; 80; dan 100 mL. Volume larutan standar asam askorbat kemudian dipipet ke dalam labu ukur, lalu ditambahkan 2 mL DPPH dan diencerkan dengan metanol. Setelah itu, larutan dalam labu ukur dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah homogen, larutan dibiarkan selama $\pm$ 30 menit dalam ruang gelap (lemari tertutup). Setelah 30 menit, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Analisis kapasitas antioksidan dimulai dengan menyiapkan blanko dan sampel. Sebanyak 2 mL DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur dan diencerkan dengan 8 mL metanol, yang kemudian digunakan sebagai blanko. Sementara itu, sampel berupa minuman kesehatan sumber vitamin C (1000

mg vitamin C) diencerkan satu kali dengan penambahan akuades sehingga diperoleh lima sampel hasil pengenceran dan satu sampel tanpa pengenceran, sehingga total terdapat enam sampel dengan konsentrasi berbeda. Perbandingan sampel dan akuades yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:9. Setelah itu, 1 mL sampel dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan akuades sesuai dengan perbandingan. Selanjutnya, ditambahkan 7 mL metanol dan 2 mL DPPH ke dalam gelas ukur. Sampel kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah homogen, sampel dibiarkan selama $\pm$ 30 menit dalam ruang gelap (lemari tertutup). Setelah 30 menit, absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 517 nm dan kapasitas antioksidan atau persentase inhibisi dari suatu bahan pangan dapat ditentukan (Baliyan et al., 2022).

Hasil

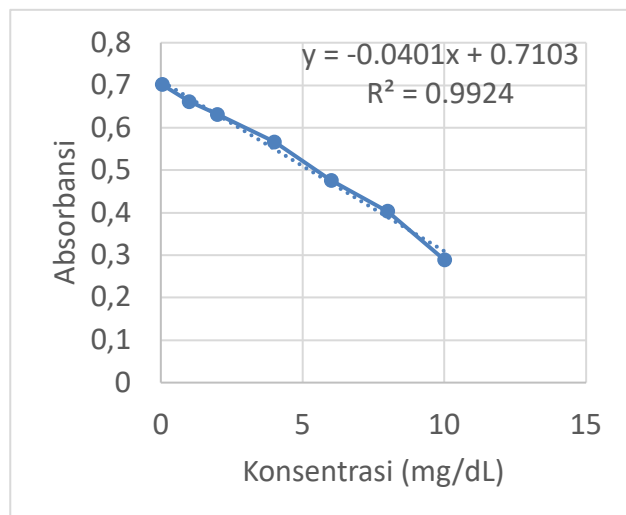
Hasil pengukuran aktivitas antioksidan minuman sumber vitamin C diawali dengan mengukur standar antioksidan. Tabel 1 berikut menunjukkan hasil pengukuran standar antioksidan. Berikutnya pada Tabel 2 ditunjukkan aktivitas antioksidan sampel (minuman sumber vitamin C). Pada Gambar 1 ditunjukkan kurva standar antioksidan.

Tabel 1. Hasil pengukuran standar antioksidan

Konsentrasi (mg/dL)	Absorbansi
0.05	0.701
1	0.661
2	0.631
4	0.566
6	0.476
8	0.403
10	0.289

Tabel 2. Aktivitas antioksidan minuman sumber vitamin C

No.	Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	% inhibisi (%)
1	1	0.625	83.39
2	1 : 1	0.833	84.88
3	1 : 2	0.555	82.89
4	1 : 3	0.416	82.65
5	1 : 4	0.333	82.28
6	1 : 9	0.166	84.39



Gambar 1. Kurva standar antioksidan

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu pembentukan kurva standar vitamin C sebagai antioksidan dan analisis kapasitas antioksidan sampel menggunakan metode spektrofotometri DPPH. Standar dalam analisis spektrofotometri sangat diperlukan untuk mendeteksi keberadaan suatu senyawa. Kurva kalibrasi atau kurva standar dalam pengujian spektrofotometri didasarkan pada hukum Lambert, di mana grafik konsentrasi dan absorbansi akan membentuk garis lurus. Kurva kalibrasi memudahkan dalam menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam sampel yang dapat dihitung menggunakan persamaan regresi $y = ax + b$, di mana y adalah absorbansi, a adalah intersep, x adalah konsentrasi, dan b adalah kemiringan garis (slope). Saat mengukur kapasitas antioksidan, diperlukan kurva standar sehingga perlu dibuat konsentrasi tertentu untuk menilai nilai absorbansinya. Hasil pengukuran kurva standar antioksidan dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 berikut akan menunjukkan hasil pengukuran standar antioksidan.

Berdasarkan hasil pengukuran standar yang diuji pada beberapa konsentrasi antara 0,05–10 mg/dL, menunjukkan nilai absorbansi yang cukup ideal, yaitu 0,289–0,701. Hasil penelitian Yoga (2015) yang menggunakan konsentrasi standar 0–70 mg/L memperoleh nilai absorbansi ideal sebesar 0,2–0,8 untuk asam askorbat terhadap radikal bebas DPPH 0,1 mM. Rentang konsentrasi untuk sampel

dipilih pada batas bawah dan atas linier serta titik tengah standar terhadap DPPH (Bolling, 2016).

Asam askorbat atau vitamin C dikenal sebagai sumber antioksidan yang sangat kuat karena mampu mendonorkan atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif lebih stabil. Oleh karena itu, asam askorbat umum digunakan sebagai standar dalam penentuan kapasitas antioksidan. Dalam penelitian Thaipong et al. (2016), asam askorbat digunakan untuk membuat larutan standar (1 mg/mL). Kurva standar antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1.

Grafik pada Gambar 1 menunjukkan kurva linier negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi, maka nilai absorbansi semakin rendah dengan nilai $R^2 = 0,9924$. Pada konsentrasi 0,05 mg/dL yang diukur pada panjang gelombang 517 nm menunjukkan nilai absorbansi yang tinggi, namun ketika konsentrasi ditingkatkan, nilai absorbansi menurun hingga 0,289 pada konsentrasi 10 mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa lebih banyak elektron didonorkan oleh asam askorbat untuk menstabilkan radikal bebas DPPH seiring perubahan warna dari ungu menjadi semakin pudar akibat hilangnya sinyal resonansi paramagnetik dari radikal bebas atau Electron Paramagnetic Resonance (EPR). Kurva standar ini digunakan untuk mengukur sampel yang masih berada dalam rentang tersebut.

Penilaian aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan menggunakan metode DPPH. Sampel yang digunakan mengandung vitamin C dan merupakan sumber antioksidan. Prinsip metode ini adalah bahwa radikal kromogen ungu (DPPH) akan direduksi oleh vitamin C dalam sampel, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning pucat. Kemampuan antioksidan sampel dalam mereduksi DPPH dievaluasi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515–528 nm (Lugemwa et al., 2020). Pelarut yang digunakan untuk melarutkan DPPH dalam penelitian ini adalah metanol. DPPH hanya dapat larut dalam senyawa organik, seperti alkohol (Karadag et al., 2019), dan metanol merupakan bentuk dari alkohol. Dalam penelitian ini juga dilakukan pengenceran

sampel dengan beberapa perbandingan. Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan variasi konsentrasi sampel.

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,625 mg/mL, 0,833 mg/mL, 0,555 mg/mL, 0,416 mg/mL, 0,333 mg/mL, dan 0,166 mg/mL. Tujuan penggunaan konsentrasi yang bervariasi adalah untuk mengetahui konsentrasi terbaik dari aktivitas antioksidan dan membuat persamaan (grafik) aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada sampel dinilai menggunakan persen inhibisi. Persen inhibisi adalah persentase radikal bebas (DPPH) yang dapat ditangkap oleh sampel. Semakin tinggi persen inhibisi menunjukkan semakin banyak DPPH yang dapat direduksi oleh antioksidan dalam sampel. Persen inhibisi sebanding dengan konsentrasi antioksidan. Tabel 2 di bawah ini menunjukkan aktivitas antioksidan sampel menggunakan persen inhibisi.

Konsentrasi sampel dalam Tabel 2 mengalami penurunan bila dilihat dari urutan ke-1 hingga ke-6. Hal ini disebabkan oleh faktor pengenceran. Semakin besar faktor pengenceran, maka konsentrasi sampel semakin menurun (Fatiha & Abelkader, 2019). Secara prinsip, semakin tinggi persen inhibisi maka semakin banyak DPPH yang akan direduksi (baik). Idealnya, persen inhibisi dalam Tabel 2 menurun jika diurutkan dari ke-1 hingga ke-6 karena konsentrasi sampel juga menurun. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa persen inhibisi mengalami fluktuasi. Kondisi ini ditandai dengan peningkatan persen inhibisi pada konsentrasi sampel urutan ke-2 dan ke-6. Persen inhibisi tertinggi berdasarkan Tabel 2 terdapat pada konsentrasi 0,833 mg/dL, yaitu sebesar 84,88%.

Rata-rata persen inhibisi sampel pada beberapa konsentrasi dalam Tabel 2 adalah 83,41%. Persen inhibisi ini dikategorikan tinggi. Menurut Benmehdi et al. (2017), vitamin C memiliki efek antioksidan yang potensial dengan nilai IC₅₀ pada konsentrasi 0,0331 mg/mL. Dalam penelitiannya, konsentrasi vitamin C sebesar 0,5 mg/mL dapat menghasilkan persen inhibisi sebesar 98%. Secara umum, aktivitas antioksidan yang normal ditunjukkan dengan penurunan persen inhibisi pada Tabel 2 seiring dengan penurunan

konsentrasi sampel. Namun, persen inhibisi pada sampel menunjukkan hasil yang fluktuatif. Karadag et al. (2019) menyatakan bahwa penurunan persen inhibisi pada sampel dengan konsentrasi tinggi menunjukkan adanya reaksi antioksidan yang terjadi antara DPPH dan sampel. Metode DPPH merupakan metode pengukuran kapasitas antioksidan yang didasarkan pada transfer elektron (ET). Kemampuan mendeteksi potensi antioksidan ini berdasarkan pada transfer satu elektron untuk mereduksi komponen tertentu, termasuk logam, karbonil, dan radikal.

Metode transfer elektron ini didasarkan pada proses deprotonasi dan ionisasi dari antioksidan. Potensial ionisasi akan menurun dengan meningkatnya pH dan kapasitas donor elektron (Lemanska et al., 2018). Dengan demikian, hasil persen inhibisi yang berbeda (fluktuatif) pada urutan ke-1 hingga ke-6 dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan faktor: a) kontaminasi oleh zat lain, terutama ion logam yang juga ditangkap oleh DPPH dan memengaruhi hasil persen inhibisi, b) perubahan pH dalam sampel juga akan mempengaruhi nilai absorbansi (Ulusoy et al., 2021). Selain itu, pencahayaan dan keberadaan oksigen menjadi keterbatasan dalam metode DPPH. Sistem pencahayaan dan keberadaan oksigen selama penelitian dibatasi (tidak ideal), sehingga dapat menjadi faktor penyebab perbedaan fluktuatif persen inhibisi pada beberapa konsentrasi sampel (Gulcin & Alwasel, 2023).

Kesimpulan

Aktivitas antioksidan dapat diukur melalui persentase inhibisi menggunakan metode spektrofotometri DPPH. Standar dalam analisis spektrofotometri sangat diperlukan untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam sampel yang nilai absorbansinya akan diukur. Berdasarkan hasil pengukuran standar antioksidan pada beberapa konsentrasi, nilai absorbansinya tergolong cukup ideal. Semakin tinggi konsentrasi standar, semakin rendah nilai absorbansinya, menandakan bahwa semakin banyak elektron yang disumbangkan oleh asam askorbat untuk menstabilkan radikal bebas DPPH. Hasil penelitian terhadap aktivitas antioksidan menunjukkan nilai persen inhibisi

yang berfluktuasi. Kondisi ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti kontaminasi dengan zat lain, perubahan pH pada sampel, sistem pencahayaan, dan keberadaan oksigen. Rata-rata persen inhibisi dari sampel adalah sebesar 83,41%.

Ucapan Terima Kasih

Para penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, IPB University atas kesempatan dan izin yang telah diberikan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini.

Daftar Rujukan

- Akar, Z., Küçük, M., Doğan, H. (2017). A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 32 (1): 640-647.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, RP., Chang, CM. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of ficus religiosa. *Molecules*, 27(4):1326.doi: <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules27041326>.
- Benmehdi, H., Behilil, A., Memmou, F., Amrouche, A. (2017). Free radical scavenging activity, kinetic behaviour and phytochemical constituents of *Aristolochia clematitis* L. Roots. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1402-S1408.
- Bolling, B. W. (2016). Assay dilution factors confound measures of total antioxidant capacity in polyphenol-rich juices. *J Food Sci*, 77(2):69-75.
- Gulcin, I., Alwasel, SH. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*. 11(8),2248.doi: <https://doi.org/10.3390/pr11082248>.
- Fatiha M., Abdelkader, T. (2019). Study of antioxidant activity of pyrimidinium betaines by DPPH radical scavenging method. *J Anal Pharm Res*.8(2):33-36,doi: 10.15406/japlr.2019.08.00308.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: classification, natural sources, activity/capacity, measurement, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14,4135.doi: <https://doi.org/10.3390/ma14154135>.
- Gegotek, A., Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory activity of ascorbic acid. *Antioxidants*, 11(10),1993.doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>.
- Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S. (2019). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analysis Methods*, 2:41-60 doi: 10.1007/s12161-008-9067-7.
- Lemanska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zielinski, R. (2018). The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(7):869-81.doi:10.1016/S0891-5849(01)00638-4
- Lugemwa, FN., Snyder, AL., Shaikh, K. (2020). Determination of radical scavenging activity and total of wine and spices: A randomized study. *Antioxidants*. 2:110-121;doi: 10.3390/antiox2030110.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., D'Allesandro, AG. (2022). Free radical properties, sources and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2),48-47. doi: <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. (2016). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Composition and Analysis*. 19:669-675.
- Ulusoy, H., Ceylan, S., Peker, H. (2021). Determination of antioxidant and antimicrobial activity of sweetgum (*Liquidambar orientalis*) leaf, a medicinal plant. *Polimeros*. 31(2), e2021015, 2021, doi: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.04221>

Yoga, I. B. K. W. (2015). Penentuan konsentrasi optimum kurva standar antioksidan; asam galat, asam askorbat dan trolox® terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0,1 mM.

Proceedings Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA V. Universitas Udayana-Bali.