

ANALISIS KUALITATIF SENYAWA KATEKIN PADA EKSTRAK KULIT KACANG TANAH KAWANGKOAN YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Irma Antasionasti^{1)*}, Surya Sumantri Abdullah¹⁾, Utami Sasmita Lestari²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi

²⁾Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi

*irmaantasionasti07@gmail.com

ABSTRACT

Catechin is a flavonoid compound that exhibits antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antimicrobial, and antidiabetic activities. This compound can be found in peanut skins. Therefore, it is necessary to conduct an antioxidant activity test and a qualitative analysis of catechin compounds in Kawangkoan peanut skins. The extraction process used four solvents namely ethanol, methanol, acetone, and aquadest with maceration. Antioxidant activity testing was carried out using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) methods. The qualitative analysis of catechin compounds was performed based on the maximum wavelength (λ_{max}) using UV-Vis spectrophotometry with spiking method. Based on the results, the extract yields of aquadest, methanol, ethanol, and acetone were 5.75%, 10.56%, 3.46%, and 3.74%, respectively. The highest antioxidant activity was found in the acetone extract, with IC_{50} values of $52.832 \pm 2,143 \mu\text{g/mL}$ for the DPPH test and $22.078 \pm 5,690 \mu\text{g/mL}$ for the ABTS test. This correlates with the presence of catechin compounds, which were detected only in the acetone extract, indicated by a single peak at a maximum wavelength of 535 nm. This finding suggests that the acetone extract of Kawangkoan peanut skins has very strong antioxidant activity influenced by the catechin compound.

Keywords: Kawangkoan Peanut Skin, Antioxidant, DPPH, ABTS, Catechin

ABSTRAK

Katekin adalah senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antimikroba, dan antidiabetes. Senyawa ini dapat ditemukan pada kulit kacang tanah. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dan analisis secara kualitatif senyawa katekin kulit kacang tanah Kawangkoan. Proses ekstraksi menggunakan empat pelarut yaitu etanol, metanol, aseton dan aquades dengan metode maserasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) dan Asam 2,2-Azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonat (ABTS). Analisis kualitatif senyawa katekin dilakukan berdasarkan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) pada spektrofotometri UV-Vis menggunakan metode spiking. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak aquadest, metanol, etanol, dan aseton secara berturut-turut sebesar 5,75%, 10,56%, 3,46%, dan 3,74%. Aktivitas antioksidan terbesar diberikan oleh ekstrak aseton dengan IC_{50} sebesar $52,832 \pm 2,143 \mu\text{g/mL}$ untuk uji DPPH dan $22,078 \pm 5,690 \mu\text{g/mL}$ untuk uji ABTS. Hal ini sejalan dengan keberadaan senyawa katekin yang hanya terdapat pada ekstrak aseton yang ditandai dengan 1 puncak pada panjang gelombang maksimum 535 nm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak aseton kulit kacang tanah kawangkoan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat yang dipengaruhi oleh senyawa katekin.

Kata kunci: Kulit Kacang Tanah Kawangkoan, Antioksidan, DPPH, ABTS, Katekin

Pendahuluan

Kacang tanah merupakan tanaman pangan yang sangat penting bagi sektor pangan di dunia. Namun dalam proses pengolahannya berpotensi menghasilkan produk sampingan berupa limbah kulit kacang tanah. Namun, dibalik limbah kulit kacang tanah terdapat senyawa yang bermanfaat sebagai antioksidan yaitu prosianidin, katekin, epikatekin, resveratrol dan antosianidin (Putra *et al.*, 2018; Putra *et al.*, 2021; Putra *et al.*, 2023). Katekin adalah molekul bioaktif yang ditemukan pada kulit kacang tanah, tetapi juga dapat

ditemukan dalam teh (Abdel-Aal *et al.*, 2022), kulit dan biji anggur (Chengolova *et al.*, 2023), gandum (Vaughan *et al.*, 2022), apel (Skoko *et al.*, 2022), dan daun brokoli (Gudino *et al.*, 2024). Katekin memiliki berat molekul 290,26 g/mol dan titik leleh 175°C (NCBI, 2020). Titik leleh yang tinggi membuatnya tahan terhadap kerusakan pada suhu tinggi. Katekin memiliki sifat polaritas yang tinggi, sehingga katekin dalam daun teh sering diekstraksi dengan pelarut polar tunggal seperti metanol, etanol, asetonitril, dan aseton maupun kombinasi pelarut (Chen dan Tsai, 2016). Kim *et al.*, (2021) melaporkan bahwa kulit kacang tanah diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80%, metanol 80%, aseton 80% dan aquades. Berdasarkan hasil analisis HPLC, hasil katekin total tertinggi dicapai dengan pelarut etanol 30%–70%, sementara hasil rendah diperoleh dengan etanol 90% yang mana dalam penelitian Tsai dan Chen (2016) menunjukkan bahwa hasil katekin total tertinggi diperoleh pada pelarut etanol 50% (54,22 mg/g), diikuti oleh etanol 70% (53,3 mg/g) dan etanol 30% (24,62 mg/g). Oleh karena itu, ekstraksi kulit kacang tanah kawangkoan menggunakan pelarut aquadest, methanol, etanol 70%, dan aseton sehingga dapat mengoptimalkan jumlah dan kualitas katekin yang diperoleh.

Berbagai metode analisis dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan katekin, seperti kromatografi lapis tipis (Wang *et al.*, 2016), kromatografi lapis tipis densitometri (Kamala *et al.*, 2022), *high performance thin layer chromatography* (Yunarto *et al.*, 2023), kromatografi cair kinerja tinggi (Souza *et al.*, 2018), serta metode spektrofotometri UV-Vis (Nafisah *et al.*, 2024; Dias *et al.*, 2017). Di antara metode tersebut, metode kolorimetrik menggunakan pereaksi vanilin-asam (vanillin–H₂SO₄) merupakan salah satu teknik sederhana, sensitif, dan efektif untuk analisis kualitatif maupun semi-kuantitatif senyawa golongan flavan-3-ol seperti katekin dan proantosianidin (Kalidass *et al.*, 2021). Reaksi katekin-vanilin menghasilkan warna khas yang mudah diamati yaitu merah bata pada Panjang gelombang 500 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Haida *et al.*, 2021).

Katekin menawarkan banyak manfaat kesehatan sebagai antioksidan dengan menghilangkan radikal bebas secara efektif. Li *et al.*, (2024) melaporkan bahwa (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) sebagai antioksidan alami yang penting, menunjukkan efektivitas dalam menetralkan ROS seperti hidrogen peroksida, anion superoksida, dan radikal hidroksil. Antioksidan mampu menetralkan dan membangun senyawa stabil dengan menyumbangkan elektron hidrogen tambahan ke radikal bebas (Rizkiyah *et al.*, 2022). Capasso *et al.*, (2025) menegaskan bahwa EGCG menunjukkan aktivitas antioksidan yang bahkan lebih kuat dibanding vitamin C dan E, melalui mekanisme seperti penangkapan radikal bebas, kompleks logam-ion, dan inhibisi reaksi Fenton. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang mengandung katekin dapat dikembangkan sebagai nutrasetikal (Naware *et al.*, 2023) yang dapat melindungi terhadap kanker, penyakit kardiovaskular, diabetes, osteoporosis, dan gangguan neurologis (Putra *et al.*, 2022 dan Putra *et al.*, 2022).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu transfer elektron dan transfer atom hidrogen (Xiao *et al.*, 2020). Metode DPPH dan ABTS merupakan teknik pengujian aktivitas antioksidan yang mekanisme kerjanya berdasarkan transfer atom hidrogen maupun transfer elektron (Pisoschi *et al.*, 2016). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan dengan menggunakan metode DPPH dan ABTS.

Metode Penelitian

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Lanjut Bagian Kimia Analisis Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi pada bulan Agustus – Oktober 2025.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-VIS (Genesys-5), neraca elektrik (Mettler Toledo), alat maserasi, blender, mikropipet, vortex, *Vacuum rotary evaporator* (Heidolph VV 2000), oven dan peralatan gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang tanah kawangkoan, etanol 70%, etanol p.a. (merck), methanol teknis,

aseton teknis, aquadest, katekin p.a. (sigma aldrich), vanillin p.a. (merck), asam sulfat (merck), dpph (sigma aldrich), abts (sigma aldrich), kalium persulfat (merck), asam askorbat (merck),

C. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Sampel kulit kacang tanah kawangkoan (KKTK) sebanyak 5 kg dicuci lalu dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah sampel kering, lalu dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk.

2. Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi berdasarkan metode Kim *et al.*, (2021) yang dimodifikasi. Sampel bubuk (250 g) diekstraksi tiga kali dengan etanol 70%, metanol, aseton, dan aquadest pada suhu kamar selama 8 jam menggunakan stirrer. Proses ekstraksi dilakukan remasareasi 2 kali. Ekstrak kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental

3. Analisis Kualitatif Senyawa Katekin

Analisis kualitatif senyawa katekin berdasarkan metode Kalidass *et al.*, (2021) yang dimodifikasi menggunakan tahapan spiking. Sejumlah tertentu ekstrak dengan konsentrasi 1% (200 µL ekstrak aquadest, 200 µL ekstrak metanol, 100 µL ekstrak etanol 70%, dan 50 µL ekstrak aseton) diambil dan ditambahkan standar katekin 100 µg/mL sebanyak 0,3 mL. Setelah itu, sejumlah 3 mL larutan vanilin dingin (vanillin 1% dalam asam sulfat 70%) ditambahkan secara perlahan untuk menghindari pembentukan warna yang terlalu cepat. Selanjutnya, larutan dicukupkan sampai 5 mL dengan aquadest, dikocok hingga homogen, dan didiamkan selama 15 menit agar bereaksi dengan sempurna yang ditandai dengan terbentuknya warna merah bata. Larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-800 nm.

4. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan dengan mengacu pada metode Antasionasti *et al.*, (2021) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 50 µL sampel uji dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL dicampurkan dengan 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM dan 3,950 mL etanol. Campuran tersebut kemudian divorteks hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis terhadap larutan blanko (etanol). Sebagai kontrol, digunakan campuran 1,0 mL larutan DPPH dengan 4,0 mL etanol, sedangkan vitamin C digunakan sebagai standar pembanding karena diketahui memiliki aktivitas antioksidan kuat.

Persentase penangkapan radikal dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Persen penangkapan radikal (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

dengan A_0 adalah absorbansi kontrol (tanpa sampel uji) dan A_1 merupakan absorbansi larutan yang mengandung sampel uji atau senyawa pembanding.

5. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode ABTS

Penentuan aktivitas penangkapan radikal ABTS dilakukan berdasarkan metode Re *et al.*, (1999) yang dikutip dalam Aktumsek *et al.*, (2013). Radikal kation ABTS⁺ terbentuk melalui reaksi antara larutan ABTS 7 mM dengan kalium persulfat 2,45 mM. Campuran tersebut disimpan selama 12–16 jam pada suhu kamar dalam kondisi gelap. Sebelum digunakan untuk pengujian, larutan diencerkan menggunakan etanol hingga memperoleh nilai absorbansi $0,800 \pm 0,02$ pada panjang gelombang 734 nm. Sebanyak 4 mL ekstrak dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80 ditambahkan dengan 1 mL larutan ABTS, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Pengukuran absorbansi dilakukan pada

panjang gelombang 734 nm. Aktivitas penangkapan radikal dinyatakan sebagai persentase inhibisi, yang dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Persentase penangkapan radikal (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100\%$$

dengan A_0 adalah absorbansi kontrol (tanpa sampel uji) dan A_1 = absorbansi larutan yang mengandung sampel uji atau senyawa pembanding (vitamin C).

D. Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas penangkapan radikal DPPH dan ABTS dilakukan analisis menggunakan persamaan regresi linear untuk memperoleh nilai IC_{50} . Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ simpangan baku (SD) dari sedikitnya tiga kali ulangan untuk setiap sampel.

Hasil dan Pembahasan

A. Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Kulit kacang tanah kawangkoan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit kacang tanah mentah berjenis batik, yang diperoleh dari Kecamatan Kawangkoan, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. Kacang batik dipilih sebagai sampel penelitian karena kecenderungan masyarakat yang lebih menyukai varian tersebut dibandingkan varian kacang kawangkoan lainnya (kacang belimbing, merah, dan ungu) sehingga produksi kacang batik terus meningkat setiap tahunnya (Pomalingo *et al.*, 2023). Sampel yang diperoleh lalu dicuci bersih pada air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran, kemudian dikeringkan dengan cara oven pada suhu 50°C. Perlakuan tersebut ditujukan untuk menjaga stabilitas senyawa katekin yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Huang *et al.*, (2025) melaporkan bahwa sekitar 65,2% epikatekin hilang dalam 10 menit pertama dan lebih dari 99,5% epikatekin terdegradasi dalam 30 menit selama proses uji inkubasi dalam air mendidih. Reaksi kimia utama yang terjadi pada epikatekin dalam larutan air mendidih meliputi isomerisasi, oksidasi, hidrosilasi, dimerisasi, dan pemutusan cincin.



Gambar 1. Kulit kacang tanah kawangkoan

Ketidakstabilan katekin pada suhu tinggi menyebabkan proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Dalam proses ekstraksi digunakan pelarut polar-semi polar karena katekin sebagai senyawa polifenol memiliki banyak gugus hidroksil (-OH). Cuevas-Valenzuela *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kelarutan katekin semakin meningkat seiring bertambahnya komposisi pelarut organik (etanol) dalam air. Selain itu, Kim *et al.*, (2021) melaporkan bahwa kulit kacang tanah diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80%, metanol 80%, aseton 80% dan aquades. Hasil ekstraksi secara keseluruhan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental seperti pada Tabel 1. Jumlah ekstrak kental yang diperoleh, menunjukkan bahwa % rendemen ekstrak yang didapatkan cukup baik, sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut yang digunakan mampu untuk menarik senyawa-senyawa yang terkandung di dalam sampel (Djailani *et al.*, 2024). Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi hasil rendemen tersebut yaitu jumlah simplisia serbuk yang digunakan, durasi perendaman sampel, volume pelarut yang digunakan, serta ukuran partikel sampel atau besarnya luas permukaan kontak antara sampel dan pelarut (Asworo dan Widwastuti, 2023). Selain itu, hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut metanol memberikan rendemen ekstraksi yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etanol dan aseton pada bahan tanaman

tertentu, yang dikaitkan dengan kemampuan metanol untuk melarutkan komponen polar secara lebih efektif. Hal ini sesuai dengan laporan bahwa pada ekstraksi bahan tanaman *Limnophila aromatica*, rendemen ekstrak dengan pelarut metanol (26,06%) lebih tinggi dibandingkan etanol (17,03%) dan aseton (12,33%), meskipun sedikit lebih tinggi daripada ekstrak air (25,58%), menunjukkan peran polaritas pelarut terhadap efisiensi ekstraksi (Do et al., 2014).

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Kulit Kacang Tanah Kawangkoan

No	Sampel	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna
1	Ekstrak Aquadest	14,3839	5,75	Cokelat tua kehitaman
2	Ekstrak Metanol	26,4019	10,56	Cokelat tua kehitaman
3	Ekstrak Etanol	8,6404	3,46	Cokelat tua kehitaman
4	Ekstrak Aseton	9,3553	3,74	Cokelat tua kehitaman

B. Analisis Kualitatif Senyawa Katekin

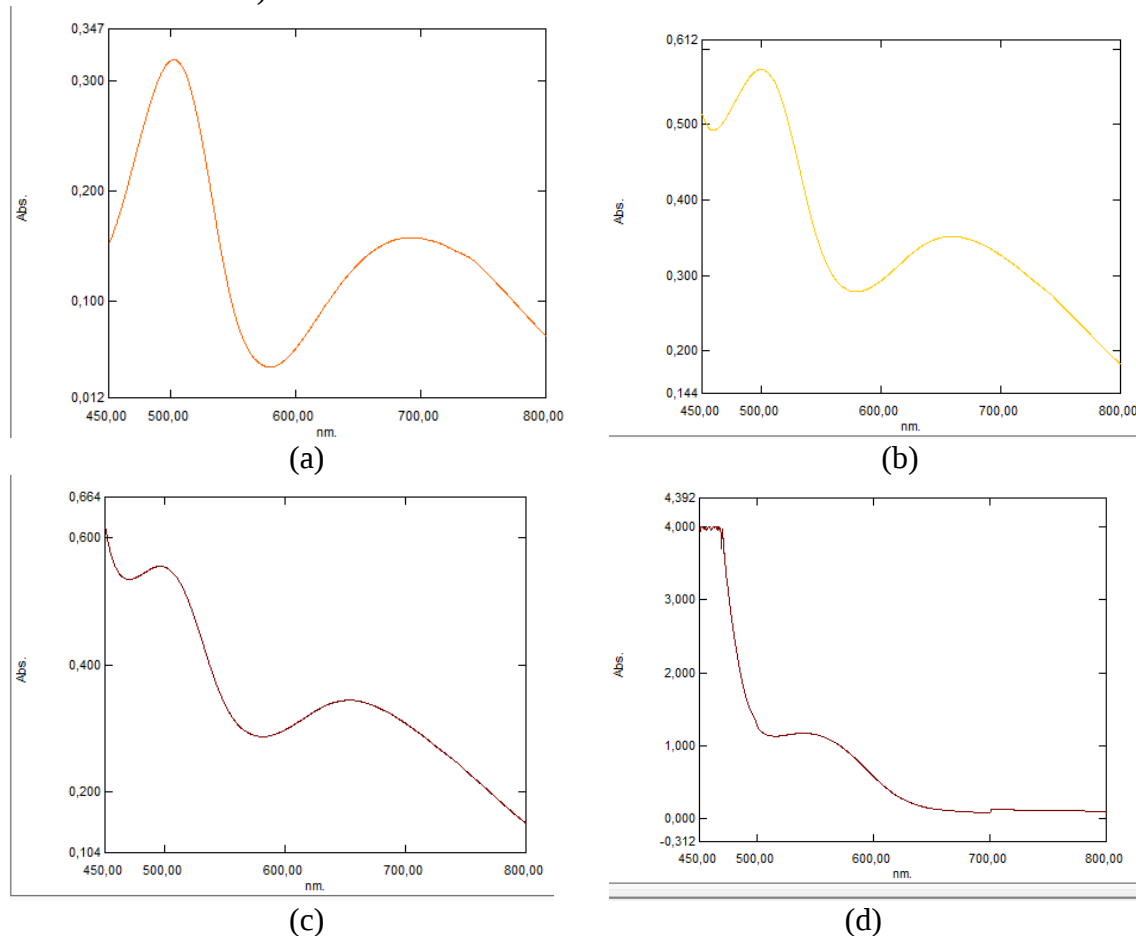
Senyawa katekin yang terkandung dalam ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan dianalisis secara kualitatif menggunakan metode kolorimetrik berdasarkan serapan panjang gelombang maksimum spektrofotometer UV-Vis yang terbentuk dari kompleks katekin-vanillin dalam larutan asam. Reaksi vanillin-HCl masih banyak dipakai sebagai uji kolorimetrik cepat untuk flavan-3-ol (katekin/epikatekin) dan proantocyanidin (tanin terkondensasi), karena mudah, murah, dan sensitif terhadap unit monomer flavanol (Mannino et al., 2021). Selain HCl, H_2SO_4 juga dapat digunakan sebagai asam dalam membuat pereaksi vanilin. Secara mekanistik, dalam suasana asam kuat (HCl atau H_2SO_4) gugus karbonil vanilin terprotonasi sehingga membentuk intermediet elektrofilik (karbokation/ion ikatan $\text{C}=\text{O}$ diaktifkan). Ion ini diserang oleh pusat nukleofilik pada cincin A flavan-3-ol (posisi C-6 atau C-8), sehingga terjadi kondensasi C-C yang menghasilkan adisi benzil-flavanol yang berwarna merah/merah-coklat (merah bata). warna inilah yang diukur spektrofotometrik (biasanya di sekitar ~ 500 nm; bisa bergeser tergantung struktur dan kondisi reaksi) (Zhao et al., 2018 dan Avinash et al., 2024).



Gambar 2. Perubahan warna dari reaksi ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan dan reagen vanilin- H_2SO_4

Berdasarkan Gambar 2, senyawa katekin hanya terdapat pada ekstrak aseton yang ditandai dengan terbentuknya warna merah bata ketika direaksikan dengan reagen vanilin- H_2SO_4 . Katekin merupakan senyawa flavan-3-ol yang relatif polar, memiliki beberapa gugus hidroksil (-OH) yang memungkinkan interaksi dengan pelarut polar atau semi-polar. Namun, pelarut yang terlalu polar (misalnya air murni) bisa kurang efektif karena senyawa lain (lebih polar) ikut larut, atau struktur sel tumbuhan belum sepenuhnya terbuka, sehingga efisiensi penarikan katekin bisa kurang optimum. Sebaliknya, pelarut semi-polar seperti campuran air/aseton memberikan keseimbangan antara pelarutan katekin dan penetrasi jaringan, sehingga bisa meningkatkan ekstraksi katekin. Cioanca et al., (2024) menyebutkan bahwa pelarut organik seperti aseton memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan air dalam proses ekstraksi katekin sehingga berpotensi menghasilkan ekstrak dengan kadar katekin yang lebih tinggi. Studi pada ampas anggur menunjukkan bahwa campuran air dengan aseton lebih efektif dibandingkan campuran air dengan etanol serta etil asetat untuk ekstraksi total polifenol dan flavonoid (termasuk unit katekin) dari sampel (Bosso et al., 2016). Selain itu, Agustina

et al., (2019) mengemukakan bahwa kulit buah areca nut (*Areca catechu*) menghasilkan persentase katekin tertinggi ($\approx 25.53\%$) pada kombinasi pelarut aseton dibanding pelarut lainnya (air pada suhu 80°C dan etil asetat).



Gambar 3. Serapan Panjang gelombang maksimum ekstrak-katekin pa dengan reagen vanilin- H_2SO_4 (a) aquadest, (b) metanol, (c) etanol 70%, (d) aseton

Keberadaan senyawa katekin dalam ekstrak aseton dapat diperkuat melalui identifikasi menggunakan metode uji spiking dengan standar katekin. Gambar 3 menunjukkan bahwa senyawa katekin hanya terdapat ekstrak aseton (3d) yang mana penambahan standar katekin murni menghasilkan peningkatan absorbansi yang sebanding dengan keberadaan 1 puncak panjang gelombang. Hal yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 3a, 3b, dan 3c yaitu terdapat 2 puncak yang mana pada panjang gelombang maksimum 500 nm menunjukkan keberadaan senyawa katekin standar dan pada panjang gelombang 650 nm menunjukkan keberadaan senyawa lain. Gambar 3d menunjukkan bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimum senyawa katekin ke panjang gelombang maksimum 535 nm. Pergeseran panjang gelombang maksimum senyawa katekin ke arah batokromik juga dilaporkan oleh Djouadi *et al.*, (2025) yaitu pada rentang 568 nm dengan larutan sampel berwarna merah.

C. Aktivitas Antioksidan

Kulit kacang tanah diketahui mengandung senyawa polifenolik, khususnya katekin dan proantosianidin, yang berperan penting sebagai antioksidan alami (Dean, 2020; Bodoira *et al.*, 2021; Sorita *et al.*, 2022; Massarioli *et al.*, 2022; Putra *et al.*, 2023; dan Cordeiro-Massironi *et al.*, 2024). Aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit kacang tanah telah banyak dilaporkan menunjukkan kemampuan yang signifikan dalam menangkap radikal bebas dan mencegah oksidasi lipid, menjadikannya sumber potensial untuk aplikasi pangan fungsional maupun farmasi. Ugwu *et al.*, (2022) melaporkan bahwa ekstrak kulit kacang tanah yang dipanggang memiliki aktivitas antioksidan

lebih tinggi dibandingkan ekstrak kulit kacang tanah mentah. Selain itu, ekstrak kulit kacang tanah yang disimulasikan melalui pencernaan *in vitro* menunjukkan aktivitas antioksidan (Cordeiro-Massironi *et al.*, 2023).

Tingginya aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak kulit kacang tanah mendorong penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan ABTS, dengan pembanding asam askorbat (kontrol positif). Pemilihan asam askorbat sebagai pembanding didasarkan pada fungsinya sebagai antioksidan sekunder yang dapat menghambat terjadinya reaksi berantai pada radikal bebas (Faidah *et al.*, 2024). Penggunaan kontrol positif pada pengujian ini dimaksudkan untuk mengetahui perbandingan kekuatan aktivitas antioksidan pada sampel apabila dibandingkan dengan asam askorbat. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan

No	Sampel	Aktivitas Antioksidan DPPH-IC ₅₀ (µg/mL) ± SD	Aktivitas Antioksidan ABTS-IC ₅₀ (µg/mL) ± SD
1	Ekstrak Aquadest	105,524 ± 1,720	68,982 ± 3,680
2	Ekstrak Metanol	101,900 ± 2,293	60,099 ± 4,108
3	Ekstrak Etanol	70,317 ± 1,212	58,657 ± 3,096
4	Ekstrak Aseton	52,832 ± 2,143	22,078 ± 5,690
5	Asam Askorbat	1,785 ± 0,088	1,593 ± 0,115

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kulit kacang tanah kawangkoan yang diperoleh menggunakan pelarut semipolar (aseton) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi yaitu 52,832 ± 2,143 µg/mL untuk uji DPPH dan 22,078 ± 5,690 µg/mL untuk uji ABTS dibandingkan dengan ekstrak yang diperoleh menggunakan pelarut polar (air, metanol, dan etanol). Fenomena ini berkaitan erat dengan perbedaan polaritas pelarut yang memengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa bioaktif yang diekstrak. Senyawa polifenolik utama dalam kulit kacang tanah, seperti katekin, epikatekin, dan proantosianidin, memiliki karakteristik semipolar, sehingga lebih mudah larut dalam pelarut dengan polaritas menengah dibandingkan pelarut polar murni (Lou *et al.*, 2004; Mokrani & Madani, 2016). Pelarut aseton memiliki keseimbangan antara gugus hidrofilik dan lipofilik, yang memungkinkan pelarut ini mengekstrak baik senyawa fenolik polar maupun nonpolar. Dengan demikian, ekstrak yang dihasilkan mengandung spektrum senyawa antioksidan yang lebih luas, termasuk flavonoid aglikon dan polimer fenolik kompleks yang berperan penting dalam aktivitas penangkap radikal bebas (Chen *et al.*, 2020). Selain itu, pelarut semipolar seperti aseton-air (70:30) diketahui lebih efektif dalam memecah ikatan hidrogen antar senyawa fenolik di dalam matriks tanaman, sehingga meningkatkan pelepasan senyawa aktif yang berkontribusi terhadap total kapasitas antioksidan (Nacz & Shahidi, 2006). Sebaliknya, pelarut yang sangat polar seperti air cenderung mengekstrak senyawa non-fenolik (misalnya gula, protein, dan asam organik), yang kontribusinya terhadap aktivitas antioksidan relatif kecil (Radojkovic *et al.*, 2012). Selain itu, dalam pelarut polar tinggi, stabilitas senyawa fenolik dapat menurun akibat oksidasi atau hidrolisis, yang menyebabkan penurunan kemampuan penangkapan radikal (Mokrani & Madani, 2016). Oleh karena itu, ekstraksi dengan pelarut aseton memberikan kondisi yang lebih stabil bagi senyawa fenolik dan menjaga struktur aromatikanya tetap utuh, sehingga meningkatkan kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan juga menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah dengan metode ABTS cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan metode DPPH. Hal ini ditunjukkan pada Tabel 2 yaitu aktivitas antioksidan ekstrak aquadest, ekstrak metanol, ekstrak etanol, dan ekstrak aseton dengan metode DPPH sebesar 105,524 ± 1,720; 101,900 ± 2,293; 70,317 ± 1,212; dan 52,832 ± 2,143 µg/mL sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak aquadest, ekstrak metanol, ekstrak etanol, dan ekstrak aseton dengan metode ABTS sebesar 68,982 ± 3,680; 60,099 ± 4,108; 58,657 ± 3,096; dan 22,078 ± 5,690 µg/mL. Perbedaan ini disebabkan oleh sifat kimia dan mekanisme reaksi kedua radikal yang digunakan. Radikal ABTS^{•+} memiliki potensial redoks yang lebih tinggi (±0,68 V) dibandingkan

DPPH• ($\pm 0,32$ V), sehingga lebih mudah menerima elektron dari senyawa polifenolik seperti katekin, epikatekin, dan proantosianidin yang terdapat dalam kulit kacang tanah (Chen *et al.*, 2019). Selain itu, ABTS⁺• bersifat larut dalam air maupun pelarut organik, sehingga dapat berinteraksi dengan antioksidan hidrofilik dan lipofilik, sedangkan DPPH• hanya larut dalam pelarut organik seperti metanol atau etanol (Oseguera-Toledo *et al.*, 2021). Metode ABTS juga mampu mendeteksi aktivitas antioksidan melalui dua mekanisme reaksi, yaitu *hydrogen atom transfer* (HAT) dan *single electron transfer* (SET), sedangkan DPPH melalui mekanisme HAT (Dean, 2020). Kondisi reaksi uji ABTS yang dilakukan pada pH netral ($\approx 7,4$) juga meningkatkan ionisasi gugus hidroksil ($-\text{OH}$) pada senyawa fenolik menjadi bentuk $-\text{O}^-$ yang lebih mudah mendonorkan elektron, sehingga meningkatkan kemampuan reduksi terhadap radikal (Arnao, 2021). Cordeiro-Massironi *et al.*, (2023) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak kulit kacang tanah terhadap radikal ABTS mencapai 94,8%, lebih tinggi dibandingkan dengan DPPH sebesar 81,2%. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Ugwu dan Suru (2022) yang menemukan nilai IC_{50} ABTS lebih kecil dibandingkan DPPH, menunjukkan kapasitas antioksidan yang lebih kuat. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa metode ABTS memberikan hasil yang lebih tinggi karena reaktivitas radikalnya lebih besar, kelarutan lebih luas, serta mekanisme reaksi yang lebih komprehensif, sehingga lebih representatif dalam menggambarkan kapasitas antioksidan total ekstrak kulit kacang tanah.

Kesimpulan

Ekstraksi kulit kacang tanah menggunakan pelarut aseton menghasilkan ekstrak dengan kandungan katekin dibandingkan pelarut polar (aquadest, metanol, etanol) yang ditunjukkan melalui hasil analisis kualitatif dengan reagen vanilin- H_2SO_4 yang ditandai dengan terbentuknya warna merah bata dan serapan maksimum 1 puncak dengan metode spiking standar katekin pada panjang gelombang sekitar 535 nm. Senyawa katekin pada ekstrak aseton memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan ekstrak aseton paling tinggi dibandingkan ekstrak aquadest, metanol, dan etanol dengan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan ABTS. Selain itu, aktivitas antioksidan dengan metode ABTS memberikan nilai IC_{50} lebih kecil ($22,078 \pm 5,690$ $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak aseton) dibandingkan dengan metode DPPH ($52,832 \pm 2,143$ $\mu\text{g/mL}$).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sam Ratulangi atas dukungan finansial melalui pendanaan PNPB Unsrat dengan skema Riset Dasar Unggulan Unsrat Kluster 2 (RDUU_K2) tahun anggaran 2025 dengan nomor kontrak 1129/UN12.27/LT/2025.

Daftar Pustaka

- Abdel-Aal, E.-S.M.; Rabalski, I.; Mats, L.; Rai, I. 2022. Identification and Quantification of Anthocyanin and Catechin Compounds in Purple Tea Leaves and Flakes. *Molecules*. 27, 6676.
- Agustina, S. D., Rizal, Y., Ardi, dan Mahata, M. E. 2019. Extraction of Catechins from Areca catechu L. Peel with different Solvent Type for Feed Additive of Broiler. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*. 4(6). 1796-1802.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., dan Duran, A., 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea* L. species. *Food and Chemical Toxicology*, 55: 290–296.
- Antasionasti, I., Datu, O. S., Lestari, U. S., Abdullah, S. S., dan Jayanto, I., 2021. Correlation Analysis of Antioxidant Activities with Tannin, Total Flavonoid, and Total Phenolic Contents of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Fruit Precipitated by Egg white. *Borneo Journal of Pharmacy*. 4(4). 301-310.
- Arnao, M. B. 2021. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. *Trends in Analytical Chemistry*, 143, 116385. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116385>.

- Asworo, R.Y., dan Widwastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian J. of Pharmaceutical Education*. 3(2): 256-263.
- Avinash, G., Sharma, N., Prasad, K. R., Kaur, R., Singh, G., Pagidipala, N. and Thulasinathan, T. 2024. Unveiling the distribution of free and bound phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, and proanthocyanidins in pigmented and non-pigmented rice genotypes. *Front. Plant Sci*. 15:1324825. doi: 10.3389/fpls.2024.1324825.
- Bodoira, R., Martinez, M., Velez, A., Cittadini, M. C., Ribotta, PP., Maestri, D. 2022. Peanut skin phenolics obtained by green solvent extraction: characterization and antioxidant activity in pure chia oil and chia oil in water (O/W) emulsion. *Journal of the science of food and agriculture*. 102(6). 2396-2403.
- Bosso, A., Guaita, M., dan Petrozziello, M. 2016. Influence of solvents on the composition of condensed tannins in grape pomace seed extracts. *Food Chemistry*. 207. 162-169.
- Capasso, L., De Masi, L., Sirignano, C., Maresca, V., Basile, A., Nebbioso, A., Rigano, D., Bontempo, P., 2025. Epigallocatechin Gallate (EGCG): Pharmacological Properties, Biological Activities and Therapeutic Potential. *Molecules*.30, 654. <https://doi.org/10.3390/molecules30030654>.
- Chen, B.-H.; Tsai, Y. 2016. Preparation of catechin extracts and nanoemulsions from green tea leaf waste and their inhibition effect on prostate cancer cell PC-3. *Int. J. Nanomed*. 11. 1907–1926.
- Chen, X., et al. 2019. Comparison of ABTS and DPPH assays for estimating antioxidant activity of plant extracts. *Food Analytical Methods*, 12(10), 2353–2361. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01613-8>.
- Chen, J., Li, X., & Zhou, L. 2020. Effect of solvent polarity on phenolic extraction and antioxidant activity of plant materials. *Journal of Food Science and Technology*, 57(3), 980–988.
- Chengolova, Z.; Ivanov, Y.; Godjevargova, T. 2023. Comparison of Identification and Quantification of Polyphenolic Compounds in Skins and Seeds of Four Grape Varieties. *Molecules*. 28, 4061.
- Cioanca, O., Lungu, I. I., Mita-Baciu, I., Robu, S., Burlec, A. F., Hancianu, M., Crivoi, F. 2024. Extraction and Purification of Catechins from Tea Leaves: An Overview of Methods, Advantages, and Disadvantages. *Separations*. 11. 171. <https://doi.org/10.3390/separations11060171>.
- Cordeiro-Massironi, K.; Soares-Freitas, R.A.M.; Sampaio, G.R.; Pinaffi-Langley, A.C.d.C.; Bridi, R.; de Camargo, A.C.; Torres, E.A.F.S. In Vitro Digestion of Peanut Skin Releases Bioactive Compounds and Increases Cancer Cell Toxicity. *Antioxidants* 2023, 12(7), 1356. <https://doi.org/10.3390/antiox12071356>.
- Cordeiro-Massironi, K., Freitas, R. A. M. S., Martins, I. C. V. S. M., Camargo, A. C., dan Torres, E. A. F. S. 2024. Bioactive compounds of peanut skin in prevention and adjunctive treatment of chronic non-communicable diseases. *Food Funct*. 15, 6304-6323.
- Cuevas-Valenzuela, J., Gonzalez-Rojas, A., Wisniak, J., Apelblat, A., Perez-Correa, J. R. 2014. Solubility of (+)-Catechin in Water and Water-Ethanol Mixtures within the Temperature Range 277.6 to 331.2 K: Fundamental Data to Design Polyphenol Extraction Processes. *Fluid Phase Equilib*. 382. 279-285.
- Dean, L. L. 2020. Review sciences Extracts of Peanut Skins as a Source of Bioactive Compounds: Methodology and Applications. *Appl. Sci*. 10(23), 8546; doi:10.3390/app10238546.
- Dias, T., Silva, M. R., Damiani, C., Silva, F. A., 2017. Quantification of catechin and epicatechin in foods by enzymatic-spectrophotometric method with tyrosinase. *Food Analytical Methods*. 10. 3914-3923.
- Djailani, A.P., Aina, G.Q., dan Harlita, T.D. 2024. Efektivitas Antimikroba Ekstrak Biji Manjakani (*Quercus Infectoria*) Terhadap Penghambatan *Candida* Sp. *Borneo J. of Medical Laboratory Technology*. 6(2): 481-489.

- Djouadi, A., Yilmazer, H., Djouadi, A., Cakir, B. 2025. Antioxidant Activity of Different Phenolic-Rich Fractions Obtained From Peels of Turkish Dark Purple Eggplant. *Food Science & Nutrition*. 13:e70521 <https://doi.org/10.1002/fsn3.70521>.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., Ju, Y., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22. 296-302.
- Faidah, N., Febrina, D., Prabandari, R., et al. 2024. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, N-Heksan, dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Biji Jagung Ungu (*Zea mays* var *Ceratina Kulesh*). *J. Ilmiah Terapan dan Kesehatan*. 2(1): 28-43.
- Gudiño, I.; Casquete, R.; Martín, A.; Wu, Y.; Benito, M.J. 2024. Comprehensive Analysis of Bioactive Compounds, Functional Properties, and Applications of Broccoli By-Products. *Foods*. 13. 3918.
- Haida, S., Bakkouche, K., dan Kribii, A., 2021. Chemical Composition of Essential Oil, Phenolic Compounds Content, and Antioxidant Activity of *Cistus monspeliensis* from Northern Morocco. *Hindawi Biochemistry Research International*. 13. 1-7.
- Huang, W., Lin, S., Cao, H. 2025. Stability and degradation mechanism of ()-epicatechin in thermal processing. *Food Chemistry*. 465.142038.
- Kalidass S., Karuppanaudaiyavijaya, and Kumar, R. R. 2021. Comparative Study on Quantification of Total Catechins Using UV-Vis Spectrophotometric Method and High Performance Liquid Chromatography Techniques. *Oriental Journal Of Chemistry*. 37(1). 136-142.
- Kamala, S., Susantia, M., Febriyantia, Zainia, E., Hamidia, D., 2022. Simultaneous TLC-densitometric analysis of catechin, pyrocatechol and quercetine in gambir block from Pesisir Selatan. *Heliyon*. 8. e08985.
- Kim, M. Y., Kim, H. J., Lee, Y. Y., Kim, M. H., Lee, J. Y., Kang, M. S., Koo, B. C., and Lee, B. W. 2021. Antioxidant and anti-inflammatory effects of Peanut (*Arachishypogaea* L.) skin extracts of various cultivars in oxidative-damaged HepG2 cells and LPS-induced raw 264.7 macrophages. *Food Sci Nutr*. 9. 973–984.
- Li, S., Wang, Z., Liu, G. and Chen, M., 2024 Neurodegenerative diseases and catechins: (–)-epigallocatechin-3-gallate is a modulator of chronic neuroinflammation and oxidative stress. *Front. Nutr*. 11:1425839. doi: 10.3389/fnut.2024.1425839.
- Lou, H., Yuan, H., Ma, B., Ren, D., Ji, M., & Oka, S. 2004. Polyphenols from peanut skins and their free radical-scavenging effects. *Phytochemistry*, 65(16), 2391–2399.
- Mannino, G., Chinigò, G., Serio, G., Genova, T., Gentile, C., Munaron, L., Berteà, C. M. 2021. Proanthocyanidins and Where to Find Them: A Meta-Analytic Approach to Investigate Their Chemistry, Biosynthesis, Distribution, and Effect on Human Health. *Antioxidants*.10. 1229. <https://doi.org/10.3390/antiox10081229>.
- Massarioli, A. P., Sartori, A. G. D. O., Juliano, F. F., Santos, R. C. D., Ramos, J. P. C., Lima, L. M. D., Alencar, S. M. D. 2022. Optimizing Procedures for Antioxidant Phenolics Extraction from Skin and Kernel of Peanuts with Contrasting Levels of Drought Tolerance. *Foods*. 11, 449. <https://doi.org/10.3390/>.
- Mokrani, A., & Madani, K. 2016. Effect of solvent polarity on total phenolic content and antioxidant activity of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit extracts. *Food Chemistry*, 197, 482–487.
- Naczek, M., & Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.
- Nafisah, U., Dewi, A. O. T., Lulu, A. A. H., 2024. Determination of Catechin Content in Green and Black Tea (*Camellia sinensis* L.) by UV-Vis Spectrophotometric Method. *J. Sains Kes*. 6(1):24-30.

- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 73160, (-)-Catechin. 2020. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Catechin> (accessed on 6 February 2025).
- Naware, N. S., Ambatkar, S. S., Kamble, S. S., Bangar, S., Uppar, K. B., Shirke, K., Patil, M., Jain, A., 2023. A review: focusing on the benefits of green tea catechins as nutraceuticals. *Sciences of Phytochemistry*. 2(2):1-12.
- Oseguera-Toledo, M. E., et al. 2021. Peanut skin phenolics obtained by green solvent extraction: Characterization and antioxidant activity in chia oil emulsion. *Food Chemistry*, 357, 129754. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129754>.
- Pisoschi, A., M., Pop, A., Cimpeanu, C., Predoi, G. 2016. Antioxidant capacity determination in plants and plant derived products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-36. <https://doi.org/10.1155/2016/913097> 6.
- Pomalingo, M.F., Fatimah, F., dan Suarjana, I.W.G. 2023. Penerapan dan Pelatihan Mesin Penyangrai Kacang Kawangkoan pada IKM Rimawar Kabupaten Minahasa. *J. Abdi Techno*. 3(1): 1-11.
- Putra, N.R.; Aziz, A.H.A.; Yian, L.N.; Ramli, W.D.; Yunus, M.A.C. 2018. Optimization of supercritical carbon dioxide and co-solvent ethanol extraction of wasted peanut skin using response surface methodology. *MATEC Web Conf.*, 156, 2005.
- Putra, N.R.; Rizkiyah, D.N.; Abdul Aziz, A.H.; Machmudah, S.; Jumakir, J.; Waluyo, W.; Che Yunus, M.A. 2021. Procyanidin and proanthocyanidin extraction from *Arachis hypogaea* skins by using supercritical carbon dioxide: Optimization and modeling. *J. Food Process. Preserv.* 45, e15689.
- Putra, N.R.; Rizkiyah, D.N.; Aziz, A.H.A.; Idham, Z.; Qomariyah, L.; Yunus, M.A.C. 2022. Extraction rate of Valuable Compounds from Peanut Skin Waste by Ethanol-Assisted Supercritical Carbon Dioxide: Modelling and Optimization. *Malays. J. Fundam. Appl. Sci.*, 18, 157–170.
- Putra, N.R.; Rizkiyah, D.N.; Veza, I.; Jumakir, J.; Waluyo, W.; Suparwoto, S.; Qomariyah, L.; Yunus, M.A.C. 2022. Solubilization and Extraction of Valuable Compounds from Peanut skin in Subcritical Water. *J. Food Process. Preserv.* 46, e17005.
- Putra, N. R., Rizkiyah, D. N., Yunus, M. A. C., Aziz, A. H. A., Yasir, A. S. H. M., Irianto, I., Jumakir, J., Waluyo, W., Suparwoto, S., and Qomariyah, L. 2023. Valorization of Peanut Skin as Agricultural Waste Using Various Extraction Methods: A Review. *Molecules*. 28, 4325. 1-17.
- Radojkovic, M., Zekovic, Z., Vidovic, S., & Jokic, S. 2012. Solvent selection for the extraction of antioxidants from orange peel and leaves. *Industrial Crops and Products*, 47, 188–194.
- Rizkiyah, D.N.; Jusoh, W.M.S.W.; Idham, Z.; Putra, N.R.; Che Yunus, M.A. 2022. Investigation of Phenolic, Flavonoid and Antioxidant Recovery and Solubility from Roselle Using Supercritical Carbon Dioxide: Experimental and Modelling. *J. Food Process. Preserv.* 46, e16670.
- Skoko, A.-M.G.; Šarkanj, B.; Lores, M.; Celeiro, M.; Babojelić, M.S.; Kamenjak, D.; Flanjak, I.; Jozinović, A.; Kovač, T.; Lončarić, A. 2022. Identification and Quantification of Polyphenols in Croatian Traditional Apple Varieties. *Plants*. 11, 3540.
- Sorita, G. D., Leimann, F. V., dan Ferreira, S. R. 2023. Phenolic Fraction from Peanut (*Arachis hypogaea* L.) By-product: Innovative Extraction Techniques and New Encapsulation Trends for Its Valorization. *Food and Bioprocess Technology*. 16:726–748.
- Souza, J. A. L., Silva, W. A. V., Bezerra, I. C. F., Ferreira, M. R. A., Soares, L. A. L. 2017. Chemical Profiles by Thin-layer Chromatography and High-performance Liquid Chromatography of Plant Species from Northeast Brazil. *Pharmacognosy Magazine*. 14(56). 437-443.
- Ugwu, C. E., Suru, S. M., Charles, D. C. 2022. Antioxidant Activity of Raw and Roasted Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Skins Extracts. *Free Radicals and Antioxidants*. 12(2):63-9.
- Ugwu, A. C., & Suru, S. M. 2022. Antioxidant activity of raw and roasted peanut (*Arachis hypogaea* L.) skins extracts. *Food Research Advances*, 2(3), 343–351.

- Vaughan, S. P., Baker, J. M., Primavesi L. F., Patil, A., King, R., Hassani-Pak, K., Kulasekaran, S., Coghill, J., Ward, J. L., Huttly, A. K., Philips, A. L. 2022. Proanthocyanidin biosynthesis in the developing wheat seedcoat investigated by chemical and RNA-Seq analysis. *Plant Direct*.6:e453.
- Wang, K., Chen, Q., Lin, Y., Yu, S., Lin, H., Huang, J., dan Liu, Z., 2016. Separation of catechins and O-methylated (–)-epigallocatechin gallate using polyamide thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography B*. 1017–1018. 221-225.
- Xiao, F., Xu, T., Lu., B., Liu, R. 2020. Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*. 1(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>.
- Yunarto, N., Susanti, N., Reswandaru, U. N., Novianti, R., Astari, T. A., dan Satria, B. M., 2023. VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR KATEKIN DALAM EKSTRAK DAUN GAMBIR DENGAN HIGH PERFORMANCE THIN LAYER CHROMATOGRAPHY. Prosiding SENANTIAS: Seminar Nasional Hasil Penelitian dan PkM. 4(1).
- Zhao, J., Xia, H., Yu, T., Jin, L., Li, X., Zhang, Y., 2018. A colorimetric assay for vanillin detection by determination of the luminescence of o-toluidine condensates. *PLoS ONE*. 13(4): e0194010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194010>.
-