AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL BEBAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA DENGAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)

Titiek Martati*, Gigin Devita S.

Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jagakarsa, Jakarta 12640

*Email: titiekmartati@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Buah naga merupakan salah satu sumber antioksidan alami, merupakan satu jenis buah tropis dengan kandungan polifenol. Kulit buah naga merupakan limbah yang jarang dimanfaatkan, padahal kulit buah naga mengandung senyawa antioksidan kuat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dari ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) dan naga putih (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Ekstrak etanol 70% dibuat dengan metode maserasi, uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH secara spektrofotometri visibel dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Aktivitas penangkap radikal bebas ekstrak etanol 70% dinyatakan dalam IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah dan naga putih memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Nilai IC_{50} ekstrak kulit buah naga merah ($76,19 \pm 2,44$) $\mu\text{g/ml}$ dan kulit buah naga putih memiliki nilai IC_{50} ($101,75 \pm 2,13$) $\mu\text{g/ml}$, sedangkan vitamin C memiliki nilai IC_{50} 3,81 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan tabel anova data berbeda bermakna, menunjukkan adanya perbedaan aktivitas penangkap radikal bebas antara kulit buah naga merah dan naga putih.

Kata Kunci: Radikal bebas, Kulit buah naga, Vit.C, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

PENDAHULUAN

Buah naga merupakan jenis kaktus dengan famili Cactaceae, merupakan salah satu jenis buah tropis dengan kandungan polifenol dan merupakan salah satu sumber antioksidan yang alami (1). Kulit dari buah naga merupakan limbah yang jarang dimanfaatkan. Padahal kulit buah naga masih mengandung senyawa penangkap radikal bebas yang cukup tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya (2), ekstrak n-heksan kulit buah naga merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 206,5 $\mu\text{g/mL}$, aktivitas antioksidan fraksi n-heksan ini tergolong kurang aktif. Berdasarkan hasil tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas penangkap radikal bebas dari ekstrak etanol 70% dan apakah terdapat perbedaan aktivitas penangkap radikal bebas antara kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih. Aktivitas penangkap radikal bebas dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan vitamin C sebagai kontrol positif (3). Parameter adanya aktivitas penangkap radikal bebas yang dimiliki ekstrak etanol ditunjukkan oleh % inhibisi dan IC_{50} .

METODE PENELITIAN

Bahan.

Serbuk simplisia kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika (BALITTRO) Bogor. Daerah pengambilan buah naga terdapat diperkebunan Subang Jawa Barat

Peralatan.

Timbangan analitik (AND GR 200), timbangan microbalance (mettler MT5), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Uv-Vis 1700), vakum rotavapor (IKA® RV 10 control), oven (Memmert).

Prosedur.

Determinasi Tanaman.

Sebelum dilakukan penelitian, dilakukan determinasi terhadap buah naga merah dan naga putih. Determinasi dilakukan di “ Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat penelitian Biologi – LIPI (lembaga ilmu pengetahuan Indonesia), Cibinong, Bogor.

Pembuatan Ekstrak.

Sejumlah simplisia kulit buah naga kering ditimbang kurang lebih 500g, dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 70%, sebanyak 200 mL sampai semua sampel terendam oleh pelarut. Maserasi dilakukan selama 5 hari, setiap 24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan tiga kali sehari selama 2,5 – 3 jam. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan disaring. Kemudian filtrat tersebut dipekatkan menggunakan rotavapor pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ hingga pelarut menguap dan menjadi ekstrak kental (4), ditimbang dan dihitung % rendemen, dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak diperoleh}}{\text{Bobot bahan yang ditimbang}} \times 100\%$$

Penapisan fitokimia.

Dilakukan uji kualitatif adanya senyawa antioksidan. Uji kualitatif adanya alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff, uji flavonoid menggunakan serbuk magnesium dan amil alkohol, uji tanin menggunakan larutan FeCl_3 1%, uji steroid dan triterpenoid menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard (4).

Uji Parameter Mutu Ekstrak. (4)

Penetapan kadar air.

Sejumlah ekstrak ditimbang sejumlah kurang lebih 40 mg kemudian dimasukan kedalam alat uji *Karl Fischer* titrator.

Penetapan susut pengeringan.

Sejumlah ekstrak ditimbang dan dimasukkan kedalam botol timbang dan dimasukan ke dalam ruang pengering suhu 105°C hingga bobot tetap.

Penetapan kadar abu total.

Sejumlah ekstrak ditimbang, dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang abis, dinginkan dan timbang hingga bobot tetap..

Pengujian aktivitas penangkap radikal bebas dengan metode DPPH

Penetapan panjang gelombang serapan maksimum.

Masing-masing sebanyak 1,0 mL ekstrak dan kontrol positif vitamin C 1 µg/mL ditambah 1 mL larutan DPPH 0,4 mM, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5,0 mL diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-600nm. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum juga dilakukan untuk kontrol negatif.

Penentuan *operating time* (waktu pengukuran).

Masing-masing sebanyak 1,0 mL larutan ekstrak etanol kulit buah naga dan kontrol positif vitamin C 1 µg/mL ditambah 1 mL larutan DPPH 0,4 mM, selanjutnya diamati serapannya selama 0-60 menit pada panjang gelombang serapan maksimum.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode penangkap radikal bebas DPPH.

Pengukuran serapan.

Masing-masing larutan uji dan larutan pembanding (kontrol positif) dengan beberapa konsentrasi diinkubasi pada suhu 37°C pada *operating time*, kemudian diukur pada panjang gelombang serapan maksimum menggunakan spektrofotometer cahaya tampak, sebagai larutan blangko digunakan etanol 70%.

Perhitungan % penangkapan radikal bebas

Data yang diperoleh dari pengukuran serapan digunakan untuk menghitung % penangkapan radikal bebas dengan rumus :

$$\begin{array}{l} \text{(\%)} \text{ penangkap radikal} \\ \text{bebas} \end{array} = \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \times 100\%$$

Perhitungan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) adalah konsentrasi senyawa uji (bpj) yang mampu menangkap radikal bebas sebesar 50%.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan persamaan regresi dari nilai konsentrasi (sumbu x) dan % penangkap radikal bebas (sumbu y). Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas penangkap radikal bebas.

Kurva hubungan antara konsentrasi dengan penangkap radikal bebas adalah sebagai berikut :

Gambar IV.1 kurva hubungan antara konsentrasi dengan % penangkap radikal bebas

Analisis Data.

Data hasil penelitian berupa rata-rata nilai IC₅₀ dari ekstrak kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih dianalisis dengan uji anova satu arah dengan menggunakan program SPSS.

Uji distribusi normal (Kolmogrov Smirnov test)

Hipotesis : H_0 : Data distribusi normal

H_1 : Data tidak terdistribusi normal

Nilai yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian : Jika $P > \alpha$, maka H_0 diterima

Jika $P < \alpha$, maka H_1 diterima

Uji homogenitas (Levene Test)

Hipotesis : H_0 : Varian antar perlakuan sama/homogen

H_1 : Varian antar perlakuan berbeda/tidak homogen

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian : Jika $P > \alpha$, maka H_0 diterima

Jika $P < \alpha$, maka H_1 diterima

ANOVA. Uji ini dilakukan untuk mengetahui rata-rata lebih dari 2 sampel berbeda secara signifikan atau tidak.

Asumsi: H_0 = tidak ada perbedaan nyata rata-rata antar kelompok perlakuan

H_1 = Ada perbedaan nyata rata-rata antar kelompok perlakuan

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian : Jika $P > \alpha$, maka H_0 diterima (tolak H_1)

Jika $P < \alpha$, maka H_1 diterima (H_0 ditolak)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa buah naga yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber)

Briton & Rose dan buah naga putih (*Hylocereus undatus* (Haw.) Briton & Rose) suku Cactaceae.

Hasil rendemen kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih menunjukkan rendemen 15,35 % untuk kulit buah naga merah dan 17,56 % untuk kulit buah naga putih.

Kadar air masing-masing ekstrak kulit buah naga merah 8,51 % dan kulit buah naga putih 7,93 %. Kadar air masing-masing simplisia telah memenuhi syarat mutu untuk kadar air simplisia yaitu tidak lebih dari 10%. (3).

Penetapan susut pengeringan ekstrak bertujuan untuk mengetahui kandungan air dan zat yang mudah menguap yang ada dalam sampel, selain itu tujuannya adalah untuk memberikan batasan maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Nilai atau rentang yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi. Hasil penetapan susut pengeringan kulit buah naga merah yaitu 5,43 % dan kulit buah naga putih yaitu 3,67 %, hasil susut pengeringan telah memenuhi syarat mutu untuk simplisia tidak lebih dari 10%. (3)

Penetapan kadar abu ekstrak adalah memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dalam simplisia, mulai dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Kadar abu diperiksa untuk menetapkan tingkat pengotoran oleh logam-logam dan silikat. Hasil kadar abu ekstrak kulit buah naga merah sebesar 5,57 % dan kulit buah naga putih 6,42 %.

Penetapan komponen senyawa aktif dalam kulit buah naga dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan beberapa pereaksi spesifik yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penapisan fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan kandungan golongan metabolit sekunder, kedua ekstrak tersebut positif memiliki kandungan metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan kumarin. (5)

Tabel .1. Hasil penelitian penapisan fitokimia ekstrak kulit naga merah dan naga putih

Golongan senyawa	Hasil pengamatan	
	Ekstrak etanol kulit buah naga merah	Ekstrak etanol kulit buah naga putih
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	-	-
Kuinon	-	-
Steroid & triterpenoid	+	+
Kumarin	+	+
Minyak atsiri	-	-

Keterangan + = memberikan reaksi positif

- = memberikan reaksi negatif

Pengujian aktivitas penangkap radikal bebas dari ekstrak kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih, dilakukan dengan menggunakan pereaksi DPPH metode spektrofotometri UV-Vis dengan vitamin C sebagai kontrol positif. DPPH sebagai radikal bebas kemudian ditangkap radikal bebasnya oleh antioksidan yang terdapat dalam bahan uji membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin. Adanya aktivitas antioksidan dari bahan uji mengakibatkan terjadinya perubahan warna larutan DPPH. Metode DPPH merupakan salah satu metode pengukuran antioksidan yang sederhana, murah, cepat serta hanya memerlukan sedikit sampel. Metode ini paling umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antoksidan, khususnya senyawa fenol atau polifenol. (6).

Aktivitas penangkap radikal bebas didasarkan pada kemampuan larutan ekstrak kulit buah naga dalam menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH sebagai radikal bebas bereaksi dengan antioksidan ekstrak kulit buah naga, akibatnya 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang semula berwarna ungu karena merupakan suatu radikal bebas akan mengikat atom hidrogen yang dilepaskan oleh zat uji membentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrihidrazin yang berwarna kuning stabil. Senyawa fenol yang kehilangan atom hidrogen akan menjadi radikal bebas baru yang stabil namun tidak reaktif karena adanya resonansi inti aromatik. Intensitas perubahan warna dapat diukur menggunakan spektrofotometer cahaya tampak pada panjang gelombang 517 nm (4).

Tahap pengujian senyawa dengan metode spektrofotometri cahaya tampak adalah penetapan panjang gelombang serapan maksimum. Hasil penetapan panjang gelombang serapan maksimum larutan blanko DPPH 0,4 mM menggunakan spektrofotometri UV-Vis adalah 518 nm dengan serapan maksimum 0,8194. Menurut pustaka, terdapat beberapa panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH yaitu 515 nm, 516 nm, 517 nm, 518 nm dan 520 nm.

Pada penentuan *operating time* (waktu pengukuran), menunjukkan bahwa DPPH telah bereaksi secara optimal dengan senyawa uji. Hasil penelitian menunjukkan serapan ekstrak etanol kulit buah naga pada panjang gelombang serapan maksimum stabil pada menit ke-25 sampai menit ke-37.

Ekstrak kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih yang diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol 70%. Aktivitas antioksidannya diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan pereaksi DPPH dan Vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1, sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan pada kulit buah naga putih pada

Tabel 3 dan Gambar 2, dan untuk kulit buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 3.

Dari hasil aktivitas antioksidan terhadap vitamin C sebagai kontrol positif didapat nilai IC_{50} 3,5 $\mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan aktivitas antioksidan vitamin C yang sangat kuat karena nilai IC_{50} yang didapat kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$.

Dari hasil aktivitas antioksidan yang dilakukan pada kulit buah naga putih diperoleh nilai IC_{50} yaitu 101,7 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} ini masuk dalam rentang kategori antioksidan sedang dan bila dibandingkan dengan hasil aktivitas antioksidan pada vitamin C (3,8 $\mu\text{g/mL}$).

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Kontrol Positif

Konsentrasi (bpj)	Ab	As			As Rata-rata	Penangkap radikal bebas (%)	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		As ₁	As ₂	As ₃			
1,0289	0,8393	0,6769	0,6536	0,6575	0,6627	21,0413	3,8099
2,0578		0,5671	0,5861	0,5508	0,568	32,3246	
3,0867		0,4604	0,4854	0,4793	0,4750	43,4052	
4,1156		0,3539	0,3534	0,3742	0,3605	57,0475	
5,1445		0,2924	0,2882	0,2989	0,2932	65,0739	
6,1734		0,2099	0,2128	0,2336	0,2188	73,9307	
7,2023		0,1804	0,1966	0,1879	0,1883	77,5646

Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi (bpj) dengan penangkap radikal bebas (%) pada vitamin C

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah naga putih

Ekstrak kulit naga putih	Konsentrasi (µg/mL)	Serapan blangko	Serapan sampel	Peredaman radikal bebas (%)	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
I	19,8872	0,8295	0,6502	21,6688	104,0149
	39,7744		0,5828	29,7408	
	59,6616		0,5624	32,2001	
	79,5488		0,4718	43,1224	
	99,436		0,4248	48,7884	
	119,3232		0,3587	56,7571	
	139,2104		0,3291	60,3255	
II	20,0713	0,8257	0,6532	20,8914	101,4211
	40,1425		0,5785	29,9382	
	60,2138		0,5539	32,9175	
	80,2850		0,4628	43,9506	
	100,3563		0,4154	49,6912	
	120,4276		0,3461	58,0840	
	140,4988		0,3100	62,4561	
III	20,0713	0,8388	0,6568	21,6977	99,7992
	40,1425		0,5809	30,7463	
	60,2138		0,5543	33,9175	
	80,2850		0,4666	44,3729	
	100,3563		0,4212	49,7854	
	120,4276		0,3401	59,4539	
	140,4988		0,3147	62,4821	
Rata-rata IC ₅₀ (bpj)					101,7451± 2,13

Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi (bpj) dengan penangkap radikal bebas (%) pada Ekstrak kulit buah naga putih

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah naga merah

Ekstrak kulit naga merah	Konsentrasi (bpj)	Serapan blangko	Serapan sampel	Penangkap radikal bebas (%)	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
I	18,6646	0,8113	0,6720	17,1699	78,9781
	37,3292		0,5984	26,2418	
	55,9938		0,4862	40,0715	
	74,6548		0,3800	53,1616	
	93,323		0,3612	55,4789	
	111,9876		0,2538	68,1622	
	130,6522		0,2101	74,103	
II	18,8476	0,8585	0,6848	20,2329	74,4548
	37,6952		0,5889	31,4036	
	56,5428		0,4746	44,7175	
	75,3905		0,3880	54,8048	
	94,2381		0,3406	60,3262	
	113,0857		0,2838	66,9423	
	131,9333		0,2173	74,6884	
III	19,0306	0,8587	0,6717	21,7771	75,1418
	38,0621		0,5966	30,5229	
	57,0918		0,4664	45,6853	
	76,1224		0,3762	56,1896	
	95,153		0,3698	56,9349	
	114,1836		0,2734	68,1612	
	133,2142		0,2247	73,8325	
Rata-rata IC ₅₀ (bpj)					76,1916 ± 2,44

Gambar 3. Kurva hubungan antara konsentrasi (bpj) dengan Peredaman radikal bebas (%) pada Ekstrak kulit buah naga merah

Dari hasil aktivitas antioksidan pada kulit buah naga merah diperoleh nilai IC₅₀ yaitu 76,1 µg/mL. Nilai IC₅₀ ini masuk dalam rentang kategori antioksidan kuat, sedangkan aktivitas antioksidan pada vitamin C (3,8 µg/mL) sangat kuat. Rangkuman hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode radikal bebas DPPH pada vitamin C sebagai kontrol positif dan ekstrak kulit buah naga dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rangkuman hasil uji antioksidan dengan DPPH

Nilai IC ₅₀		
Vitamin C	Ekstrak etanol kulit buah naga merah (µg/mL)	Ekstrak etanol kulit buah naga putih (µg/mL)
3,80	76,1	101,7

Gambar 4. Grafik perbandingan nilai IC₅₀ Vit. C, kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih

Dari tabel 5 menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol kulit buah naga merah dan kulit buah naga putih lebih besar dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dari baku pembanding Vitamin C, dimana semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 200 µg/mL. Kulit buah naga merah memiliki nilai IC₅₀ sebesar 76,19 µg/mL termasuk dalam golongan yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (range 50 – 100 µg/mL). Sedangkan, kulit buah naga putih memiliki nilai IC₅₀ sebesar 101,75 µg/mL termasuk dalam golongan yang memiliki aktivitas antioksidan sedang (range 100-150 µg/mL). Hasil diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah mempunyai aktivitas lebih tinggi. Berdasarkan hasil pengujian Anova, ada perbedaan nilai IC₅₀ dari kulit buah naga merah dengan nilai IC₅₀ kulit buah naga putih.

KESIMPULAN

Aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak kulit buah naga merah lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak kulit buah naga putih dan lebih lemah dibandingkan dengan vitamin C. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ ekstrak kulit buah naga merah 76,19 ± 2,44 µg/mL dan ekstrak etanol kulit buah naga putih dengan nilai IC₅₀ sebesar 101,74 ± 2,13 µg/mL, sedangkan vitamin C nilai IC₅₀ sebesar 3,80 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Gigin Devita Sari. S.Si. yang telah banyak membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedarya A. Agribisnis buah naga. Bandung: Penerbit Pustaka Grafika; 2007. h.1-2.
2. Amrun H , Umayah U. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak buah naga (*Hylocereus undatus* (Haw) Britt. & Rose).Jurnal ilmu dasar. 2007; 8(1):83-90.
3. Windholz M, editor. The Merck Index an Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 10th ed. USA: Merck and Co.,Inc; 2006. p. 3332.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan obat dan makanan Direktorat Pengawasan Obat tradisional; 2000.h.17-46.
5. Djamil R, Anelia T. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia 2009; 7(2).h. 69.
6. Molyneux P. The use of the stable free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004;26(2):211-219.