

## **Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Fraction of Salak Fruit Seeds ( *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss. ) Using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Method**

**Sista Werdyani, Pinus Jumaryatno, Nur Khasanah**

Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

Correspondent email : sista.werdyani@uii.ac.id

### **ABSTRACT**

Salak seeds have been developed as a beverage, but there was still a little amount of research that focused on salak seeds. This research was conducted to find out the chemical compounds and the antioxidant activity of ethanolic extract and fraction of salak fruits seeds ( *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss. ) which have been grown extensively in Sleman Yogyakarta. Extraction was conducted using maceration, followed by fractionation using vacuum liquid chromatography. The identification of the chemical compounds contained in the ethanolic extract and fraction was performed by thin layer chromatography method, while the antioxidant activity was performed by DPPH method. Comparison of antioxidant activity was seen using IC<sub>50</sub> values. The results showed that ethanol extract and fraction contained phenol, flavonoid, and tannin. The largest antioxidant activity was found in F7 with an IC<sub>50</sub> value of 110.16 µg / ml.

**Keywords:** Antioxidant, salak fruit seeds, DPPH

### **ABSTRAK**

Biji buah salak telah banyak dikembangkan sebagai minuman kopi biji salak, namun penelitian mengenai kandungan serta manfaatnya belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol serta fraksi biji buah salak pondoh ( *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss. ) yang tumbuh di Sleman Yogyakarta. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yang dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum. Identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi kemudian dilakukan melalui metode kromatografi lapis tipis, sedangkan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Perbandingan aktivitas antioksidan dilihat menggunakan nilai IC<sub>50</sub>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi mengandung fenol, flavonoid, dan tannin. Aktivitas antioksidan terbesar terdapat pada F7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 110,16 µg/ml.

**Kata Kunci :** Antioksidan, biji buah salak pondoh, DPPH

### **Pendahuluan**

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk dari Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan senyawa turunan O<sub>2</sub>, bersifat tidak stabil dan

merupakan hasil metabolisme O<sub>2</sub> atau proses oksidasi pada sel-sel hidup (Suhartono & Setiawan, 2006). Radikal bebas dan SOR dapat menyerang lipid, protein/ enzim, karbohidrat, atau DNA di dalam sel dan jaringan sehingga dapat

*Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Fraction of Salak Fruit Seeds (Salacca Zalacca (Gaertn.) Voss.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method* 137

(Sista Werdyani, Pinus Jumaryatno, Nur Khasanah)

menyebabkan berbagai penyakit, seperti : kanker, penyakit kardiovaskular, penuaan, dan alzheimer (Hyun, et al., 2006; Kinnula & Crapo, 2004; Singh et al., 2006; Singh, et al., 2004; Smith, et al., 2000).

Perlawanan terhadap senyawa radikal di dalam tubuh dilakukan oleh senyawa yang dikenal sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut secara alami terdapat dalam tubuh kita, seperti: enzim SOD (Superoksida Dismutase), katalase, dan glutathion peroksidase (Winarsi, 2011). Perlawanan tersebut perlu diperkuat untuk mencegah terjadinya penyakit-penyakit yang tidak diinginkan, sehingga diperlukan asupan senyawa antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Penelitian-penelitian terkini banyak dilakukan untuk mengetahui senyawa antioksidan yang terkandung dalam berbagai sumber di alam. Tiga kelompok besar senyawa antioksidan adalah vitamin (C dan E), polifenol, dan karotenoid (Oroian & Escriche, 2015).

Buah salak merupakan salah satu buah yang mengandung senyawa antioksidan dan merupakan komoditas utama di Daerah Istimewa Yogyakarta, terutama di Kabupaten Sleman (BPS, 2013). Potensi salak yang cukup besar telah banyak dimanfaatkan oleh

penduduk, baik berasal dari buah maupun bijinya. Biji buah salak telah dimanfaatkan sebagai minuman dalam bentuk kopi biji salak. Kopi biji salak banyak digemari karena tidak mengandung kafein sehingga aman dikonsumsi bagi para penderita hipertensi (Adikristya, 2017).

Pemanfaatan biji salak ini menjadi penting untuk dikembangkan mengingat biji salak menempati bagian 30% dari buah salak secara keseluruhan (Rukmana, 2008). Penelusuran manfaat dapat dimulai dengan penelitian kandungan biji salak dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan biji salak. Hal ini karena buah salak maupun kulit buah salak telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Puryono et al., 2015). Penelitian sebelumnya terhadap biji buah salak yang tumbuh di Jawa Barat menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji salak mengandung tannin, quinon, monoterpen, seskuiterpen, alkaloid, dan polifenolat (Purwanto et al., 2015). Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa yang beraktivitas sebagai antioksidan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas antioksidan baik pada ekstrak etanol maupun fraksi dari biji buah salak

pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) yang tumbuh di Kabupaten Sleman.

### Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol dan fraksi biji buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.).
2. Mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi biji buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.).

### Metode Penelitian

#### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji dari buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) yang tumbuh di daerah Turi, Sleman, Yogyakarta, etanol 70%, etil asetat p.a (Merck), FeCl<sub>3</sub>, metanol p.a (Merck), n-heksan p.a (Merck), natrium karbonat, plat KLT (Merck), reagen Folin-Ciocalteu, reagen Dragendorff, AlCl<sub>3</sub>, aquades, silika gel 60 F<sub>254</sub> (Merck), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), standar vitamin C.

#### Alat

Alat yang digunakan adalah: Alat – alat gelas (Pyrex), cawan porselen,

chamber (Camag), grinder, pisau bendo, *rotary evaporator* (Heidolph), seperangkat alat kromatografi kolom, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), timbangan analitik, ultrasonikator (Branson), *UV portable*, *waterbath* (Memmert).

### Cara Kerja

#### Pembuatan Simplisia dan Serbuk Biji Salak

Pembuatan simplisia diawali dengan cara menimbang biji salak sebanyak 1 kg. Biji tersebut kemudian dicuci bersih dan dipotong menjadi 8 bagian dengan menggunakan pisau bendo. Potongan biji tersebut selanjutnya dikeringkan dalam lemari pengering selama 8 jam pada suhu 60°C. Potongan yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan alat *miller* dan kemudian diayak sehingga menghasilkan serbuk biji salak dengan ukuran yang homogen.

#### Pembuatan Ekstrak Etanol dan fraksi Biji Salak

Ekstrak etanol dibuat dengan maserasi menggunakan serbuk biji salak sebanyak 300 gram dalam toples dengan pelarut etanol 70% (perbandingan serbuk : pelarut adalah 1:10). Maserasi dilakukan dengan pengadukan secara

berkala pada suhu kamar selama dua hari dengan remaserasi setiap 24 jam. Hasil maserasi berupa maserat, disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan maserat dengan ampasnya.

Maserat yang telah disaring dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, pada suhu 60°C, kecepatan 60 rpm, dan tekanan 175 mbar. Fraksinasi kemudian dilakukan pada sebanyak 5 gram ekstrak pekat dengan kromatografi kolom cair vakum yang dicampur dengan 5 gram silika gel 60 F<sub>254</sub> hingga kering. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom yang telah diisi silika gel 60 F<sub>254</sub> padat sejumlah 15 gram sebagai fase diam. Elusi dilakukan menggunakan pelarut dengan gradien kepolaran bertingkat yaitu n-heksan 100%, n-heksan-etil asetat (3;2), n-heksan:etil asetat (2:3), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (3:2), etil asetat:metanol (2:3) dan metanol 100% dalam volume total masing-masing 50 ml, sehingga akan dihasilkan sebanyak 7 fraksi. Masing-masing fraksi yang diperoleh kemudian diletakkan dalam lemari asam hingga pelarut menguap dan diperoleh fraksi kental.

### Identifikasi Kandungan Kimia

Kandungan kimia yang diidentifikasi adalah fenol, flavonoid, tannin, dan

alkaloid. Identifikasi tersebut dilakukan menggunakan cara KLT Kromatografi lapis tipis(KLT) dengan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak nya adalah kloroform : etil asetat :asam asetat glasial dengan perbandingan 5:4:1. Bercak ditampakkan dengan reagen semprot berupa Folin-Ciocalteu, AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, dan *Dragendorff*.

### Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dihitung dengan metode DPPH. Sebanyak 2 ml larutan sampel (ekstrak dan fraksi) dengan konsentrasi 9,375 µg/ml, 18,75 µg/ml, 37,5 µg/ml, 75 µg/ml, 150 µg/ml dicampur dengan larutan stok DPPH 50 µg/mL sebanyak 2 ml. Kontrol positif yang digunakan adalah larutan vitamin C konsentrasi 0,15625 µg/ml, 0,3125 µg/ml, 0,625 µg/ml, 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml. Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (515,5 nm). Persentase aktivitas antioksidan didapat dari :  $[(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{uji}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \%$  (Doughari, 2012). Aktivitas antioksidan diketahui dengan menghitung nilai IC<sub>50</sub> yang didapat regresi linier antara konsentrasi dengan persentase aktivitas dan kemudian IC<sub>50</sub> dihitung dengan

memasukkan konsentrasi 50 dalam persamaan regresi tersebut.

### Hasil dan Pembahasan

Penelitian diawali dengan pengumpulan bahan dan determinasi tumbuhan untuk memastikan kesesuaian tanaman. Hasil determinasi menyebutkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman salak spesies *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss. Pembuatan serbuk kemudian dilakukan dengan tujuan memperkecil ukuran partikel sehingga memperbesar luas permukaan kontak antara simplisia dengan pelarutnya. Serbuk biji salak yang dihasilkan adalah 445 gram dari 1 kg biji salak segar. Serbuk kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstrak kental biji salak diperoleh sebesar 43,47 gram berwarna hitam kecoklatan dan sedikit cair dengan rendemen sebesar 14,49 %. Fraksinasi kemudian dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Rendemen fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

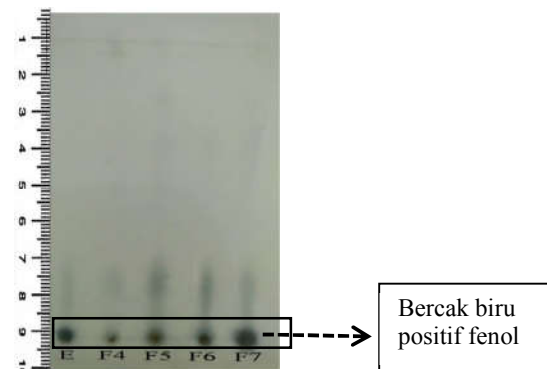
**Tabel 1.** Persen rendemen fraksi

Fraksi	Rendemen (%)
n-heksan 100% (F1)	0,17
n-heksan:Etil Asetat (3:2) (F2)	0,20
n-heksan:Etil Asetat (2:3) (F3)	0,20
Etil Asetat 100% (F4)	0,22
Etil Asetat:Metanol (3:2) (F5)	1,62
Etil Asetat: Metanol (2:3) (F6)	2
Metanol 100% (F7)	4,20

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi terbanyak adalah F7 yang *Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Fraction of Salak Fruit Seeds (Salacca* 141  
*Zalacca (Gaertn.) Voss.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method*

dielusi menggunakan methanol 100%, hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan senyawa dominan dalam ekstrak terbawa dalam fraksi methanol sehingga kepolarannya mendekati kepolaran methanol. Langkah selanjutnya adalah identifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak dan fraksi. Fraksi yang diujikan pada pengujian selanjutnya adalah fraksi 4, 5,6, dan 7 karena fraksi 1-3 memiliki rendemen yang sangat kecil sehingga tidak bisa diujikan pada pengujian selanjutnya.

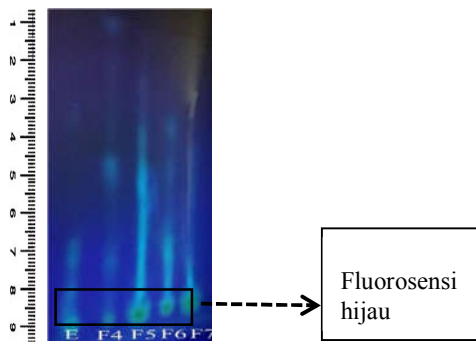
Identifikasi golongan senyawa fenol dilakukan dengan bantuan pereaksi semprot Folin Ciocalteu pada plat hasil elusi KLT. Senyawa fenol ditandai dengan warna biru tua berlatar belakang putih dilihat dengan sinar tampak setelah disemprot dengan pereaksi Folin Ciocalteu (Harborne, 1984).



**Gambar 1.** Hasil identifikasi Fenol dengan KLT menggunakan pereaksi semprot Folin Ciocalteu pada sinar tampak.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol (sebelum fraksinasi); F4; F5; F6; dan F7 positif fenol seperti terlihat pada Gambar 1.

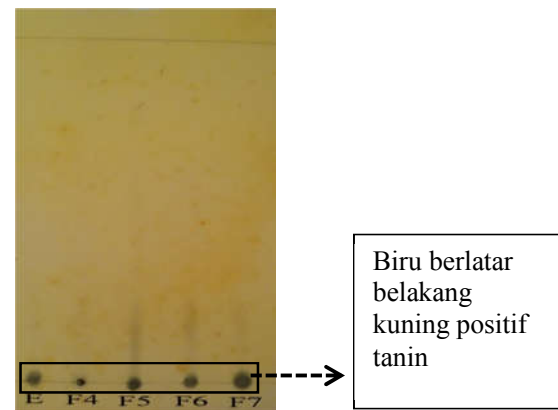
Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi semprot  $\text{AlCl}_3$ . Senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya fluoresensi hijau di bawah sinar  $\text{UV}_{366}$  pada plat KLT setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  (Harborne, 1984). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol (sebelum fraksinasi); F4; F5; F6; dan F7 mengandung senyawa fenol (Gambar 2).



**Gambar 2.** Hasil identifikasi Flavonoid dengan KLT menggunakan pereaksi semprot  $\text{AlCl}_3$  di bawah sinar  $\text{UV}_{366}$ .

Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi adanya senyawa tannin. Reaksi positif ditandai dengan warna biru berlatar belakang kuning pada plat KLT ketika diamati pada sinar tampak (Harborne, 1984). Hasil pengujian tampak pada Gambar 3

yang menunjukkan bahwa kelima senyawa positif mengandung tannin



**Gambar 3.** Hasil identifikasi Tanin dengan KLT menggunakan pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$  pada sinar tampak.

Pengujian senyawa alkaloid kemudian dilakukan dengan menggunakan *Dragendorff*, adanya senyawa alkaloid ditandai dengan bercak coklat jingga berlatar belakang kuning (Harborne, 1984). Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak ada yang mengandung alkaloid sesuai dengan yang ditampakkan pada Gambar 4.



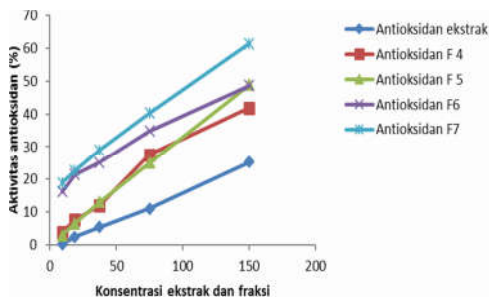
**Gambar 4.** Hasil identifikasi Alkaloid dengan KLT menggunakan pereaksi semprot *Dragendorff*, pada sinar tampak.

Rangkuman hasil identifikasi dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi Biji Salak

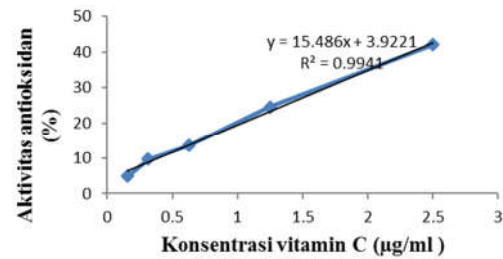
Senyawa	Ekstrak	F4	F5	F6	F7
Fenol	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-	-

Aktivitas antioksidan kemudian diketahui dengan menggunakan metode DPPH. Metode ini adalah metode yang paling sering digunakan dalam menghitung aktivitas antioksidan (Alam *et al.*, 2012). Hasil pengujian aktivitas antioksidan tampak pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi Dengan Persen Aktivitas Antioksidannya.

Pada penelitian ini juga digunakan vitamin C sebagai pembanding (kontrol positif). Hasil pengujian aktivitas antioksidan vitamin C tampak pada Gambar 6. Aktivitas antioksidan dapat dibandingkan



**Gambar 6.** Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Vitamin C dengan Persen Aktivitas Antioksidan.

dengan menghitung nilai  $IC_{50}$ . Perhitungan nilai  $IC_{50}$  dapat diamati pada tabel 3. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan berapa konsentrasi senyawa yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas 50% dalam menangkal senyawa radikal bebas DPPH. Hal tersebut menyebabkan semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi karena hanya membutuhkan senyawa yang lebih sedikit untuk menghasilkan aktivitas tinggi.

**Tabel 2.** Nilai  $IC_{50}$  Vitamin C, Ekstrak dan Fraksi Biji Salak Menggunakan Metode DPPH

Senyawa	$IC_{50}$ (µg/ml)
Vitamin C	2,98
E	293,8
F4	173,06
F5	152,59
F6	151,99
F7	110,16

Hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$  menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi adalah F7. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol. Hal ini menunjukkan bahwa semakin terpisah

senyawa maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Fraksi F7 merupakan fraksi yang diekstraksi menggunakan methanol 100% sehingga senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan pada fraksi ini memiliki kemiripan yang tinggi dengan methanol. Pada identifikasi senyawa, fraksi 7 mengandung fenol, flavonoid, dan tannin sehingga kemungkinan senyawa tersebut yang beraktivitas sebagai antioksidan.

Aktivitas antioksidan pada F7 perlu ditelusuri lebih lanjut, sehingga fraksi 7 ini perlu dipisahkan kembali senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Pemisahan lebih lanjut dapat dilakukan dengan fraksinasi lanjutan menggunakan KCV atau KLT-P. Pemisahan ini perlu dilakukan karena aktivitas antioksidan dari F7 jauh lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C.

Fraksinasi lanjutan dapat memisahkan senyawa menjadi lebih murni sehingga diharapkan aktivitas antioksidannya akan meningkat. Hal ini sejalan dengan hasil perbandingan  $IC_{50}$  ekstrak (yang mengandung senyawa lebih banyak) lebih tinggi dibandingkan dengan  $IC_{50}$  fraksi, terutama F7. Nilai  $IC_{50}$  yang lebih tinggi ini menandakan rendahnya aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dilanjutkan dengan

fraksinasi lanjutan sehingga dapat diperoleh aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dan melebihi aktivitas vitamin C.

Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan membandingkan berbagai varietas salak. Penelitian sebelumnya yang melihat aktivitas antioksidan berbagai varietas buah salak menunjukkan bahwa buah salak varietas salak pondo super memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 68,27  $\mu\text{g/ml}$ , varietas manggala memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 92,91  $\mu\text{g/ml}$ , dan varietas gula pasir memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 40,66  $\mu\text{g/ml}$ . Hal tersebut menunjukkan perbedaan varietas menyebabkan kandungan kimia yang berbeda sehingga aktivitas antioksidannya berbeda pula (Puryono *et al.* 2015).

Pengujian menyeluruh menggunakan beberapa metode untuk mengetahui aktivitas antioksidan juga perlu dilakukan. Hal ini karena pada penelitian sebelumnya yang menggunakan metode yang berbeda menghasilkan nilai aktivitas antioksidan yang berbeda pula (Ariviani & Parnanto 2013).

Penelitian lanjutan juga perlu dilakukan dengan membandingkan aktivitas antioksidan dari biji salak yang berasal dari berbagai usia. Hal ini dikarenakan adanya perubahan proporsi



biji salak seiring bertambahnya usia kematangan. Semakin matang buah salak, rasio biji semakin menurun sebagai akibat semakin besarnya rasio daging buah. Perubahan ini menyebabkan kandungan senyawa pada perbedaan usia buah salak juga mengalami perbedaan. Kandungan yang berubah seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, dan beberapa senyawa mudah menguap (Supriyadi *et al.*, 2002).

### Kesimpulan

Ekstrak etanol, F4, F5, F6, dan F7 mengandung fenol, flavonoid, dan tannin Ekstrak etanol, F4, F5, F6, dan F7 memiliki aktivitas antioksidan dengan aktivitas tertinggi adalah F7

### Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kami ucapkan kepada Universitas Islam Indonesia melalui program insentif AIPT yang telah mendanai penelitian ini.

### Pustaka

Adikristya, A., 2017, Kopi Biji Salak: Mencoba Sensasi Berbeda, *Otten Magazine*, 9 Maret 2017 didapatkan secara online di <https://majalah.ottencoffee.co.id/kopi-biji-salak-mencoba-sensasi-berbeda/>.

Alam Md. N., Bristi, N. J., and Rafiquzzaman, Md., 2012, Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant

activity, *Saudi Pharmaceutical Journal* (2013) 21, 143–152.

Ariviani, S. & Parnanto, NHR., (2013), Kapasitas Antioksidan Buah Salak (*Salacca edulis* Reinw.) Kultivar Pondoh, Nglumut dan Bali serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik Total dan Vitamin C. *Agritech*, 33(3):330.

BPS, 2013, *Statistik Hortikultura Daerah Istimewa Yogyakarta*, Badan Pusat Statistik Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta, Yogyakarta.

Doughari, JH., 2012, *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode Of Action As Potential Chemotherapeutic Agents*, Department of Microbiology, School of Pure and Applied Sciences, Federal University of Technology, Nigeria, p.1-32.

Harborne, J.B., 1984, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung, p.49,53,105,259.

Hyun, D., Hernandez, J. O., Mattson, M. P., de Cabo, R., 2006, The Plasma Membrane Redox System in Aging, *Ageing Research Reviews*, 5 (2006) 209–220.

Kinnula, V. L. and Crapo, J. D., 2004, Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. *Free Rad. Biol. & Med.*, Vol. 36, No. 6, pp. 718 – 744.

Oroian, M. and Escriche, I., 2015, Antioxidant : Characterization, natural sources, extraction, and analysis, *Food Res. Int.* , 74 (2015): 10-36.

Purwanto, N., Rismawati, E., and Sadiyah, E. R., 2015, Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss)

*Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Fraction of Salak Fruit Seeds (Salacca Zalacca (Gaertn.) Voss.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method* 145

- dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba* 2015.
- Puryono, RI., Puspitasari, E., Ningsih, IY., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Varietas Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* ( Gaertn.) Voss Varieties using DPPH, *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*; 4-5.
- Rukmana, HR., 2008, *Bertanam Buah-buahan di Pekarangan*, Kanisius, Yogyakarta, p.52.
- Singh, R.P., Sharad, S., Kapur, S., 2004, Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *J Indian Acad Clin Med*, ;5(3):219.
- Singh, U. and Jialal, I., 2006, Oxidative Stress and Atherosclerosis, *Pathophysiology* 13 (2006) 129–142
- Smith, M. A., Rottkamp, C. A., Nunomura, A., Raina, A. K., Perry, G., 2000. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1502, 139–144.
- Suhartono, E. and Setiawan, B.,2006, *Radikal bebas, antioksidan dan penyakit*, 1st ed, Pustaka Buana, Banjarbaru, p.13.
- Supriyadi, Suhardi, Suzuki, M., Yoshida, K., Muto, T., Fujita, A., and Watanabe, N. 2002. Changes in the Volatile compounds and in the Chemical and Physical Properties of Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw) Cv. *Pondoh* during Maturation. *J. Agr. Food. Chem.* (50): 7627-7633.
- Winarsi, H., 2011, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*, Kanisius, Yogyakarta, p.19,32,78-81.