

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KOMPONEN BIOAKTIF SEMANGGI AIR (*MARSILEA CRENATA*)

*Nurjanah, Aulia Azka, Asadatun Abdullah*

*Institut Pertanian Bogor, Bogor*

*Email: inun\_thp10@yahoo.com*

### ABSTRACT

Water clover (*Marsilea crenata*) is one type of aquatic plants. Plants that fall into these ferns are found in the rice field, ponds, lakes, swamps and rivers. This plant has a very distinctive morphology of its leaves resemble an umbrella shape that is composed of four petals facing child leaves. In the area of young clover Java is widely used as food. Utilization of clover water not only as food, water clover leaves and stems can also be used as drug . A research about peculiar properties of water clover for human health is very important to do, like antioxidant activity assay and qualitative bioactive compounds assay. The objectives of this research were to determine content, chemical compounds (water, lipid, protein, ash and crude fiber), antioxidant activity and bioactive compounds of water clover. Methods that used in this research were proximate analysis, quantitative antioxidant activity assay using DPPH method, and phytochemical method. Water clover planted first in Laboratorim Characteristics of Raw Water Results, Aquatic Product Technology, FPIK, IPB. Crude extracts from water clover have antioxidant activity that measured as IC50 value. The IC50 value from chloroform extract, ethyl acetate extract, and methanol extract of water clover were 1285,39 ppm; 915,03 ppm dan 634,73 ppm, respectively. The crude extracts of water clover contained 6 bioactive compounds, i.e alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, carbohydrate, reducing sugar and free amino acid. These compounds suspected have positive physiology functions for human health, so that water clover can be used for raw material of nutraceutical.

Keywords: antioxidant activity, bioactive compound, water clover (*Marsilea crenata*)

### PENDAHULUAN

Semanggi air (*Marsilea crenata*) merupakan salah satu jenis tumbuhan air yang termasuk ke dalam paku-pakuan dan banyak ditemukan pada pematang sawah, kolam, danau, rawa, dan sungai. Tumbuhan ini memiliki morfologi yang sangat khas yaitu bentuk daunnya menyerupai payung yang tersusun dari empat kelopak anak daun yang berhadapan. Di daerah Jawa daun semanggi muda banyak digunakan sebagai bahan pangan. Semanggi muda banyak digunakan sebagai campuran pecel di daerah Surabaya (Afriastini 2003).

Pemanfaatan semanggi air tidak hanya

sebagai bahan pangan saja, daun dan batang semanggi juga dapat digunakan sebagai peluruh air seni (Afriastini 2003). Jacob *et al* (2010) menyatakan bahwa pada tanaman semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid.

Saat ini penelitian mengenai semanggi air masih belum banyak dilakukan. Salah satu informasi penting yang belum diketahui masyarakat adalah aktivitas antioksidan pada semanggi air. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas. Tubuh manusia secara alami memiliki sistem

antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas secara berkelanjutan. Apabila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan tambahan yang diperoleh dari asupan bahan makanan yaitu vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan karotin (Erguder *et al.* 2007). Rohman dan Riyanto (2005) menyatakan bahwa antioksidan dari daun kemuning dapat mencegah penyakit karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan dini.

Mengingat pentingnya fungsi antioksidan bagi tubuh manusia, maka diperlukan suatu penelitian mengenai aktivitas antioksidan yang terdapat pada semanggi air. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan zat gizi (air, lemak, protein, abu, karbohidrat, dan serat kasar), aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif yang terkandung dalam semanggi air.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2010. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Karakteristik Bahan Baku, Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Laboratorium Biologi Hewan, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas bahan utama dan bahan pembantu. Bahan utama dalam penelitian ini yaitu daun dan batang semanggi air. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk analisis proksimat meliputi akuades, kristal  $K_2SO_4$ , kjeltab jenis HgO, larutan  $H_2SO_4$  pekat, larutan  $H_2O_2$ , asam borat ( $H_3BO_3$ ) 4% yang mengandung indikator *bromcherosol green* 0,1% dan *methyl red* 0,1% (2:1), larutan NaOH- $Na_2S_2O_3$ , larutan HCl 0,2 N, pelarut lemak (n-heksana), larutan HCl 10%, larutan  $AgNO_3$  0,1N, larutan  $H_2SO_4$  1,25%, dan larutan NaOH 1,25%. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak semanggi air, kristal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol, antioksidan sintetik BHT (*Butylated Hydroxytoluena*) sebagai pembanding. Bahan-bahan yang

dibutuhkan untuk uji fitokimia meliputi pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff (uji alkaloid), kloroform, anhidrat asetat, asam sulfat pekat (uji steroid), serbuk magnesium, amil alkohol (uji flavonoid), air panas, larutan HCl 2 N (uji saponin), etanol 70%, larutan  $FeCl_3$  5% (uji fenol hidrokuinon), pereaksi Molisch, asam sulfat pekat (uji Molisch), pereaksi Benedict (uji Benedict), pereaksi Biuret (uji Biuret), dan larutan Ninhidrin 0,1% (uji Ninhidrin).

Alat-alat yang digunakan antara lain desikator, tanur pengabuan, labu kjeldal, kondensor, buret, erlenmeyer, alat soxhlet, *shaker*, vakum evaporator, botol ekstrak, *freezer*, inkubator, dan spektrofotometer UV-VIS Hitachi U-2800.

Penelitian ini diawali dengan penanaman semanggi air selama 3 minggu. Kemudian dilakukan pemetikan daun dan batang semanggi air. Setelah itu dilakukan analisis proksimat meliputi kadar air, abu, protein, lemak, dan serat kasar. Selanjutnya dilakukan ekstraksi komponen bioaktif dengan ekstraksi bertingkat. Setelah itu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*diphenylpicrylhydrazyl*) dan tahap terakhir yaitu uji fitokimia meliputi uji alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, molisch, benedict, biuret, dan ninhidrin.

Uji aktivitas antioksidan pada tiga ekstrak semanggi air yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, dilakukan menggunakan metode uji DPPH. Metode uji DPPH merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan efisiensi kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan (Molyneux 2004). Metode pengujian ini berdasarkan pada kemampuan substansi antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH).

Salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH adalah *efficient concentration 50 value* ( $EC_{50}$  value) atau biasa dikenal dengan *inhibition concentration 50 value* ( $IC_{50}$  value). Nilai ini dapat

didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux 2004). Suatu zat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat bila nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan kurang dari 200 ppm (Blois 1958).

Ekstrak kasar hasil ekstraksi semanggi air menggunakan pelarut kloroform p.a (non polar), etil asetat p.a (semi polar), dan metanol p.a (polar) diuji komponen bioaktifnya menggunakan uji fitokimia. Fitokimia merupakan senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan dan dapat memberikan kesehatan pada tubuh manusia (Hasler 1998). Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terdapat pada setiap ekstrak kasar semanggi air. Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, uji Molisch, uji Benedict, uji Biuret, dan uji Ninhidrin.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Uji Proksimat.** Air merupakan komponen yang penting dalam bahan makanan, karena air dapat memberikan pengaruh pada penampakan, tekstur, serta cita rasa. Bahkan di dalam makanan kering sekalipun, terkandung air dalam jumlah tertentu. Sayuran biasanya memiliki kadar air yang lebih tinggi dari pada daging atau ikan. Semanggi air memiliki kadar air yang cukup tinggi yaitu sebesar 82,59%. Yacoeb *et al* (2010) menyatakan bahwa kadar air semanggi sebesar 89,02%. Tingginya kadar air semanggi air ini dapat dipengaruhi oleh habitatnya di perairan dan bagian tubuhnya yang memiliki rongga.

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Bahan makanan terdiri dari 96% bahan organik dan air. Kadar abu semanggi air sebesar 1,72%. Nilai kadar abu ini lebih kecil dibandingkan dengan kadar abu semanggi air penelitian Yacoeb *et al* (2010) sebesar 2,1%. Perbedaan nilai abu ini diduga disebabkan oleh perbedaan kondisi lahan.

Lemak merupakan zat yang penting dan merupakan sumber energi yang lebih efektif bagi tubuh dibandingkan karbohidrat dan protein. Lemak memberi cita rasa dan memperbaiki tekstur pada makanan juga sebagai sumber pelarut bagi vitamin A, D, E, dan K (Winarno 2008). Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan, semanggi air mengandung lemak sebesar 0,36%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan kadar lemak hasil penelitian Kristiono (2009) sebesar 0,27%. Perbedaan kadar lemak ini diduga disebabkan oleh umur panen.

Semanggi air mengandung kadar protein sebesar 1,91%. Nilai protein ini lebih kecil dibandingkan dengan kadar protein hasil penelitian Yacoeb *et al* (2010) yaitu sebesar 4,35%. Protein adalah sumber asam-asam amino yang mengandung unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak dan karbohidrat. Tubuh membutuhkan asam amino esensial yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan hanya bisa didapatkan melalui makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Protein berfungsi sebagai bahan dasar pembentuk sel-sel dan jaringan tubuh (Winarno 2008).

Berdasarkan hasil analisis, semanggi air memiliki kandungan serat kasar sebesar 1,96%. Kandungan serat ini lebih kecil dibandingkan dengan kandungan serat kasar hasil penelitian Yacoeb *et al* (2010) sebesar 2,28%. Sumber serat yang paling baik terdapat pada sayuran bila dibandingkan dengan bahan pangan lainnya.

Hasil perhitungan *by difference* memberikan nilai bahwa karbohidrat yang terdapat pada semanggi air sebesar 11,46%. Karbohidrat memegang peranan penting dalam alam karena karbohidrat merupakan sumber energi utama bagi hewan dan manusia. Semua karbohidrat tersusun atas unsur C, H, dan O (Winarno 2008). Nilai karbohidrat semanggi air tinggi karena pada kloroplas daun terkandung amilum yang tinggi.

**Ekstraksi Senyawa Bioaktif.** Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen zat aktif suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan dari proses ini adalah

untuk mendapatkan bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Harborne 1984). Hasil ekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda, akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda-beda pula. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan jumlah sampel awal yang diekstrak dan dinyatakan dalam persen.

Komponen bioaktif yang paling banyak terkandung dalam semanggi air merupakan komponen bioaktif yang memiliki sifat polar (Gambar 1). Komponen bioaktif semanggi air yang bersifat non polar dan semipolar terdapat dalam jumlah yang lebih kecil. Hasil ekstrak yang diperoleh akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel (Harborne 1984).

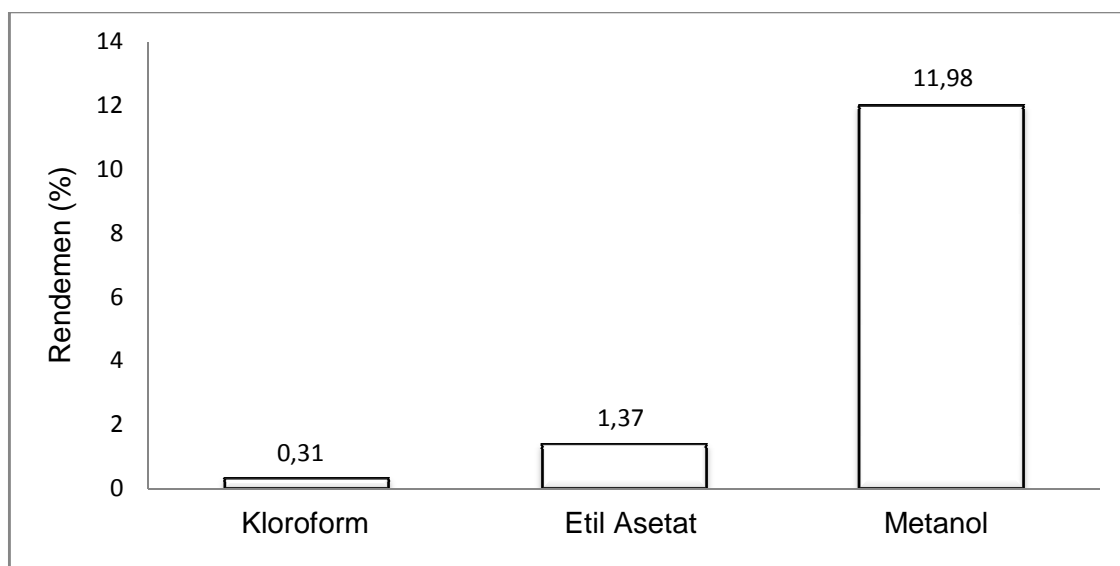
Hasil penelitian Salamah *et al.* (2008) menunjukkan bahwa maserasi dengan jenis pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda pula. Pernyataan tersebut mendukung hasil penelitian ini, kadar komponen bioaktif yang

bersifat polar, semipolar dan nonpolar terdapat dalam jumlah yang berbeda-beda. Hal ini terjadi karena pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda-beda bergantung tingkat kepolarannya dan tingkat ketersediaanya dalam bahan yang diekstrak.

#### **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar.**

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kloroform, etil asetat dan metanol semanggi air berturut-turut mempunyai  $IC_{50}$  sebesar 1285,39 ppm; 915,03 ppm dan 634,73 ppm. Aktivitas antioksidan dari ketiga ekstrak ini tergolong lemah jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan BHT sebagai pembanding, yaitu 4,91 ppm, yang tergolong sebagai antioksidan dengan aktivitas inhibisi yang kuat jika disesuaikan dengan kriteria Blois (1958).

Ekstrak kasar metanol merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (Tabel 1), namun aktivitas antioksidan ekstrak metanol masih tergolong lemah karena nilai  $IC_{50}$ -nya jauh lebih besar dari 200 ppm. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak yang diuji masih berupa ekstrak kasar, sehingga perlu dilakukan proses pemurnian. Ekstrak kasar ini masih mengandung senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan.



**Gambar 1.** Nilai rata-rata rendemen ekstrak kasar semanggi air

**Tabel 1 Hasil uji aktivitas antioksidan**

Sampel	% Inhibisi				IC <sub>50</sub> (ppm)
	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm	
BHT	12,55	23,67	79,37	89,45	4,91
Ekstrak Kloroform	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1285,39
	29,56	33,00	37,07	40,74	
Ekstrak Etil Asetat	34,39	40,22	44,38	47,12	915,03
Ekstrak Metanol	42,95	44,33	49,99	53,63	634,73

**Tabel 2 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar semanggi air**

Uji Fitokimia	Jenis Pelarut			Standar (warna)
	Kloroform	Etil Asetat	Metanol	
Alkaloid:				
a. Dragendorff	-	-	-	Endapan merah atau jingga
b. Meyer	-	-	+	Endapan putih kekuningan
c. Wagner	-	-	-	Endapan coklat
Steroid/triterpenoid	+	+	-	Perubahan dari merah menjadi biru/hijau
Flavonoid	+	+	+	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau
Saponin	-	-	-	Terbentuk busa
Fenol Hidrokuinon	-	-	-	Warna hijau atau hijau biru
Molisch	+	+	+	Warna ungu antara 2 lapisan
Benedict	-	-	+	Warna hijau/kuning/endapan merah bata
Biuret	-	-	-	Warna ungu
Ninhidrin	-	-	+	Warna biru

Berdasarkan hasil perhitungan, rata-rata kemampuan menghambat radikal bebas terendah terdapat pada konsentrasi 200 ppm, yaitu 29,56% untuk ekstrak kloroform, 34,39% untuk ekstrak etil asetat, 42,95% untuk ekstrak metanol. Rata-rata kemampuan menghambat radikal bebas tertinggi terdapat pada konsentrasi 800 ppm, yaitu 40,74% untuk ekstrak kloroform, 47,38% untuk ekstrak etil asetat, dan 53,63% untuk ekstrak metanol. Semakin tingginya konsentrasi ekstrak kasar semanggi air yang digunakan menghasilkan persentase penghambatan radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Qian dan Nihorimbere (2004), yang menyatakan bahwa persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Nilai IC<sub>50</sub> akan semakin besar jika ekstrak yang terlarut pada pelarut yang digunakan semakin sedikit. Hal ini mengisyaratkan bahwa perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode pengujian lainnya yang universal, baik untuk komponen bioaktif yang bersifat polar, semipolar, ataupun non polar. Metode uji DPPH

merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok bagi komponen antioksidan yang bersifat polar, karena kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol ataupun metanol seperti yang dikemukakan oleh Molyneux (2004); Amrun dan Umiyah (2005).

**Senyawa Fitokimia.** Hasil pengujian fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol semanggi air mengandung komponen bioaktif yang lebih banyak. Komponen bioaktif pada ekstrak metanol meliputi alkaloid, flavonoid, karbohidrat, gula pereduksi dan asam amino. Komponen bioaktif yang terdeteksi pada ekstrak etil asetat dan kloroform meliputi komponen flavonoid, steroid, dan karbohidrat.

Alkaloid pada umumnya mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom hidrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid pada ekstrak kasar semanggi air diduga memiliki kandungan antioksidan sama seperti jenis alkaloid yang ditemukan oleh Ayoola *et al.* (2008) juga menunjukkan bahwa *C. papaya* dan *V. amygdalina* memiliki

aktivitas antioksidan. Hanani *et al.* (2005) juga menyatakan bahwa senyawa kimia dalam spons yang mempunyai aktivitas antioksidan secara kualitatif dan lanjutan yaitu alkaloid. Salah satu senyawa alkaloid, yaitu *solasodine* telah diidentifikasi sebagai bahan yang pertama kali digunakan dalam menghasilkan obat steroidal (Maxwell *et al.* 1995).

Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa komponen triterpenoid/steroid terdeteksi pada ekstrak kasar kloroform dan etil asetat semanggi air. Steroid terdeteksi pada ekstrak kasar kloroform dan etil asetat karena prekursor dari pembentukan triterpenoid/steroid adalah kolesterol yang bersifat non polar (Harborne 1984), sehingga diduga triterpenoid/steroid dapat larut pada pelarut organik (non polar).

Pada ketiga ekstrak kasar semanggi air uji flavonoid memberikan hasil positif (+), ditandai dengan warna kuning pada lapisan amil alkohol. Pada tumbuhan, flavonoid berbentuk glikosida dan dapat berfungsi untuk melindungi tumbuhan dari sinar UV. Pada manusia flavonoid berfungsi sebagai stimulan pada jantung, diuretik, menurunkan kadar gula darah, dan sebagai anti jamur (Zabri *et al.* 2008). Selain itu, flavonoid juga memiliki fungsi sebagai antibakteri, anti-inflamasi, antitumor, antialergi, dan mencegah osteoporosis. Hal ini terbukti dari hasil penelitian Al-Meshal *et al.* (1985).

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa komponen triterpenoid/steroid terdeteksi pada ekstrak kasar kloroform dan etil asetat semanggi air. Steroid terdeteksi pada ekstrak kasar kloroform dan etil asetat karena prekursor dari pembentukan triterpenoid/steroid adalah kolesterol yang bersifat non polar (Harborne 1984), sehingga diduga triterpenoid/steroid dapat larut pada pelarut organik (non polar).

Karbohidrat merupakan sumber energi utama bagi manusia dan hewan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Karbohidrat dibentuk melalui proses fotosintesis pada tanaman.

Pada ketiga ekstrak kasar semanggi air uji Molisch juga memberikan hasil positif (+), hal ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak kasar semanggi air memiliki kandungan karbohidrat. Reaksi positif (+) ini ditandai dengan adanya warna ungu antara dua lapisan.

Gula pereduksi merupakan kelompok gula atau karbohidrat yang dapat mereduksi senyawa pengoksidasi. Monosakarida akan segera mereduksi senyawa-senyawa pengoksidasi seperti ferisianida, hidrogen peroksida, atau ion kupri (Cu<sup>2+</sup>) (Winarno 2008). Hasil pengujian gula pereduksi menggunakan pereaksi Benedict menunjukkan bahwa hanya ekstrak kasar metanol semanggi air yang positif mengandung gula pereduksi.

Hasil pengujian asam amino dengan menggunakan pereaksi Ninhidrin 0,10% menunjukkan bahwa hanya ekstrak kasar metanol semanggi air saja yang positif mengandung komponen asam amino. Hasil positif (+) ini ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi warna biru. Asam amino yang terlarut pada pelarut metanol ini merupakan asam amino yang memiliki sifat polar (hidrofilik), baik yang bermuatan ataupun yang tidak bermuatan, seperti arginin, histidin, lisin (asam amino polar bermuatan), treonin (asam amino polar tak bermuatan) seperti yang dikemukakan dalam hasil penelitian Kamil *et al.* (1998). Winarno (2008) menyatakan bahwa asam amino biasanya larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut non polar seperti eter, aseton, dan kloroform.

## KESIMPULAN

Semanggi air memiliki kandungan air yang tinggi yaitu sebesar 82,59%, abu 1,72%, protein 1,91%, lemak 0,36%, karbohidrat 11,46%, dan serat kasar 1,96%. Ekstrak kasar semanggi air mengandung 6 komponen bioaktif yaitu komponen alkaloid, steroid, flavonoid, karbohidrat, gula pereduksi, dan asam amino. Ekstrak kasar metanol semanggi air memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 634,73 ppm sehingga semanggi air dapat di

dikembangkan dalam industri pangan dan farmasi.

## REFERENSI

- Afriastini Jj. 2003. *Marsilea crenata* C.Presl. Di dalam: de Winter WP, Amoroso VB, editor. *Cryptograms: Ferns and fern allies*. Bogor : LIPI
- Al-Meshal IA, Tariq M, Parmar NS, Ageel AM. 1985. Anti-inflammatory activity of the flavonoid fraction of khat (*Catha edulis* Forsk). *Agents and Actions*. 17:3-4.
- Amrun MH, Umiyah. 2005. Pengujian antiradikal bebas difenilpikril hidrazil (DPPH) ekstrak buah kenit (Chrysophyllum cainito L.) dari daerah sekitar Jember. *Jurnal Ilmu Dasar* 6(2):110-114.
- Ayoola GA, Coker HAB, Adepoju-Bello AA, Obeweya K, Ezennia EC, Atangbayila TO, Coker HAB. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *J Phar Res*. 7(3):1019-1024.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200
- Erguder BI, Avci A, Devrim E, Durak I. 2007. Effects of cooking techniques on antioxidant enzyme activities of some fruits and vegetables. *Turk J Med Sci* 37.(3):151-156.
- Hasler CM. 1998. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Tech*. 52(11):63-70.
- Harborne JB. 1984. *Phytochemical methods*. Ed ke-2. New York: Chapman and Hall.
- Kamil, Zahiruddin W, Sumaryanto H. 1998. Pengaruh metode pengolahan terhadap mutu tepung siput murbei (*Pomacea* sp.). *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 5(2):24-26.
- Kristiono SS. 2009. Analisis mikroskopis dan fitokimia vitamin semanggi air *Marsilea crenata* Presl (Marsileaceae). [skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Maxwell A, Seepersand M, Pingal R, Mootoo DR, Reynolds WF. 1995. 3-beta amino siprosolane steroidal alkaloids from *Solanum triste*. *J Natl Prod*. 58:625-628
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarinn J Sci Technol* 26(2):211-219.
- Qian H dan Nihorimbere V. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J Zhejiang Univ SCI* 2004 5(6):676-683.
- Rohman A, Riyanto S. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara in-vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 16(3):136-140.
- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijing taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2):119-132.
- Winarno. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-BRIO Press.
- Yacoeb AM, Nurjanah, Arifin M, Sulistiono W, Kristiono SS. 2010. Deskripsi histologis dan perubahan komposisi kimia daun dan tangkai semanggi (*Marsilea crenata* Presl., Marsileaceae) akibat perebusan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* XII(2):81-95
- Zabri H, Kodjo C, Benie A, Bekro JM, Bekro YA . 2008. Phytochemical screening and determination of flavonoids in *Secamone afzelii* (Asclepiadaceae) extracts. *Afr J Pure Appl Chem*. 2(8): 80-82.