

**AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL EKSTRAK ETHANOL 70%
BIJI JENKOL (*Archidendron jiringa*)**

**ANTIRADICAL ACTIVITY OF ETHANOLIC (70%) STINKY BEAN
(*Archidendron jiringa*) EXTRACT**

Zakky Choliso dan Wahyu Utami

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

ABSTRAK

*Tanaman jengkol (*Archidendron jiringa*) dikenal mempunyai biji yang digemari rasanya, tetapi juga dihindari karena baunya. Beberapa tanaman yang berbau menusuk seperti petai, takokak, dan bawang diketahui mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya aktifitas penangkap radikal dan antioksidan dari biji jengkol. Penelitian dilakukan dengan mengukur daya tangkap ekstrak etanol 70% biji jengkol terhadap radikal stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri. Uji aktifitas penangkap radikal dilakukan dengan pembandingan vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji jengkol mempunyai aktivitas penangkap radikal dengan IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%) sebesar 159,46ug/ml. Aktifitas penangkap radikal ekstrak etanol 70% biji jengkol lebih kecil daripada vitamin C.*

Kata kunci: penangkap radikal, antioksidan, *Archidendron jiringa*

ABSTRACT

*Stinky bean (*Archidendron jiringa*) has been widely used as a part of cuisine ingredients in Indonesia, although it has a non favourable smell. Smelly vegetables, bean and fruit has been known to have antioxidant activity. This reasearch aimed to investigate antioxidant or radical scavenging activity of ethanolic (70%) extract of stinky bean. Since the antioxidant activity of the extracts greatly depends on the quality of compounds, the qualitative phytochemical examination for poliphenol and flavonoid content were also examined. The ability of ethanolic (70%) extract of stinky bean to act as radical scavengers was investigated using 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), a stable free radical. The result showed that ethanolic (70%) extract of stinky bean has an antioxidant property, with the IC₅₀ of 159.46ug/ml, lower than that of vitamin C. Phytochemical properties qualitative investigation showed that there were poliphenol and flavonoids in the sample.*

Key words: radical scavenger, antioxidant, *Archidendron jiringa*

PENDAHULUAN

Spesies Oksigen reaktif (ROS= Reactive Oxygen Species) termasuk radikal superoksid, radikal hidroksil, hidrogen peroksidase, dan lipid peroksida radikal diperlukan oleh tubuh untuk proses signaling dan proses fagositosis bakteri, akan tetapi adanya ROS yang berlebihan diindikasikan merupakan penyebab utama dari proses penuaan dan banyak penyakit, seperti asma, kanker, penyakit kardiovaskular, katarak, inflamasi saluran pencernaan, liver, dan penyakit inflamasi lainnya (Finkel and Holbrook, 2000).

Spesies radikal oksigen ini diproduksi secara normal oleh tubuh sebagai konsekuensi dari proses biokimia apabila terdapat kenaikan paparan xenobiotic baik dari makanan atau lingkungan pada tubuh.

Mekanisme perusakan sel oleh radikal bebas berawal dari teroksidasinya asam lemak tak jenuh pada lapisan lipid membran sel,

reaksi ini mengawali terjadinya oksidasi lipid berantai yang menyebabkan kerusakan membran sel, oksidasi lebih jauh akan terjadi pada protein yang berakibat fatal dengan rusaknya DNA. Diperkirakan sebagian penyakit yang disebutkan di atas diawali oleh proses perusakan ini (Cook and Samman, 1996).

Sebenarnya tubuh mempunyai sistem antioksidan termasuk superoksid dismutase, katalase, dan glutation, akan tetapi jika terjadi paparan oksidan yang berlebihan antioksidan tubuh ini tidak akan mampu mengatasinya, sehingga tubuh memerlukan pasokan antioksidan dari luar (flavonoid, vitamin A, vitamin C, vitamin E, selenium, seng, dan L-sistein) (Nordmann, 1993).

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan baik sebagai sumber obat, atau makanan. Dari beberapa tumbuh-tumbuhan ini, terutama yang digunakan sebagai sumber makanan sehari-hari, mengandung senyawa kimia yang mem-

punyai aktifitas sebagai antioksidan, tetapi informasi ilmiah tentang aktifitas antioksidan dan antiradikal terutama pada tanaman yang biasa digunakan sebagai bumbu atau bahan makanan masih jarang ditemukan, padahal tanaman-tanaman tersebut potensial untuk dikembangkan sebagai obat dan *nutraceuticals* atau bahan makanan yang berkhasiat untuk mencegah dan atau mengobati penyakit. Sehingga pengujian tanaman-tanaman tersebut untuk mencari antioksidan alami masih tetap menarik dan diperlukan.

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam penetapan aktivitas antioksidan dan antiradikal, metode penangkapan radikal dengan radikal buatan stabil DPPH (2,2-difenil-2-pikrylhidrazil hidrat) merupakan metode yang hasilnya dapat dipercaya, sehingga digunakan dalam beberapa penelitian skrining aktifitas antioksidan dalam jurnal-jurnal ilmiah baru.

Tumbuhan bahan pangan yang terbukti kaya antioksidan adalah takokak (*Solanum tarvum*), petai (*Parkia speciosa*), dan daun muda jambu mete (*Anacardium occidentale*). Ketiga bahan pangan itu memiliki aktivitas pembersih superoksida yang tinggi, yakni di atas 70% (Living, 199).

Jengkol (*Archidendron jiringa*) banyak ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia, tanaman ini biasanya digunakan bijinya untuk dimasak maupun dimakan segar, akan tetapi mendapatkan nama (stigma) yang negatif karena baunya. Kandungan suatu tanaman dalam satu familia biasanya tidak berbeda jauh, petai salah satu jenis biji-bijian berbau tak sedap yang terbukti mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi berada dalam satu familia (Leguminosae) dengan jengkol, dengan dasar ini penelitian tentang aktifitas antioksidan dan aktifitas penangkap radikal biji jengkol perlu dilakukan sehingga akhirnya diharapkan nilai ekonominya akan meningkat, disamping itu perlu juga dilakukan skrining fitokimia awal untuk mengetahui gambaran kandungan kimia dalam biji jengkol terutama turunan polifenol dan flavonoid yang mendukung aktifitasnya sebagai antioksidan dan penangkap radikal.

METODE PENELITIAN

Bahan: serbuk simplisia biji jengkol (*Archidendron jiringa*), etanol (E. Merck p.a) dan aluminium foil, aqua bidestilata, Dapar Trisma Hidrochlorida (Sigma) NaOH 0,1 N. DPPH (2,2 – difenil-1-pikril hidrazil), vitamin C (E. Merck p.a), aqua bebas CO₂, aquadest.

Alat: alat gelas, seperangkat alat soxhlet, rotary evaporator (*Kika-werke*), neraca analitik (*A&D company.limited*), corong buchner,

vortex, tabung endorf, mikropipet, yellow dan blue tips, stop watch, spektrofotometer UV-Vis (*Spectronic Genesys 10*), kuvet quartz (*Hellma*).

Jalan Penelitian

Pembuatan serbuk biji jengkol

Pada penelitian ini digunakan biji jengkol dari Medan Sumatera Utara pada bulan Agustus, dipilih biji tua dan segar dan telah berkulit coklat sempurna. Biji dicuci kemudian dibuat simplisia yang kemudian diserbuk diayak dengan ukuran 40 mesh.

Pengujian kualitatif dengan metode tabung pada serbuk dan ekstrak etanol 70% biji jengkol.

Uji pendahuluan: Serbuk biji jengkol dipanaskan dengan air 10 ml selama 30 menit di atas tangas air mendidih, larutan yang terjadi disaring melalui kapas, diamati warnanya, selanjutnya ditambah larutan KOH, diamati lagi warna larutannya.

Uji polifenol: Sejumlah fraksi air dan fraksi etil asetat ditambah pereaksi FeCl₃ 3 tetes. Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya polifenolat. Uji diulang dengan etanol 80% (10 ml) selama 10 menit dalam penangas air.

Uji flavonoid

Larutan percobaan: 0,5 serbuk tumbuhan dipanaskan dengan 10ml metanol selama 10 menit di atas tangas air. Disaring selagi panas, diencerkan filtrat dengan 10 ml air. Setelah dingin ditambah 5 ml wash benzena, dikocok hati-hati, dibiarkan. Diambil lapisan metanol (lapisan bawah) dan diuapkan. Residu dilarutkan dalam 5 ml etil asetat dan disaring.

Uji Taubeck: Diuapkan hingga kering 1 ml larutan percobaan, dibasahkan residu dengan aseton, ditambahkan sedikit erbuk asam borat dan serbuk asam oksalat, dipanaskan hati-hati di atas tangas air dan dihindari pemanasan berlebihan. Residu yang diperoleh dicampur dengan 2 ml eter kemudian diamati dengan UV 366 nm, larutan berfluoresensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid (Anonim, 1995).

Pembuatan ekstrak etanol 70% biji jengkol

Serbuk biji jengkol disari dengan etanol dengan metode maserasi selama 4 kali (sampai maserat terakhir tidak berwarna), dengan tiap kali maserasi 5 X 24 jam, kemudian diuapkan selama 2 kali 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan corong Buchner, ekstrak dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotaevaporator 85°C sampai etanol habis menguap dan dianginkan untuk memperoleh ekstrak kental.

Penentuan aktifitas penangkap radikal biji jengkol

Pembuatan dapar Trisma HCl 0,05 M dengan pH 7,4; Lebih kurang 394,0 mg trisma HCl dilarutkan dengan aqua bidestilata dalam labu takar 50,0 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,05 M, larutan disesuaikan pH-nya menjadi 7,4.

Pembuatan Larutan stok DPPH dengan konsentrasi 10^{-4} M; DPPH 0,01969 g, dilarutkan dengan etanol sampai tanda pada labu takar 250,0 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 2×10^{-4} M, larutan ini disimpan dalam almari es.

Penentuan *Operating Time* (OT): Larutan stok DPPH diambil sebanyak 2,0 ml dan ditempatkan dalam labu takar 5,0 ml, kemudian ditambah 0,5 ml larutan dapar trisma HCl dan ditambah 500 μ l larutan ekstrak biji jengkol dengan konsentrasi 2 %, lalu ditambahkan etanol sampai tanda, kemudian divorteks selama 2 menit. Penentuan operating time dilakukan pada λ 517 nm dengan interval waktu 5 menit sampai didapat absorbansi yang stabil, tidak terlihat adanya penurunan absorbansi. Blangko yang digunakan adalah 500 μ l larutan ekstrak biji jengkol dengan konsentrasi 2 %, 0,5 ml trisma HCl dan etanol ad 5,0 ml. Waktu yang diperoleh digunakan juga untuk Vitamin C.

Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol 70% biji jengkol dan vitamin C; Ekstrak etanol 70% biji jengkol ditimbang saksama 20,0 mg dalam botol timbang kemudian ditambah etanol sebagai pelarut dan divorteks, setelah semua terlarut dipindahkan dalam labu takar 10,0 ml dan ditambahkan etanol sampai tanda, Sehingga didapatkan larutan stok 0,2 % b/v. dari larutan stok dibuat 5 seri konsentrasi yaitu : 2000 μ g/ml, 1000 μ g/ml, 500 μ g/ml, 250 μ g/ml, dan 125 μ g/ml.

Ditimbang saksama 10,0 mg dilarutkan dengan aqua bebas CO₂ dalam labu takar 10,0 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,1% b/v dan selalu dibuat baru. Dari larutan stok dibuat 5 seri konsentrasi yaitu: 1,2 μ g/ml, 2,4 μ g/ml, 3,6 μ g/ml, 4,8 μ g/ml, dan 6 μ g/ml.

Uji aktivitas penangkap radikal

Ekstrak etanol 70% biji jengkol dan vitamin C diuji aktivitas penangkap radikal terhadap radikal DPPH dengan diukur absorbansinya pada λ maks setelah waktu yang didapat pada operating time. Preparasi larutan yang akan diukur adalah sebagai berikut: 2,0 ml larutan stok DPPH ditempatkan dalam labu takar 5,0 ml, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan dapar tris HCl dan 0,5 ml larutan senyawa uji (dengan konsentrasi yang berbeda-beda) pada ekstrak etanol biji jengkol, dan vitamin C, lalu ditambahkan etanol

sampai tanda yang kemudian divorteks selama 2 menit dan didiamkan selama OT (operating time). Blangko yang digunakan adalah 0,5 ml ekstrak etanol 70% biji jengkol atau vitamin C, 0,5 ml dapar trisma HCl, dan etanol ad 5,0 ml. Semua perlakuan direplikasi penimbangan 3 kali, dan replikasi pengukuran 3 kali.

Cara Analisis

Penentuan aktifitas Penangkap Radikal Biji Jengkol. Metode yang digunakan adalah metode DPPH. Hasil aktivitas penangkap radikal fraksi dari ekstrak daun pandan dibandingkan dengan Vitamin C. Besarnya aktivitas penangkap radikal dihitung dengan rumus:

Persen (%) penangkap radikal =

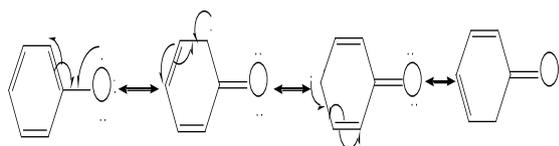
$$\frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

dan dilakukan perhitungan IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi fraksi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (X) dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata (Y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC₅₀-nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik.

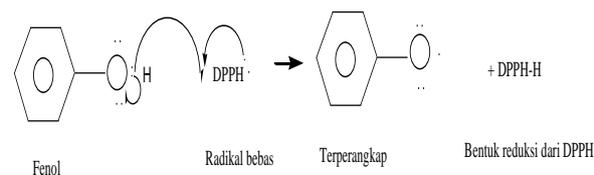
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan uji pendahuluan diketahui bahwa baik serbuk maupun ekstrak etanol 70% mengandung senyawa polifenol dan flavonoid. Flavonoid dalam serbuk maupun ekstrak etanol 70% dapat berupa aglikon maupun glikosida. Aglikon umumnya mempunyai daya antioksidan dan penangkap radikal lebih tinggi daripada glikosida flavonoid, sebab pada glikosida flavonoid gugus hidroksi fenolik yang merupakan gugus aktif antioksidan maupun penangkap radikal telah mengikat gugus gula

Flavonoid dan derivat polifenol merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena ketiga senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan suatu gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik, produk radikal bebas senyawa-senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan karena itu tak reaktif dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang efektif (Fessenden dan Fessenden, 1994).



Struktur resonansi radikal bebas fenol



Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dengan Metode DPPH

Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (Pokorni, 2001). Proses penangkapan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas (Pine, Stanley, 1988) sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorni, 2001).

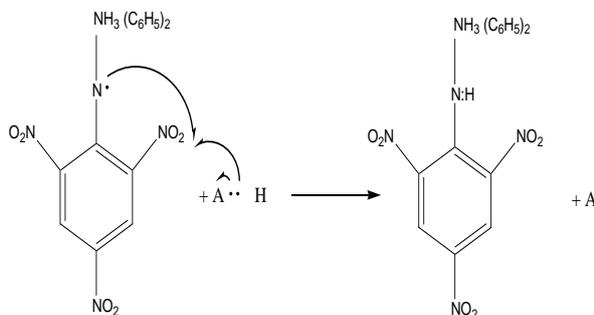
panjang gelombang maksimum (λ maks) DPPH yang didapatkan dalam penelitian ini adalah 519 nm. Dalam metode aslinya, digunakan *operating time* selama 30 menit, tetapi karena dalam kenyataannya waktu reaksi atau *operating time* dari berbagai macam senyawa juga bervariasi (Brand-William *et al.*, 2001 cit Molyneux, 2004) maka penentuan *operating time* (OT) dari senyawa uji yang paling tepat adalah menentukan waktu sempurna reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi (Lu *et al.*, 2001 cit Molyneux, 2004). Kecepatan waktu sempurna reaksi diindikasikan sebagai salah satu parameter dalam penentuan aktifitas penangkap radikal (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998 cit Molyneux, 2004). *Operating time* yang didapatkan dalam penelitian ini adalah 3 jam. Sempurnanya reaksi dibantu dengan perlakuan vorteks selama 2 menit tiap sampel.

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004) dengan mekanisme sebagai berikut :

Dengan keterangan gambar, terjadinya reaksi tersebut maka radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa bukan radikal yaitu DPPH Hidrazin yang stabil (Windono, 2001).

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal adalah nilai IC_{50} (Inhibition concentration 50%), nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan simbol x dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol y dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik.

Hasil percobaan menunjukkan ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} 159,46 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 1; Gambar 1). Vitamin C sebagai senyawa pembanding memiliki nilai IC_{50} 3,72 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 2; Gambar 2)



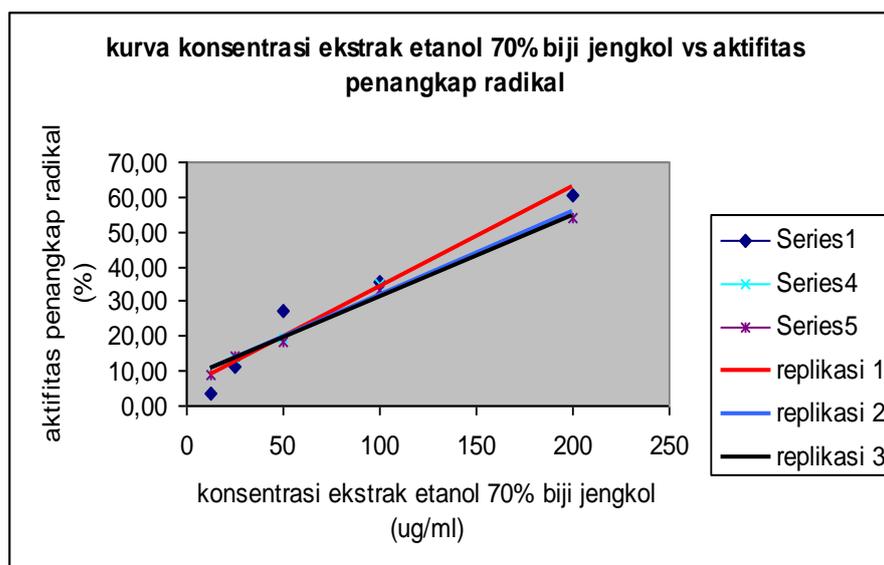
(Windono, 2001)

Tabel 1–Aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol 70% biji jengkol dengan metode DPPH

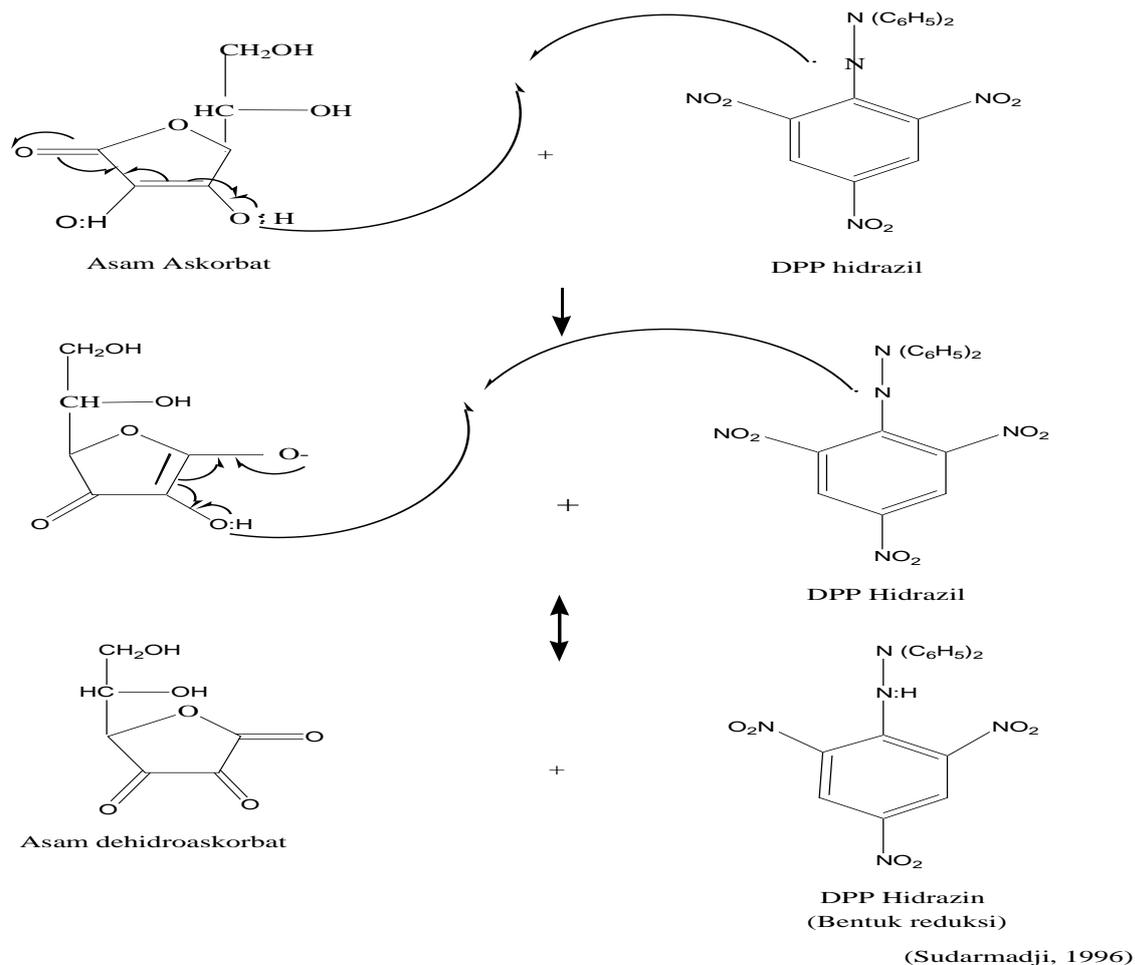
Replikasi	Konsentrasi (ug/ml)	Aktifitas penangkap radikal (%)	Persamaan regresi linier	IC ₅₀ (ug/ml)	Rata rata IC ₅₀ (SD)
I	12,5	3,51	$y = 0.3256x + 0.0547$ $R^2 = 0,9207$	153,59	
	25,0	11,38			
	50,0	27,34			
	100,0	35,29			
	200,0	60,72			
II	12,5	9,09	$y = 0.239x + 7.7874$ $R^2 = 0,9893$	144,07	159,46 (19,02)
	25,0	13,77			
	50,0	19,79			
	100,0	34,76			
	200,0	54,14			
III	12,5	9,09	$y = 0.2355x + 7.4384$ $R^2 = 0,993$	180,73	
	25,0	14,44			
	50,0	18,14			
	100,0	33,07			
	200,0	53,70			

Nilai IC₅₀ vitamin C lebih kecil dibanding dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% biji jengkol karena merupakan senyawa yang murni dibandingkan dengan kedua fraksi yang masih dalam bentuk campuran dari beberapa senyawa. Di samping itu molekul vitamin C mempunyai 2 tempat abstraksi hidrogen yang terhubung secara internal, sehingga ada

abstraksi lanjutan setelah abstraksi hidrogen pertama oleh radikal DPPH, hal ini menyebabkan perbandingan stoikiometrinya 2:1, artinya 2 molekul DPPH ditangkap atau direduksi oleh 1 molekul vitamin C. Jika dihitung daya penangkap radikal (sebagai IC₅₀) vitamin C 42,86 kali lebih besar daripada ekstrak etanol 70% biji jengkol (Gambar 3).



Gambar 1–Profil penghambatan radikal bebas oleh ekstrak etanol 70% biji jengkol



Gambar 3– Mekanisme reaksi yang terjadi antara vitamin C dengan DPPH

Tabel 2–Aktivitas penangkap radikal vitamin C dengan metode DPPH

replikasi	Konsentrasi (ug/ml)	Aktifitas penangkap radikal (%)	Persamaan regresi linier	IC ₅₀ (ug/ml)	Rata rata IC ₅₀ (SD)
I	1,2	24,66	$y = 10,048x + 12,42$ $R^2 = 0,9977$	3,74	3,72(0.02)
	2,4	36,40			
	3,6	47,87			
	4,8	62,14			
	6,0	71,99			
II	1,2	24,57	$y = 10,139x + 12,313$ $R^2 = 0,9945$	3,72	3,72(0.02)
	2,4	35,50			
	3,6	49,32			
	4,8	63,05			
	6,0	71,63			
III	1,2	24,93	$y = 10,305x + 11,804$ $R^2 = 0,9828$	3,71	3,72(0.02)
	2,4	33,78			
	3,6	49,77			
	4,8	64,76			
	6,0	71,27			

Vitamin C mudah mengalami oksidasi oleh radikal bebas karena mempunyai ikatan rangkap dan dengan adanya 2 gugus-OH yang terikat pada ikatan rangkap tersebut, radikal bebas akan mencabut atom hidrogen dan menyebabkan muatan negatif pada atom oksigen yang selanjutnya akan didelokalisasi melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak membahayakan.

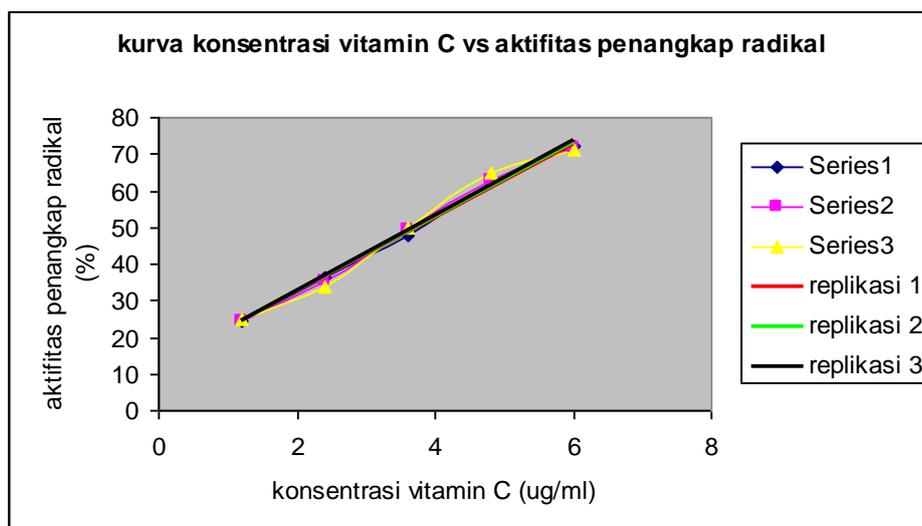
IC₅₀ sebesar 159,46 ug/ml yang kemungkinan disebabkan oleh senyawa flavonoid dan turunan polifenol yang dikandungnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih peneliti ucapkan kepada Eladea Yesikasari atas bantuan yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian dan Departemen Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan dana yang diberikan.

KESIMPULAN

Biji jengkol dan ekstrak etanol 70%-nya mempunyai aktifitas penangkap radikal dengan



Gambar 4—Profil penghambatan radikal bebas oleh vitamin C

DAFTAR ACUAN

- Brand-William W, Bondet V., Berset, C., 2001, Kinetics and mechanism of Antioxidant Activity using The DPPH Free Radical Method, *Lebensmittel-Wissenschaftund-technologie?Food Science and technology*, 30: 609–615
- Cook, N.C., Samman S., 1996, Flavonoids and Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effect, and Dietary Sources, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7; 66–67
- Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000, Oxidant, Oxidative and the Biology of Aging, *Nature*, 239–247
- Lu Y., Foo F.Y., 2000, Antioxidant and radical Scavenging Activities of Polyphenols from apple Pomace, *Food Chemistry*, 68: 81–85
- Molyneux, P., 2004, Use of DPPH to Estimate antioxidant Activity, *Songklanakarin J.Sci. Technol*, 26 (2)
- Nordmann, R., 1993, Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidant Vitamins, *CR Sciences Soc.Biol. Fil.*, 277–285
- Pine Stanley, H., 1988, *Kimia Organik 2*, diterjemahkan oleh Roehyati Joedodibroto dan Sasanti W. Purbo Hadiwidjoyo, Terbitan ke empat, Penerbit ITB, Bandung, Hal. 957,979
- Pokorni, 2001, *Antioxidant in Food*; Practical Applications, CRC Press, New York

Sanchez-Moreno, 1998, Review: Method use to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological System, *Food Tech Sci. Int.*, 8 (3) : 121-137 cit Molyneux, 2004

Vimala, S., 1999, Medicinal Plants: Quality Herbal Products for Healthy Living

Windono, T., 2001, Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1, 1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*vitis vinifera*) Probolinggo biru dan Bali, Artikel Hasil Penelitian, *Artocarpus*, Vol I no.1: Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya hal 34–43