

**KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
KANDUNGAN KOMPONEN BIOAKTIF PADA BIJI
HABBATUSSAUDA (*Nigella sativa L.*) DENGAN BERBAGAI
JENIS PELARUT**

TUGAS AKHIR

*Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang Sarjana
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh:

Luthfiah Nur Meina
173020138



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN

FAKULTAS TEKNIK

UNIVERSITAS PASUNDAN

BANDUNG

2022

**KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
KANDUNGAN KOMPONEN BIOAKTIF PADA BIJI
HABBATUSSAUDA (*Nigella sativa L.*) DENGAN BERBAGAI
JENIS PELARUT**

TUGAS AKHIR

*Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang Sarjana
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh :
Luthfiah Nur Meina
173020138

Menyetujui :

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping



(Ir. Yusep Ikrawan, M.Sc., Ph.D.)

(Yusuf Andriana, S.TP., M.Si., Ph.D.)

ABSTRAK

Senyawa bioaktif adalah senyawa esensial dan non esensial yang terdapat di alam, memiliki pengaruh terhadap kesehatan tubuh manusia. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Habbatussauda (*Nigella sativa L.*) adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal yang berguna untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai macam penyakit lebih dari 2000 tahun. Di Indonesia, penelitian pemanfaatan habbatussauda sebagai sumber antioksidan masih sangat jarang dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan komponen antioksidan dari tanaman habbatussauda melalui proses ekstraksi dan fraksinasi. Total fenolik dan flavonoid merupakan uji yang biasa dikaitkan dengan uji aktivitas antioksidan. DPPH merupakan metode yang biasa dilakukan untuk uji antioksidan, serta ABTS memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan DPPH. Identifikasi komponen kimia menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) untuk mendeteksi gugus fungsi dari suatu senyawa campuran. Identifikasi komponen kimia menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diantara fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi aquades ekstrak metanol biji habbatussauda memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat yaitu sebesar 1117,309 ppm dengan metode DPPH serta pada metode ABTS diperoleh sebesar 11,814 ppm. Uji fenolik total fraksi etil asetat memperoleh hasil sebesar 69,624 mgGAE/g ekstrak. Flavonoid total yang terdapat dalam fraksi etil asetat diperoleh sebesar 19,454 mgQE/g ekstrak. Komponen bioaktif diidentifikasi menggunakan FTIR yaitu senyawa alkohol, aldehid, serta fenol. Identifikasi komponen bioaktif dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) pada seluruh fraksi menunjukkan senyawa yang paling banyak terdeteksi adalah asam lemak dan turunannya, serta senyawa fenol.

Kata kunci : Bioaktif, antioksidan, habbatussauda, fraksi etil asetat, fenolik, flavonoid, FTIR, GC-MS.

ABSTRACT

Bioactive compounds are essential and non-essential compounds found in nature, which have an influence on the health of the human body. Antioxidants are compounds that can inhibit oxidation reactions. Black Seed (*Nigella sativa* L.) is one of the plants that has the potential as a herbal medicine that is useful for maintaining health and treating various diseases for more than 2000 years. In Indonesia, research on the use of Black Seed as a source of antioxidants is still very rarely done. This research was conducted to obtain antioxidant components from the Black Seed plant through extraction and fractionation processes. Total phenolic and flavonoid are tests commonly associated with antioxidant activity tests. DPPH is a commonly used method for antioxidant testing, and ABTS has a higher sensitivity than DPPH. Identification of chemical components using Fourier Transform Infra Red (FTIR) to detect functional groups of a mixed compound. Identification of chemical components using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) for dynamic separation and identification of all types of volatile organic compounds. The results showed that among the n-hexane fraction, chloroform fraction, ethyl acetate fraction, aquades fraction, Black Seed seed methanol extract had the strongest antioxidant activity, which was 1117.309 ppm with the DPPH method and 11.814 ppm in the ABTS method. The total phenolic test of the ethyl acetate fraction obtained a result of 69.624 mgGAE/g extract. The total flavonoid contained in the ethyl acetate fraction was 19.454 mgQE/g extract. The bioactive components identified using FTIR are alcohol, aldehyde, and phenol compounds. Identification of bioactive components by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) in all fractions showed that the compounds most detected were fatty acids and their derivatives, as well as phenolic compounds.

Keywords: Bioactive compounds, antioxidants, Black Seed, ethyl acetate fraction, phenolic compounds, flavonoid compounds, FTIR, GC-MS.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI	2
DAFTAR TABEL	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR GAMBAR	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR LAMPIRAN	Error! Bookmark not defined.
I PENDAHULUAN	4
1.1 Latar Belakang.....	4
1.2 Identifikasi Masalah	8
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Kerangka Pemikiran	8
1.6 Hipotesis Penelitian.....	11
1.7 Tempat dan Waktu Penelitian	12
TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
2.1 Tanaman Habbatussauda (<i>Nigella sativa L.</i>).....	Error! Bookmark not defined.
2.2 Komponen Bioaktif	Error! Bookmark not defined.
2.3 Antioksidan.....	Error! Bookmark not defined.
2.4. Fenolik.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 Flavonoid.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 Ekstraksi dan Fraksinasi.....	Error! Bookmark not defined.
2.6.1 Ekstraksi.....	Error! Bookmark not defined.
2.7 Spektrofotometri.....	Error! Bookmark not defined.
2.7.1 Pengertian Spektrofotometri	Error! Bookmark not defined.
2.7.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri	Error! Bookmark not defined.
2.7.3 Spektrofotometer UV-Vis.....	Error! Bookmark not defined.
2.7.4 Fourier Transform Infra Red (FTIR).....	Error! Bookmark not defined.

2.8 *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)*... **Error! Bookmark not defined.**

III METODOLOGI PENELITIANError! Bookmark not defined.

3.1 Bahan dan Alat Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.1.1 Bahan-bahan yang Digunakan **Error! Bookmark not defined.**

3.1.2 Alat-alat yang Digunakan **Error! Bookmark not defined.**

3.2 Metode Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.2.1 Rancangan Analisis **Error! Bookmark not defined.**

3.2.2 Rancangan Respon **Error! Bookmark not defined.**

3.3 Prosedur Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.4 Jadwal Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

IV HASIL DAN PEMBAHASANError! Bookmark not defined.

4.1 Penelitian Utama **Error! Bookmark not defined.**

4.1.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Biji Habbatussauda **Error! Bookmark not defined.**

4.1.2 Aktivitas Antioksidan **Error! Bookmark not defined.**

4.1.3 Fenolik Total **Error! Bookmark not defined.**

4.1.4 Flavonoid Total **Error! Bookmark not defined.**

4.1.5 Identifikasi Komponen Bioaktif dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) **Error! Bookmark not defined.**

4.1.6 Identifikasi Komponen Bioaktif dengan GCMS... **Error! Bookmark not defined.**

V KESIMPULAN DAN SARANError! Bookmark not defined.

5.1 Kesimpulan **Error! Bookmark not defined.**

5.2 Saran **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA13

LAMPIRANError! Bookmark not defined.

I PENDAHULUAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1.1) Latar Belakang, (1.2) Identifikasi Masalah, (1.3) Maksud dan Tujuan, (1.4) Manfaat, (1.5) Kerangka Pemikiran, (1.6) Hipotesis dan (1.7) Tempat dan Waktu.

1.1 Latar Belakang

Daya tahan tubuh manusia dapat menurun seiring dengan bertambahnya usia ataupun karena beberapa faktor resiko seperti penyakit kanker, stress psikologi, alergen, autoimun endogen, malnutrisi (Wagner dkk, 1999 dalam Prapurandina, 2010).

Data hasil Riskesdes tahun 2013 dan tahun 2018 menunjukkan adanya peningkatan prevalensi kanker di Indonesia dari 1,4% menjadi 1,49%. Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2002) dalam Prapurandina (2010) seseorang rentan terserang penyakit disebabkan karena daya tahan tubuh yang menurun. Salah satu cara untuk menjaga daya tahan tubuh adalah dengan menggunakan senyawa bioaktif atau antioksidan, hal ini menyebabkan masyarakat cenderung untuk bergaya hidup kembali ke alam (*back to nature*). Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis yang kaya akan hasil pertaniannya serta memiliki keanekaragaman tanaman yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat mencegah penyakit. Menurut Biesalski, dkk (2009) senyawa bioaktif adalah senyawa esensial dan non esensial (misalnya vitamin atau polifenol) yang terdapat di alam, menjadi bagian dari rantai makanan, dan memiliki pengaruh terhadap kesehatan tubuh manusia. Senyawa bioaktif yang disebut sebagai *nutraceuticals*,

didalam pangan berperan sebagai unsur alami dalam bahan pangan dan memberikan kesehatan diluar nilai gizi dasar bahan pangan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh yang dipicu oleh bermacam-macam faktor (Winarsi, 2007 dalam Suter 2013). Menurut Marsono (2007) dalam Suter (2013), menyatakan bahwa terdapat berbagai jenis antioksidan alami yang terdapat pada bahan pangan yaitu kelompok karotenoid dan flavonoid. Menurut Landa, dkk (2006) dalam Suseno, dkk (2013) jenis tanaman yang memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi yaitu tanaman habbatussauda.

Habbatussauda (*Nigella sativa*) atau jintan hitam adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal yang berguna untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai macam penyakit lebih dari 2000 tahun. Hal ini banyak diaplikasikan oleh orang-orang di negara-negara sekitar Laut Mediterania, dan di dunia seperti Arab, India dan Persia (Darakhshan dkk, 2015). Menurut Balitri (2009) dalam Hayulistya dkk, (2016) bahwa jintan hitam memiliki banyak manfaat terutama bagi bidang farmasi dan juga pangan, selain dapat digunakan untuk jamu atau obat herbal, jintan hitam juga digunakan dalam industri pelumatan buah-buahan, industri kecap dan bumbu masak. Sebagian lainnya digunakan oleh industri rumahan atau industri kecil. Produk pangan olahan dari bubuk habbatussauda tersebut masih belum banyak dibuat, sehingga perlu bervariasi. Salah satu produk olahan yang bisa dibuat dari habbatussauda salah permen *jelly*. Permen *jelly*

merupakan permen yang bisanya terbuat dari campuran sari buah-buahan, bahan pembentuk gel dengan bentuk fisik jernih transparan serta memiliki tekstur yang kenyal (Malik, 2010).

Menurut Yuhardin (2009) dalam Prapurandina (2010) sejak 2007 habbatussauda mulai marak digunakan di Indonesia. Produk habbatussauda sebagai obat tradisional sudah banyak beredar di masyarakat Indonesia dan beberapa produk diantaranya telah terdaftar di Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM).

Penelitian yang berkaitan dengan analisis potensi antioksidan dan komponen bioaktif pada biji habbatussauda yaitu penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air biji habbatussauda (*Nigella sativa L.*) oleh Rini, dkk (2020) diperoleh hasil bahwa tingginya aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dan ekstrak air menunjukkan adanya senyawa yang bersifat sebagai antioksidan yaitu terpenoid, saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid. Ekstrak air dan ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, dimana ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dari pada ekstrak etanol. Ekstrak etanol 80% memiliki efek antioksidan yang lebih besar dari ekstrak etanol 96% (Arista, 2013). Ekstrak n-heksan dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol (Simorangkir, 2013). Pengujian ekstrak dilakukan dengan menggunakan DPPH 1 mL 0,1 mM dalam metanol dan 1 mL larutan sampel (Sivaraj dkk., 2015 dalam Rini dkk., 2020). Pelarut yang digunakan berasal dari penelitian Septiani dkk, (2018) yaitu uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol fraksi

n-hexan serta fraksi etil asetal daun jamblang (*Syzygium cumini L.*) dengan metode DPPH.

Proses pemisahan komponen bioaktif pada tanaman dapat dilakukan dengan cara ekstraksi secara maserasi. Metode maserasi menurut Kemenkes (2013) adalah metode penyairan simplisia yang sederhana, menggunakan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1 bagian simplisia dalam 10 bagian pelarut, rendam selama 6 jam pertama sambil diaduk sesekali, diamkan selama 18 jam. Proses penyairan diulang sebanyak satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut separuhnya dari pelarut awal.

Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi yang merupakan tahapan kedua dari proses pemisahan senyawa. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pegelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolarannya. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Sehingga akan diperoleh kandungan ekstrak dari berbagai fraksi yang lebih spesifik dan dapat menunjukkan sifat kimia dan senyawa yang lebih khas dari pada ekstrak yang didapatkan pada ekstraksi awal (Sarker dkk, 2006).

Menurut Yurhadin (2009) dalam Prapurandina (2010) menyebutkan bahwa habbatussauda selain mengandung senyawa non polar seperti timokuinon, habbatussauda juga mengandung senyawa non polar yang belum diteliti detail yang berperan sebagai antioksidan, maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk lebih mengetahui kandungan antioksidan dan komponen bioaktif pada habbatussauda.

1.2 Identifikasi Masalah

Bagaimana pengaruh jenis pelarut terhadap karakteristik aktivitas antioksidan dan kandungan komponen bioaktif pada biji habbatussauda ?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi masalah diatas maksud dari penelitian ini adalah untuk melakukan analisis aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif seperti fenolik total, flavonoid total pada biji habbatussauda dengan berbagai jenis pelarut.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis pelarut pada analisis karakteristik aktivitas antioksidan dan kandungan bioaktif seperti fenolik total, flavonoid total pada biji habbatussauda serta mengidentifikasi komponen bioaktifnya.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk :

1. Meningkatkan pemanfaatan biji habbatussauda
2. Sebagai sarana informasi mengenai kandungan komponen zat bioaktif seperti fenolik total, flavonoid total, dan antioksidan dari biji habbatussauda
3. Memberi informasi mengenai manfaat biji habbatussauda yang dapat berpotensi sebagai produk pangan fungsional.

1.5 Kerangka Pemikiran

Menurut Abas dkk, (2012) dalam Herlina dkk, (2017) bahwa biji habbatussauda merupakan sumber yang berperan dalam kesehatan seperti natrium, kalsium, kalium. Tanaman ini dibudidayakan di wilayah mediteran dan berkembang di

berbagai wilayah termasuk India dan Pakistan (Abdolrahimi dkk, 2012 dalam Herlina dkk, 2017).

Menurut Hutapea (1994) dalam Rahmi (2011) menyatakan bahwa biji dan daun habbatussauda mengandung komponen bioaktif seperti saponin dan polifenol, kadungan yang dimiliki biji jintan hitam ini diantaranya: *thymoquinons*, *thymohydroquinons*, *dthymoquinone*, *thymol*, *carvacrol*, *nigellcine*, *nigellidine*, *nigellmine-N-oxide* dan *alpha-hedrin*.

Menurut Kahkonen (1999) dalam Bakri (2015) pada uji kadar total fenolik umumnya dilakukan sebagai dasar pengujian aktivitas antioksidan. Karena diketahui bahwa senyawa fenolik mampu mencegah terjadinya proses oksidasi, sehingga bila kandungan senyawa fenoliknya tinggi, maka aktivitas antioksidannya juga akan tinggi. Senyawa fenolik bertindak sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, perendam hidrogen singlet dan sebagai penghelat yang potensial.

Menurut Bakri (2015) ekstrak etanol habbatussauda (*Nigella sativa L.*) memiliki kadar total fenolik 7,97%, ekstrak n-heksan 23,81%, kadar total flavonoid ekstrak etanol 7,82% dan 9,36%.

Menurut Nergiz dkk, (1993) dalam Suseno dkk, (2013) minyak habbatussauda yang diekstrak dari tanaman jintan hitam memiliki senyawa fenolik dan mengandung tokoferol dan polifenol sebesar 340 µg/g dan 1744 µg/g.

Menurut Depkes RI (1986) dalam Bakri (2015) metode maserasi merupakan metode dingin (proses ekstraksi tanpa pemanasan), bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam sampel tidak rusak, dimana metode ini memiliki keuntungan

yaitu cara pengerjaannya mudah, alat yang digunakan sederhana, cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan.

Air, metanol, etanol, aseton dan etil asetat merupakan pelarut yang umum digunakan untuk mengekstrak dari bahan alam (Taroreh dkk, 2015). Di Indonesia, penggunaan pelarut lain seperti metanol untuk mengekstrak habbatussauda belum banyak dilakukan. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada bahan (Salamah dkk, 2015).

Fraksinasi dilakukan menggunakan n-heksan, kloroform, etil asetat, dan aquades yang masing-masing memiliki kepolaran yang berbeda-beda. N-heksan dan kloroform merupakan pelarut non polar, etil asetat adalah pelarut semi polar dan aquades adalah pelarut polar. Keempat pelarut ini memiliki nilai konstanta dielektriknya yang berbeda-beda. N-heksan merupakan pelarut yang kepolarannya paling rendah dengan nilai konstanta dielektriknya 2,0 dibandingkan dengan kloroform dengan nilai konstanta dielektriknya 4,8 serta etil asetat dengan nilai konstanta dielektriknya 6,0 dan aquades dengan nilai konstanta dielektriknya 80 (Nur dkk, 1989).

Menurut Bakri (2015) pada penetapan kadar fenolik jintan hitam ini diukur dengan menggunakan prinsip folin ciocalteu yang didasarkan pada reaksi oksidasi reduksi. Reagen folin yang terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat akan tereduksi oleh senyawa polifenol menjadi molybdenum-tungsten. Reaksi ini membentuk kompleks warna biru. Fenolik hanya terdapat pada larutan basa tetapi pereaksi folin ciocalteu dan produknya tidak stabil pada larutan basa.

Menurut Hasanah (2008) dalam Bakri (2015) pada penetapan kadar flavonoid, digunakan pembanding kuersetin, dimana kuersetin berperan melindungi sel dari serangan oksidasi.

Menurut Rulianti (2017) uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa ekstrak dalam menghambat terjadinya reaksi oksidasi. Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH.

Metode pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan pengukuran nilai absorbansi dari *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH) dan *2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid* (ABTS) menggunakan spektrofotometer. Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan, namun pengujian ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dari pada DPPH. Prosedur kerja keduanya termasuk sederhana, banyak digunakan di laboratorium penelitian dan dapat dipakai untuk menganalisa antioksidan pada makanan (Karadag dkk, 2009).

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, diduga jenis pelarut berpengaruh terhadap karakteristik aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada biji habbatussauda.

1.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Pusat Riset Teknologi Tepat Guna- Badan Riset dan Inovasi Nasional (PRTTG BRIN), Jl. Ks. Tubun No.5, Cigadung, Kecamatan Subang, Kabupaten Subang, Jawa Barat 41213. Waktu Penelitian akan dilaksanakan mulai dari bulan Februari-April 2022.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M. & Al-Rawahy, F. 2007. **Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products.** Food Chemistry, 104, 943-947.
- Anwar, K., Liling T. 2016. **Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.).** Jurnal Pharmascience. Vol. 3. No. 1.
- Akhsanita, M. 2012. **Uji Sitotoksik Ekstrak, Fraksi, Dan Sub-Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn. f.) Dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Bioassay.** Padang : Universitas Andalas.
- Alenzi. 2013. **Antioxidant : Properties of Nigella sativa.** J Mol Genet Med 7 : 77. doi : 10.4172/1747-0862.1000077.
- Andriana, Y., Xuan, T.D., Quy, T.N., Minh, T.N., Van, T.M., Viet, T.D. **Antihyperuricemia, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Tridax procumbens* L..** Foods 2019, 8, 21.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K. & Özyurt, D. 2007. **Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay.** Molecules, 12, 1496.
- Arista, M. 2013. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynous* (L.) Merr.).** Surabaya : Universitas Surabaya.
- Astarina, N. W. G., Astuti, Warditiani. (2013). **skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.).** Retrieved from <http://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/download/7399/5649>.
- Bakri, R. 2015. **Uji Kadar Total Flavonoid, Fenolik, dan Karotenoid Ekstrak Larut Heksan dan Tidak Larut Heksan Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.).** Makasar : UIN ALAUDDIN.
- Biesalski, H.K., Dragsted, L.O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Muller, M., Schrenk, D., Walter, P., Weber, P. 2009. **Bioactive Compounds : Definition and Assessment of Activity.** Nutr 25 : 1202-1205. DOI : 10.1016/j.nut.2009.04.023.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D., Ninfali, P. 2010. **Fruite and Vegetable Antioxidants in Health.** In : Watson RR and Freedy VR (Ed). **Bioactive Foods in Promoting Health. Fruits and vegetables.** Elsevier Inc. New York.
- Bohari, Anton, R. 2018. **Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan.** Kalimantan : Universitas Mulawarman.

- Dachriyanus. 2004. **Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi**. Padang: Universitas Andalas.
- Darakhshan, S., Tahvilian, Hosseinzadeh. 2015. **Nigella sativa : A Plant with Multiple Therapeutic Implications** International Journal of Pharmacognosy Vol. 2. Issue 5. EISSN : 2348-3962. P-ISSN: 2394-5583.
- Dineshkumar, G. And Rajakumar, R. 2015. **GC-MS Evaluation of Bioactive Molecules from the Methanolic Leaf Extract of Azadirachta indica**. Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology, 5(2), 64-69.
- Fell, A. F., 1986. **UV and Visible Fluorecence Spectrophotometric, in Wade Clarke's Isolation and Identification of Drug 2nd ed, The Pharmaceutical Press**. London. 222-225.
- Gandjar, I.G., Rohman, A. 2012. **Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi**. Yogyakarta : Pustaka Pelajr, hal 59-93.
- Gunawan, I Wayan Gede., I Made Karda. 2015. **IDENTIFIKASI SENYAWA MINYAK ATSIRI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KEPUH (Sterculia foetida L.)**. Chem. Prog. Vol. 8, No. 1, 15
- Harahap, Fatma S. 2013. **Analisis Gas Kromatografi-Spektrometer Massa (GC-MS) dari Kemenyan Sumatera dengan Teknik Asap Cair dan Esterifikasi**. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Harborne. 1987. **Metode Fitokimia**. Penerbit ITB: Bandung.
- Hayulistya P.E., Dinta, Dian , R., A., Ardhea, M., S. 2016. **Pengaruh Penambahan Bubuk Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Aktivitas Antioksidan Permen Jelly Herbal**. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Herlina, S., A., A., Ani, K., dan Didah, N., F. 2017. **Pertumbuhan dan Produksi Habbatussauda (Nigella sativa L.) di Tiga Ketinggian di Indonesi**. IPB : Program Studi Agronomi dan Hortikultura.
- Huliselan, Y. M. 2015. **Aktivitas Antiioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl.)**. Pharmacon, 4(3) : 155-163
- Jegadeeswari, P., Nishanthini, A., Muthukumaraswamy, S., Mohan, V. R. 2012. **GC-MS Analysis of Bioactive Components of Aristolochia krythagathra (Aristolochiaceae)**. Journal Chemical Pharmaceutical Science, 2, 226-236
- Karadag, Ayse, Beraat, O., Samim S. 2009. **Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities**. Food Anal. Methods (2009) 2:41-60.

- Kate, D. I. 2014. **Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (Merremia Mammosa (Lour) Hallier F).** Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, 1–123.
- Kelly, G., S. 2011. **Quercetin.** *Alternative Medicine Review*, 16(2) 2011.
- Kemenkes RI. 2013. **Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS.** Jakarta; Balitbang Kemenkes RI.
- Konaté, K., Souza, A., Roland, M., Coulibaly, A., Kiendrebeogo, M., LamienMeda, A., Lamidi, M., Millogo-Rasolodimby, J. & Nacoulma, O. G. 2010. **Polyphenol contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of six Malvaceae species traditionally used to treat hepatitis B in Burkina Faso.** *European Journal of Scientific Research*, 44, 570-580.
- Lukman, H. 2015. **Penentuan Kadar Flavonoid pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Spektroskopi Inframerah dan Kemometrik.** Jember: Universitas Jember.
- Malik. 2010. **Pembuatan Permen Jelly.** Sumatera Utara : Universitas Sumatera Utara.
- Marsono, Y. 2007. **Prospek Pengembangan Makanan Fungsioanl.** Makalah disampaikan pada Seminat Nasional dalam rangka “Nasional Foo Technology Competition (NFTC)”.
- Marzuki, A. 2012. **Kimia Analisis Farmasi.** Makassar : Dua Satu Press.
- Mohadjerani, M.; Tavakoli, R.; Hosseinzadeh, R. **Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of Adonis wolgensis L. extract.** *Avicenna J. Phytomed.* 2013, 4, 24–30.
- Nafiannisa, Tita. 2020. **Uji Aktivitas Antioksidan Pada Sediaan Herbal Oil Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*) Dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Menggunakan Metode DPPH.** Malang : UIN.
- Nasution, S., K., U., A. 2019. **Penetapan Kadar Total fenol dan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*).** Medan : Universitas Sumatera Utara
- Nur, M., A., A., H. 1989. **Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologis.** PAU press: Bogor.
- Pamuji, F., D. 2013. **Identifikasi Benzo (a) Pyrene Pada Ikan Bakar dengan Metode Gas Chromatography-Mass Spectromerty (GC-MS).** Purwokerto : Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

- Prapurandina, Nurina. 2010. **Efek Perseptif Jinten Hitam (*Nigella sativa L.*) Sebagai Immunostimulan (Studi Kasus di Wilayah Jakarta)**. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Putri, E., L. 2017. **Penentuan Konsentrasi Senyawa BERwarna KMnO₄ dengan Metoda Spektroskopi UV Visible**. Padang : Universitas Dharma.
- Radiena, M., S., Y., Edward, J., D. 2019. **Identifikasi Senyawa Aktif Triterpenoid dari Ekstrak Alga Laut Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluysii*)**. Maluku : Kementerian Perindustrian Republik Indonesia.
- Rahmi, Annisa. 2011. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Minyak Jinten Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Gambaran Histopatologi Organ Testis Mencit (*Mus musculus*)**. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Rini, Y., C., Fitria S., Andi S., S., A. 2020. **Uji Aktivitas Antikoksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Biji Habbatussauda (*Nigella sativa*)**. Gontor : Program Studi Farmasi UNIDA Gontor.
- Rulianti, M., R.. 2017. **Uji Perbandingan Kandungan Antioksidan Produk Jinten Hitam Yang Beredar Di Kota Palembang Dengan Metode DPPH**. Palembang : Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Palembang
- Salamah, N. dan E. Widyasari. 2015. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan (L) Steud.*) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-difenil-1- pikrilhidrazil**. Pharmacia. 5(1): 25- 34
- Sarker, S.D., Latif, Z., & Gray, A.I. 2006. **Natural Products Isolation. Second Edition**. Humana Press. Totowa New Jersey.
- Setyowati, H., Hananum, Z., H., Ie, F., A., Joe, A., KS., Muawanah, Sherly, Nur, A. 2013. **Isolasi dan Standarisasi Bahan Alam Gas Chromatography-Mass Spectrometry GC-MS**. Semarang : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi.
- Sheikh T., Z., B., Yong, C., L., Lian, M., S. 2009. **In vitro antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of *Sargassum baccularia* and *Cladophora patentiramea***. Journal of Applied Sciences. 13(9): 2490-2493.
- Silvia , Deli, Kezia, K., Stefanny, A., H., Vanessa, A., Yunita, S. 2016. **Pengumplan Data Base Sumber Antioksidan Alami Alternatif Berbasis Pangan Lolak Indonesia**. Surya University : Departement of Nurrition and Food Technology.
- Simorangkir, M., Bajoka, N., Saronom, S. 2013. **Potensi Antibakteri Ekstrak N-Hexana, Etil Asetat, Etanol Daun Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans VENT WILLD*) terhadap *Salmonella enterica***. Medan : Universitas Negeri Medan.

- Siswanto, B., T. 1997. **Makalah Analisis Komperatif**. Universitas Negeri Yogyakarta: Yogyakarta
- Subroto, M., A. 2008. Real Food, True Health. **Makanan Sehat untuk Hidup Lebih Sehat**. Jakarta : PT. Agro Media Pustaka.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan E. Suhardi. 1989. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**. Yogyakarta : Penerbit Liberty.
- Sultana, Sabrina, Asif, Hafiz, Iqbal. 2015. **Nigella sativa : Monograph. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 4(4) : 103-106 E-ISSN : 2278-4136. P-ISSN : 2349-8234.
- Suseno, Sugeng H., Nurjanah, Tenny, F. 2013. **Profil Asam Lemak dan Kestabilan Produk Formulasi Minyak ikan dan Habbatussauda**. Bogor : Intitut Pertanian Bogor.
- Suter, I Ketut. 2013. **Pangan Fungsional dan Prospek Pengembangannya**. Bali : Universitas Udayana
- Septiani, R., Marianne, Marline, N. 2018. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksan serta Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L. Skeels) dengan Metode Dpph**. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Setiawan, Finna. 2018. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP**. Surabaya : Universitas Surabaya.
- Taroreh, M., Raharjo, S., Hastuti, P., Murdiati, A. 2015. **Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya**. Agritech. 35(3), 280-286
- Winarsi, Hery. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Yogyakarta : Kanisius. Hal. 189-190