



Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana*) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Jaringan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi

YUNITA SURYA PRATIWI¹, SULISTIANA PRABOWO²

Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya
Email: yunitaptw@gmail.com

Abstract

Administration of high-dose paracetamol may increase metabolic pathways that produce N-acetyl-p-benzoquinonimine (NAPQI). NAPQI is reactive substance, resulting in hepatic tissue damage and increase liver MDA level. Avocado peel extract contains flavonoids that act as antioxidants so it is expected may decrease liver MDA level of high-dose paracetamol administration.

This research used 24 male Wistar rats divided into 3 groups: group of rats fed with standard food, group of rats given paracetamol 1,750 mg/kg BW on day 8, and group of rats given avocado peel extract 1,400 mg/kg/day for 8 days and paracetamol 1750mg/kg BW on day 8. Liver MDA levels were checked on day 9 by thiobarbituric acid (TBA) method.

The One-Way ANOVA test showed that the liver MDA level of the group of rats given high dose of paracetamol ($\bar{x}=312.38\pm 47.830$ nmol/g) was significantly higher ($p = 0.001$) compared to the liver MDA level of the group of rats fed with standard food ($\bar{x}=184.50\pm 57.021$ nmol/g). The liver MDA level of group of rats given high-dose paracetamol and avocado peel extract ($\bar{x}=268.50\pm 91.834$ nmol/g) did not significantly decrease ($p = 0.213$) compared to the liver MDA level of group of rats given high dose of paracetamol ($\bar{x}=312.38\pm 47.830$ nmol/g).

The conclusion of this research showed that high-dose paracetamol significantly increased liver MDA level and avocado peel extract tend to decrease liver MDA level because avocado peel consists flavonoid, hydroxynnamic acid, keratinoid, vitamin C, dan vitamin E that function as antioxidants.

Keywords: *Paracetamol, MDA, Persea americana*

Abstrak

Pemberian parasetamol dosis tinggi dapat meningkatkan jalur metabolisme yang menghasilkan N-asetil-p-benzoquinonimin (NAPQI). NAPQI bersifat reaktif sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan hepar dan meningkatkan kadar MDA jaringan hepar. Ekstrak kulit alpukat mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga diharapkan dapat menurunkan kadar MDA jaringan hepar pada pemberian parasetamol dosis tinggi.

Sampel hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor dan dibagi dalam 3 kelompok yang terdiri dari : Kelompok hewan coba tanpa perlakuan, kelompok hewan coba yang diberi parasetamol tinggi dengan dosis 1750 mg/kg BB pada hari ke-8, dan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi pada hari ke-8 dan diberi ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) dengan dosis 1400 mg/kg BB selama 8 hari . Pemeriksaan kadar MDA jaringan hepar dilakukan pada hari ke-9 dengan metode uji *thiobarbituric acid* (TBA).

Hasil Uji *One Way ANOVA* menunjukkan kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi ($\bar{x}=312,38\pm 47,830$ nmol/g) meningkat secara bermakna ($p=0,001$) dibandingkan dengan kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba tanpa perlakuan ($\bar{x}=184,50\pm 57,021$ nmol/g). Kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan diberi ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) ($\bar{x}=268,50\pm 91,834$ nmol/g) menurun secara tidak bermakna ($p=0,213$) dibandingkan kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi ($\bar{x}=312,38\pm 47,830$ nmol/g).

Kesimpulan hasil penelitian menunjukkan bahwa parasetamol dosis tinggi meningkatkan secara bermakna kadar MDA jaringan hepar dan ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) menurunkan secara tidak bermakna kadar MDA jaringan hepar karena kulit alpukat mengandung flavonoid, *hydroxycinnamic acids*, keratinoid, vitamin C, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan.

Kata kunci: Parasetamol, MDA jaringan hepar, *Persea americana*

Pendahuluan

Alpukat (*P. americana*) merupakan buah yang habitatnya sudah tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Pada 2000 Indonesia menduduki peringkat keempat penghasil terbanyak di dunia dan konsumen tertinggi ketiga di dunia (Harjadi, 2000; FAO, 2004). Selain buahnya, kulit buah alpukat mengandung berbagai macam polifenol seperti; flavonoid, karotenoid, vitamin C, vitamin E, dan *hydroxycinnamic acid* dengan kadar lebih tinggi dibandingkan daging buahnya. Kandungan polifenol tersebut sangat bermanfaat untuk mencegah kerusakan jaringan tubuh manusia oleh stres oksidatif dan nitrosatif (Yasir, Das dan Kharya, 2010; Bezuneh dan Kebede, 2015; Nimse dan Pal, 2015; Hendra *et al.*, 2016).

Parasetamol merupakan analgesik dan antipiretik yang sering digunakan oleh masyarakat luas dan obat yang dijual bebas (Rang *et al.*, 2011) yang dapat menimbulkan efek samping yang serius terutama pada organ hepar jika digunakan melampaui dosis yang dianjurkan, yaitu 10–15 mg/kg setiap 4–6 jam dan maksimum 50–75 mg/kg dalam 1 hari secara peroral pada anak dan 325-650 mg setiap 4–6 jam dan maksimum 4 gram dalam 1 hari secara peroral pada dewasa (Schilling *et al.*, 2010 dalam Lancaster *et al.*, 2014). Kerusakan sel terjadi akibat stres oksidatif dan nitrosatif memicu terjadinya peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan suatu produk oksidasi sekunder berbahaya hasil dari dekomposisi *poly-unsaturated fatty acids* (PUFAs), yang disebut malondialdehida (MDA). Metabolisme parasetamol di dalam hepatosit melalui 2 jalur mayor, yaitu

glukuronidasi dan sulfasi, serta 1 jalur minor dengan bantuan enzim sitokrom P450 yang ternyata menghasilkan suatu metabolit toksik bersifat oksidan, yang disebut *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) di dalam hepatosit. Pada penggunaan parasetamol dosis tinggi, kedua jalur mayor akan mengalami saturasi, sehingga terjadi peningkatan metabolisme menggunakan jalur minor. Mengakibatkan terjadinya peningkatan NAPQI dalam hepatosit dan menyebabkan hepar lebih rentan terhadap stres oksidatif dan nitrosatif sehingga rentan mengalami nekrosis (Brunton, 2006; Chun *et al.*, 2009; Ramachandran and Jaeschke, 2017). Tetapi, stres oksidatif dapat ditekan oleh zat polifenol yang kaya dalam kulit buah alpukat melalui mekanisme pemutusan rantai pembentukan oksidan reaktif, menghambat peroksidasi lipid, aktivitas enzim lipoksigenase dan *cyclooxygenase* (COX), dan lain-lain (Mateos *et al.*, 2005). Maka dari itu, peneliti ingin mengetahui pengaruh kulit buah alpukat terhadap kadar MDA jaringan hepar tikus putih (*R. norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi parasetamol dosis tinggi.

Metode

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *experimental design* dengan *post test only control group design*.

Dalam penelitian ini digunakan 3 kelompok sebagai berikut;

1. Kelompok kontrol negatif (K-): 8 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar tanpa perlakuan

2. Kelompok kontrol positif (K+): 8 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diberi air terfiltrasi per sonde selama 8 hari dan parasetamol 1.750 mg/kgBB hanya pada hari ke-8.
3. Kelompok perlakuan (P): adalah kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang mendapatkan ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana*) per sonde selama 8 hari dan parasetamol 1.750 mg/kgBB hanya pada hari ke-8.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar berjenis kelamin jantan, berusia 10-12 minggu dengan berat 130-170 gram sebanyak 24 ekor dan berada pada kondisi yang sehat.

Pemilihan sampel penelitian dilakukan dengan menggunakan metode *simple random sampling*.

Variabel bebas yang digunakan adalah ekstrak kulit buah alpukat (*P. americana*) diperoleh melalui proses ekstraksi dengan etanol 70%. Variabel terikat adalah MDA jaringan sebagai indikator terjadinya peroksidasi lipid akibat stres oksidatif yang diuji pada jaringan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan metode *thiobarbituric acid* (TBA) dan dibaca dengan spektrofotometer.

Cara pengukuran MDA jaringan hepar dengan metode TBA, sebagai berikut:

Dilakukan penambahan 100 mikromili TCA dan dihomogenkan, kemudian ditambahkan 250 mikromili HCl 1N. 100 mikromili Na-Thio 1% dan

dihomogenkan kembali. Larutan dipanaskan dalam waterbath 100°C selama 20 menit, kemudian diangkat dan didiamkan dalam suhu ruangan. Larutan disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit dan supernatan diambil 300 mikromili dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang = 532 nm.

Pada penelitian ini Analisis data hasil penelitian menggunakan uji statistik One-way Anova.

Hasil Penelitian

Kadar dan rerata MDA jaringan hepar kelompok hewan coba tanpa perlakuan, kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi, dan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar dan Rerata Malondialdehida (MDA) Jaringan Hepar pada Ketiga Kelompok Hewan Coba

No.	K (-) nmol/g	K (+) nmol/g	P nmol/g
1.	243	283	258
2.	282	326	340
3.	132	394	173
4.	165	346	131
5.	152	299	355
6.	186	286	384
7.	204	330	206
8.	112	235	301
Rerat a	184,50±57,02 1	312,38±47,83 0	268,50±91,83 4

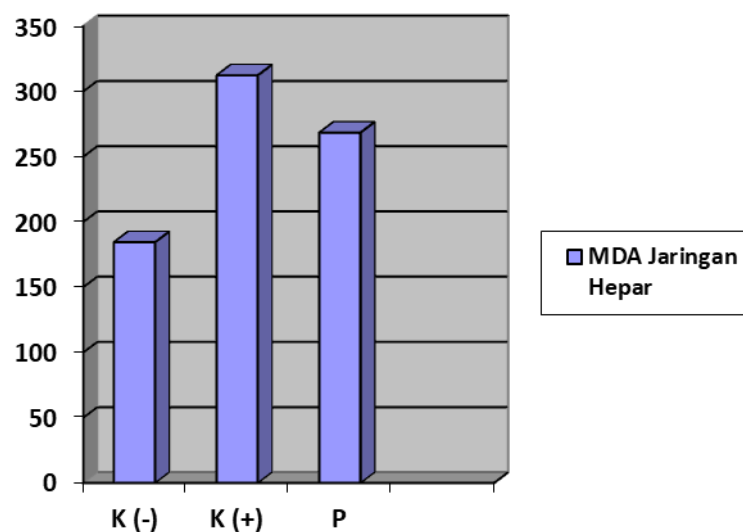
Keterangan:

K(-) : Kelompok hewan coba tanpa perlakuan

K(+): Kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi

P : Kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat

Rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba tanpa perlakuan 184,50 nmol/g, kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi 312,38 nmol/g, dan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat 268,50 nmol/g. Hasil lebih jelas dapat dilihat pada diagram batang pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan hasil rerata MDA Jaringan hepar antara Kelompok Hewan Coba Tanpa Perlakuan (K-), Kelompok Hewan Coba yang diberi Parasetamol Dosis Tinggi (K+), dan Kelompok Hewan Coba yang diberi Parasetamol Dosis Tinggi dan Ekstrak Kulit Alpukat (*Persea americana*) (P)

Berdasarkan hasil uji *One-Way ANOVA* diperoleh nilai $p = 0,004$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa “terdapat perbedaan kadar MDA jaringan hepar antara ketiga kelompok”. Kemudian dari hasil analisa *Post Hoc*, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok hewan coba tanpa perlakuan dan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi ($p = 0.001$). Dan terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok hewan coba tanpa perlakuan dengan

kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat ($p = 0,023$), serta tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dengan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat ($p = 0,213$).

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa parasetamol dosis tinggi meningkatkan secara bermakna ($p=0,001$) kadar MDA jaringan hepar, dimana rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba tanpa perlakuan = 184,50 nmol/g, kelompok hewan coba yang mendapat parasetamol dosis tinggi = 312,38 nmol/g. Serta, ekstrak kulit alpukat dapat menurunkan secara tidak bermakna kadar MDA jaringan hepar, dimana rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi dan ekstrak kulit alpukat = 268,50 nmol/g, sedangkan rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi = 312,38 nmol/g.

Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis data, rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang hanya diberi parasetamol dosis tinggi (312,38 nmol/g) menunjukkan peningkatan bermakna ($p=0,001$) bila dibandingkan dengan kelompok hewan coba yang hanya diberi pakan standar (184,50 nmol/g). Keadaan ini menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis tinggi dapat meningkatkan secara bermakna kadar MDA jaringan hepar dibandingkan kelompok tanpa perlakuan.

Metabolisme parasetamol terutama oleh enzim mikrosomal hati. Parasetamol dosis tinggi didalam hepar akan mengalami biotransformasi oleh sitokrom P450 menghasilkan metabolik toksik reaktif N-asetil-P-benzoquinonimin. Pada keadaan normal, metabolik ini didetoksifikasi dengan konjugasi bersama glutation dalam bentuk asam merkapturat. Parasetamol dosis tinggi akan menyebabkan terbentuknya banyak metabolit toksik reaktif yang mengakibatkan persediaan glutation dalam sitosol habis sehingga metabolit reaktif ini berikatan dengan komponen makromolekul protein sel hepar yang mengakibatkan kerusakan hepar (Rang *et al.*, 2007).

NAPQI juga dapat menimbulkan stres oksidatif, dimana ini menunjukkan bahwa NAPQI dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan bagian dari proses atau rantai terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas mampu mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas baru dan akan membentuk radikal bebas kembali sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). Kerusakan hepar yang terjadi karena parasetamol ini diakibatkan oleh reaksi toksik, alergi, dan radikal bebas (Mateos *et al.*, 2005; Nimse dan Pal, 2015).

Pada pemberian parasetamol dosis tinggi terjadi saturasi jalur metabolisme glukuronidasi dan sulfasi, sehingga terjadi peningkatan jalur metabolisme minor oleh sitokrom P450 (CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4) yang mengakibatkan peningkatan metabolit toksik, yaitu NAPQI. Peningkatan NAPQI menyebabkan peningkatan penggunaan GSH untuk

merubahnya menjadi asam merkapturat yang bersifat nontoksik kemudian dieksresi melalui ginjal. Sehingga terjadi penurunan jumlah GSH (Brenner dan Stevens, 2013; Lancaster, Hiatt dan Zarrinpar, 2014; Ramachandran dan Jaeschke, 2017).

Penurunan jumlah GSH tersebut mengakibatkan peningkatan NAPQI yang bersifat oksidan, menyebabkan peningkatan rekasi pengikatan NAPQI dengan gugus sulfhidril protein mitokondria terjadi, mengakibatkan kerusakan protein mitokondria. Sehingga, peningkatan produksi superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan radikal bebas yang lain. Dan apabila $O_2^{\cdot-}$ bereaksi *nitric oxide* (NO) akan membentuk peroksinitit ($ONOO^-$) sehingga selain meningkatkan stres oksidatif juga meningkatkan stres nitrosatif. Akibatnya, radikal bebas tersebut akan memicu reaksi oksidasi berantai pada asam lemak takjenuh ganda pada membran sel menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang menghasilkan metabolit sekunder, yaitu malondialdehida (MDA) meningkat pada jaringan hepar (Mateos *et al.*, 2005; Larson, 2007; Nimse dan Pal, 2015; Ramachandran dan Jaeschke, 2017).

Rerata kadar MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang yang diberi parasetamol dosis tinggi dan diberi ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) (268,50 nmol/g) lebih rendah dibandingkan dengan rerata MDA jaringan hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dosis tinggi (312,38 nmol/g). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian

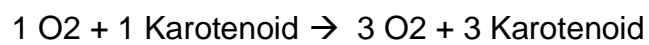
ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) selama 8 hari dapat menurunkan MDA jaringan hepar tetapi tidak bermakna ($p= 0,213$).

Kulit alpukat mengandung senyawa-senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan seperti asam fenolik (*hidroxicinnamic acid*), flavonoid, karotenoid, vitamin c dan vitamin E (Vinha *et al.*, 2013). Asam fenolik adalah senyawa organik, aromatik pada tumbuhan (Barberán *et al.*, 2001). *Hidroxicinnamic acid* (HCAs) merupakan salah satu jenis penting asam fenolik (Mandal *et al.*, 2010). *Hidroxicinnamic acid* ini dapat digunakan untuk tujuan pencegahan dan terapi pada beberapa penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Mekanisme aksi dari antioksidan ini adalah dengan aktivitas *radical-scavenging* yang berkaitan dengan kemampuan donasi hidrogen atau elektronnya. Selain itu, mekanisme aksi lainnya seperti *chelation of transition metals* seperti tembaga atau besi yang merupakan katalisator stres oksidatif yang terkenal, menghambat enzim penghasil ROS/RNS, dan modulasi ekspresi gen (Teixeira *et al.*, 2013).

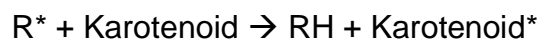
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang di dalam inti dasarnya mengandung 15 atom karbon, yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988 dalam Nurung, 2016). Flavonoid meningkatkan ekspresi enzim Glutation S-transferase (GST) sehingga mempercepat proses detoksifikasi NAPQI melalui konjugasi dengan GSH menjadi asam merkapturat yang bersifat

hidrofilik sehingga mudah diekskresikan melalui urin. Selain itu juga mereduksi radikal bebas, menghasilkan senyawa yang lebih stabil dan kurang reaktif (Nimse dan Pal, 2015).

Karotenoid dapat berfungsi sebagai peredam *singlet oxygen* dan pendeaktifasi radikal bebas. Mekanisme karotenoid sebagai peredam singlet oksigen adalah:



Sedangkan reaksi pendeaktivasi radikal bebas sebagai berikut;



Maka karotenoid memiliki aktivitas antioksidan yang sangat dibutuhkan untuk memadamkan radikal bebas sehingga dapat mengurangi kerusakan hepar (Panjaitan *et al.*, 2004).

Vitamin C dan Vitamin E memiliki peran sebagai antioksidan dengan mendonorkan hidrogen dan akan bereaksi dengan senyawa oksigen reaktif sehingga dapat merusak pembentukan radikal bebas yang baru. Vitamin C bersama-sama dengan vitamin E dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang berfungsi kembali sebagai antioksidan (Adiyati, 2011; Nimse dan Pal, 2015).

Hasil penelitian penurunan secara tidak bermakna MDA jaringan hepar hewan coba yang diberi ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*)

dapat disebabkan oleh beberapa hal. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis yang kurang atau waktu penelitian yang kurang lama.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) terhadap kadar malondialdehida (MDA) tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi parasetamol dosis tinggi dapat disimpulkan bahwa pemberian sonde per-oral parasetamol 1.750 mg/kgBB yang dilarutkan ke dalam larutan CMC-Na 1% meningkatkan secara bermakna MDA jaringan hepar tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*). Sedangkan pemberian ekstrak kulit alpukat (*Persea americana*) secara sonde intragastrik dengan dosis 1.400 mg/kgBB selama 8 hari menurunkan secara tidak bermakna kadar MDA jaringan hepar pada kelompok perlakuan.

Daftar Pustaka

- Adiyati, P. N. (2011) 'Ragam Jenis Ektoparasit pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley'.
- Bezuneh, T. T. and Kebede, E. M. (2015) 'UV -Visible Spectrophotometric Quantification of Total Polyphenol in Selected Fruits', *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(3), pp. 397–401. doi: 10.11648/j.ijnfs.20150403.28.
- Brenner, G. and Stevens, C. (2013) 'Pharmacology', *Principles of Pharmacology*, pp. 10–12. Available at: https://www.us.elsevierhealth.com/media/us/samplechapters/9781416066279/Chapter_02.pdf.
- Brunton, L. (2006) 'Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics', *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis*

of *Therapeutics*, pp. 9–10. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.

- Chun, L. J., Tong, M. J., Busuttil, R. W. and Hiatt, J. R. (2009) 'Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure.', *Journal of clinical gastroenterology*, 43(4), pp. 342–349. doi: 10.1097/MCG.0b013e31818a3854.
- FAO (2004) *AVOCADO: Post-Harvest Operation*. Edited by P. Danilo Mejía. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO.
- Harjadi, S. S. (2000) 'Avocado Production in Indonesia', in *Avocado Production in Asia and the Pacific*. Bangkok: Meetings and Publications Officer, FAO Regional Office for Asia and the Pacific. Available at: <http://www.fao.org/docrep/003/X6902E/x6902e07.htm#Avocado> Production in Indonesia Sri Setyati Harjadi*.
- Hendra, P., Liong, P., Wina, B., Putri, R., Fransiskus, A. S., Andriani, F., Putriati, A. and Eviani, T. (2016) 'Efek Proteksi Dekokta Kulit Alpukat pada Hepar Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida', 13(2), pp. 61–66.
- Lancaster, E. M., Hiatt, J. R. and Zarrinpar, A. (2014) 'Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review', *Archives of Toxicology*, pp. 193–199. doi: 10.1007/s00204-014-1432-2.
- Larson, A. M. (2007) 'Acetaminophen Hepatotoxicity', *Clinics in Liver Disease*, 11(3), pp. 525–548. doi: 10.1016/j.cld.2007.06.006.
- Mandal, S. M., Chakraborty, D. and Dey, S. (2010) 'Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses', *Plant Signaling and Behavior*, pp. 359–368. doi: 10.4161/psb.5.4.10871.
- Mateos, R., Lecumberri, E., Ramos, S., Goya, L. and Bravo, L. (2005) 'Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidant', 827, pp. 76–82. doi: 10.1016/j.jchromb.2005.06.035.
- Nimse, S. B. and Pal, D. (2015) 'Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms', *RSC Adv. Royal Society of Chemistry*, 5(35), pp. 27986–28006. doi: 10.1039/C4RA13315C.
- Nurung, S. H. H. (2016) 'Penentuan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis'. Available at: http://repositori.uin-alauddin.ac.id/1802/1/SRI_HANDRIYANI_HR

NURUNG.pdf.

- Panjaitan, T. D., Prasetyo, B. and Limantara, L. (2004) 'Peranan Karotenoid Alami dalam Menangkal Radikal Bebas', *Universitas Sumatera Utara*, pp. 79–86. Available at: [http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/21030/ikm-jun2008-12 %285%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/21030/ikm-jun2008-12%285%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Ramachandran, A. and Jaeschke, H. (2017) 'Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology', 3, pp. 157–169.
- Rang, H., Dale, M., Ritter, J., Flower, R. and Henderson, G. (2011) *Rang and Dale's Pharmacology (Seventh ed.)*, London: Churchill Livingstone Elsevier. doi: 10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J. and Borges, F. (2013) 'Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview', *BioMed Research International*, 2013. doi: 10.1155/2013/251754.
- Tomás-Barberán, F. A. and Espín, J. C. (2001) 'Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), pp. 853–876. doi: 10.1002/jsfa.885.
- Vinha, A. F., Moreira, J. and Barreira, S. V. P. (2013) 'Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.)', *Journal of Agricultural Science*, 5(12), pp. 100–109. doi: 10.5539/jas.v5n12p100.
- Yasir, M., Das, S. and Kharya, M. D. (2010) 'The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill.', *Pharmacognosy reviews*. Wolters Kluwer -- Medknow Publications, 4(7), pp. 77–84. doi: 10.4103/0973-7847.65332.