

## POTENSI DAUN ALPUKAT (*Persea Americana* Mill) SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI

Dewa Gede Katja<sup>1</sup>, Edi Suryanto<sup>1</sup> dan Frenly Wehantouw<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sam Ratulangi, Manado

<sup>2</sup>Program Studi Ilmu Pangan, Program Pascasarjana,  
Universitas Sam Ratulangi, Manado

Diterima 09-01-2009; Diterima setelah direvisi 20-01-2009; Disetujui 30-01-2009

### ABSTRACT

**Katja, et al.**, 2009. The potential of avocado (*Persea Americana* Mill) leaf as source of natural antioxidant.

Avocado leaf (*Persea Americana* Mill) is one of folk medicine source to cure several kind of illness. The aim of this research is to investigate avocado leaf as a potential source of nature phenolic for use as antioxidants. Avocado leaf was extracted with ethanol and hydrolyzed with acid. Phenolic total content of avocado leaf extract was determined Folin-Ciocalteu method. The antioxidative activities of extract were determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging and reducing power assay. Total phenolic content of ethanol extract of avocado leaf (EEDA) and ethanol hydrolysis of avocado leaf (EHDA) were 161.43 and 87.79 ppm, respectively, which was expressed as gallic acid equivalent. Test of DPPH showed that EEDA possessed ability highest as free radical scavenging than EHDA. The results also indicated that concentration of both the extracts increased with increasing antioxidant activity. The EEDA at concentration 200 ppm showed reducing power was strongest than BHT  $\alpha$ -tocopherol as positive control. The results obtained in the present study indicated avocado leaf extracts are a potential source of natural antioxidant.

**Keywords :** *Persea Americana* Mill, leaf extract, phenoli content, antioxidant activity

### PENDAHULUAN

Alpukat (*Persea americana* Mill) yang termasuk dalam famili tumbuhan Lauraceae yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini merupakan salah satu tanaman obat yang sangat penting dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering sakit gigi, bengkak karena peradangan dan kecing manis (Perry, 1987; Wijayakesuma, 1996). Sebagai obat tradisional daun alpukat dilaporkan bersifat antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* stain A dan B, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp, *Eschericeae* sp, dan *Bacillus subtilis* (Wijayakesuma, 1996). Analisis kandungan kimia dari tanaman ini yang telah diisolasi adalah saponin, alkaloid, flavonoid, terpena, safrol, dan tanin (Wijayakesuma, 1996; Wiart, 2002)

Beberapa senyawa antioksidan dari sumber tanaman telah diidentifikasi sebagai penangkal radikal bebas atau penangkal *reactive oxygen species* (ROS). Dalam sistem kehidupan, ROS termasuk radikal bebas seperti radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), hidrogen

peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen singlet ( $^1\text{O}_2$ ) diketahui mampu menyerang komponen biologi seperti lipida, protein, vitamin dan DNA yang selanjutnya dipercaya sangat kuat berhubungan dengan proses penuaan, mutagenesis, karsinogen dan atherosklerosis (Shahidi, 1997; Halliwell dan Aruoma, 1997).

Akhir-akhir ini industri makanan, farmasi dan kosmetika saat ini tertarik untuk mencari sumber baru dari antioksidan alami sebagai alternatif untuk menggantikan antioksidan sintesis. Penggunaan antioksidan sintesis banyak disinyalir mempunyai efek toksik dan promosi karsinogenesis (Ito *et al.*, 1983). Peningkatan konsumsi buah-buahan dan sayur-sayuran dapat dihubungkan dengan rendahnya resiko penyakit degeneratif termasuk penyakit kardiovaskular, kanker, katarak, gangguan otak dan gangguan kekebalan tubuh (Ames dan Shigenaga, 1993). Sejumlah senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan yang banyak terdapat pada tanaman tropis dan subtropis yang banyak tumbuh di Indonesia. Dalam penelitian ini, belum pernah didapatkan informasi mengenai kemampuan komponen fenolik dari daun alpukat dalam

menangkap radikal bebas. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui potensi daun alpukat sebagai antioksidan yang diekstraksi dengan pelarut etanol dan dihidrolisis dengan asam.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Daun alpukat diperoleh dari Bahu, Malalayang, Manado. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah etanol, natrium karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, buffer fosfat pH 6,6, kalium ferisianida, besi (III) klorida, BHT,  $\alpha$ -tokoferol, asam klorida diperoleh dari Merck (Darmstat, Germany). Asam galat, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma Chemical Co. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: timbangan analitik, gelas ukur, alat-alat gelas, kertas saring Whatman No. 42, rotari evaporator dan spektrofotometer Milton Roy 501.

### Preparasi Sampel

Sebelum diekstraksi sampel dipreparasi untuk memperoleh sampel berupa serbuk daun alpukat. Daun alpukat dibersihkan terlebih dahulu selanjutnya dikeringanginkan selama 5 hari kemudian diblender sampai halus kemudian diayak dengan menggunakan ayakan ukuran 65 mesh.

### Ekstraksi Daun Alpukat

Ekstraksi serbuk daun alpukat dalam penelitian ini dilakukan dua tahapan. Tahap pertama, sebanyak 5 g serbuk daun alpukat diekstraksi dengan 25 mL etanol 95% selama 2 jam. Setelah itu disaring dan diperoleh filtrat etanol. Residunya diekstraksi lagi dengan cara yang sama hingga diperoleh filtrat ekstraksi kedua. Ekstrak yang diperoleh digabung dan dievaporasi untuk menghilangkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak etanol daun alpukat (EEDA). Tahap kedua, sebanyak 5 g serbuk daun alpukat dihidrolisis dengan 25 mL asam klorida 2 M kemudian dipanaskan pada suhu 90 °C selama 2 jam. Setelah 2 jam, sampel disaring dan filtrat yang diperoleh ditampung. Kemudian residunya diekstraksi lagi seperti cara yang sama sehingga diperoleh filtrat yang kedua. Hasil yang diperoleh kemudian digabung. Filtrat yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan etil asetat, lapisan atas diambil dan lapisan bawah dibuang. Selanjutnya lapisan atas dievaporasi untuk

menghilangkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak hidrolisis daun alpukat (EHDA). Kedua ekstrak kemudian ditimbang dan disimpan pada -20 °C sebelum digunakan untuk pengujian.

### Efek konsentrasi ekstrak daun alpukat

Pengujian aktivitas antioksidatif ekstrak daun alpukat dicobakan pada konsentrasi 0, 50, 100, 150 dan 200 ppm.

### Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenol dalam ekstrak daun alpukat ditentukan dengan metode Jeong *et al.* (2005). Sampel ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (50%) dalam tabung reaksi dan kemudian campuran ini divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, 1 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% ditambahkan. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

### Penentuan aktivitas penangkapan radikal DPPH

Penentuan aktivitas penangkap (*scavenger*) radikal bebas dari ekstrak biji *X. granatum* diukur dengan metode Burda dan Oleszek (2002). Sebanyak 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,2 mM dalam etanol ditambahkan 1 mL ekstrak (5-200 ppm). Tingkat berkurangnya warna dari larutan menunjukkan efisiensi penangkap radikal. Lima menit terakhir dari 30 menit, absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  517 nm. Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

Aktivitas penangkap radikal bebas (%)

$$= 100 \times \left( 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right)$$

### Penentuan daya reduksi

Daya reduksi ekstrak daun alpukat ditentukan menurut Yen dan Chen (1995). Ekstrak andaliman (5-200 ppm) dilarutkan dalam 1 mL air deionisasi selanjutnya dicampur dengan buffer fosfat (2,5 mL, 0,2 M, pH 6,6) dan 2,5 mL kalium ferisianat 1 %, campuran diinkubasi pada 50°C

selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi campuran 2,5 mL asam trikloroasetat ditambahkan dan divortex selama 5 menit, selanjutnya disentrifusi pada 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 2,5 mL lapisan atas dari larutan tersebut ditambah dengan 2,5 mL air deionisasi dan 0,5 mL besi (III) klorida 0,1%. Absorbansi iukur pada  $\lambda$  700 nm dengan spektrofotometer. Meningkatnya absorbansi dari campuran tersebut berarti menunjukkan bertambahnya daya reduksi.

### Analisa Statistika

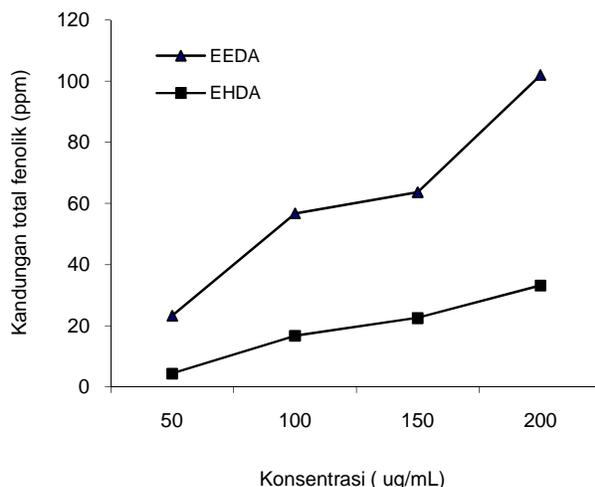
Semua eksperimen dilakukan dengan dua kali ulangan dan data yang didapat diolah menggunakan statistik ( $p < 0,005$ ) dilakukan

menggunakan software SPSS versi 15. Duncan's multiple range test (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan total fenol ekstrak daun alpukat

Menurut Siddhuraju dan Becker (2003), komponen fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Karena itu, untuk mengetahui potensi senyawa antioksidan dalam daun alpukat dilakukan pengujian total fenol dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Huang dan Yen, 2002). Metode ini adalah untuk menentukan secara kuantitatif kandungan fenolik dalam ekstrak tanaman, dengan metode ini diperoleh hasil seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kandungan total fenolik dari berbagai konsentrasi ekstrak daun alpukat. EHDA: ekstrak etanol daun alpukat; EEDA ekstrak melalui hidrolisis dengan asam klorida

Dari Gambar 1 di atas dapat dilihat bahwa kandungan total fenol pada ekstrak etanol daun alpukat (EEDA) lebih besar daripada ekstrak melalui hidrolisis dengan asam klorida (EHDA). Menurut Larson (1988), komponen fenolik yang dikenal sebagai antioksidan primer dari tanaman bersifat polar. Kandungan total fenol dalam ekstrak ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin-Ciocalteu yang mengandung senyawa asam fosfomolibdat-fosfatungstat, yang kemudian membentuk senyawa kompleks baru yang berwarna biru (Shahidi dan Nacz, 2004) keberadaan dari senyawa kompleks ini dapat diukur secara kuantitatif pada  $\lambda$  750 secara spektrofotometer dan

hasilnya dinyatakan sebagai mg asam galat/kg dengan menggunakan larutan standar asam galat. Semakin tua intensitas warna larutan menunjukkan kadar total fenol dalam sampel semakin besar. Karena itu ekstrak selalu mengandung campuran antara senyawa fenol dengan golongan lain yang larut dalam pelarut yang digunakan.

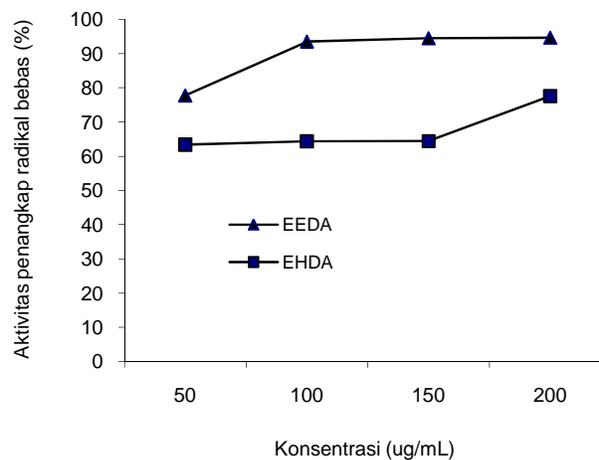
Shahidi dan Nacz (2004) menyatakan bahwa antioksidan senyawa fenolik dapat berperan sebagai donor hidrogen kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah yang berasal dari senyawa fenolik yang kehilangan atom hidrogen, struktur radikal baru ini menjadi stabil karena terjadinya

resonansi pada cincin benzenanya (radikal peroksi).

### Aktivitas penangkapan radikal DPPH dari ekstrak daun alpukat

Uji DPPH merupakan metode sangat sederhana untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Pengujian ini dilakukan dengan membandingkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dari kedua jenis ekstrak daun alpukat yang berbeda konsentrasinya menggunakan metode Burda dan Oleszek, 2001) yang dimodifikasi.

Menurut Olezelik *et al.* (2003), senyawa DPPH sensitif terhadap beberapa basa Lewis dan jenis pelarut, serta oksigen. Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna larutan. Larutan yang mula-mula berwarna ungu akan berubah menjadi warna kuning. Perubahan ini terjadi saat radikal DPPH ditangkap oleh antioksidan yang melepas atom hidrogen untuk menangkap DPPH-H stabil. Menurut Yen dan Duh (1994), makin cepat nilai absorbansi turun, makin potensial antioksidan tersebut dalam mendonorkan hidrogen. Hasil pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



**Gambar 2.** Aktivitas penangkapan radikal bebas dari berbagai konsentrasi ekstrak daun alpukat  
EHDA: ekstrak etanol daun alpukat; EHDA ekstrak melalui hidrolisis dengan asam klorida

Dari Gambar 2 terlihat bahwa kedua ekstrak menunjukkan kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH. Pada konsentrasi yang sama EEDA memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang secara signifikan lebih besar dibanding ekstrak EHDA ( $p < 0,05$ ). Selain aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH juga dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi ekstrak. Menurut Duh (1998), efek penangkapan radikal bebas DPPH meningkat dengan peningkatan jumlah ekstrak. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH umumnya naik dengan penambahan ekstrak sampai dengan konsentrasi tertentu, kemudian aktivitas akan turun dengan penambahan konsentrasi yang lebih besar lagi (Lai *et al.*, 2001).

Pada ekstrak EEDA menunjukkan kenaikan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dimulai dari konsentrasi 50 ppm sampai 200 ppm. Data ini menunjukkan bahwa ada kecenderungan naiknya konsentrasi ekstrak yang diberikan menandakan kenaikan aktivitas ekstrak dalam menangkap radikal DPPH. Akan tetapi, secara statistik konsentrasi 100,

150 dan 200 ppm tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Pada ekstrak EHDA pada berbagai konsentrasi juga menunjukkan kecenderungan yang sama dengan ekstrak EEDA. Kedua ekstrak menunjukkan kenaikan aktivitas dimulai pada konsentrasi 100 ppm untuk EEDA sedangkan EHDA pada konsentrasi 150 ppm. Hasil memperlihatkan komponen aktif diperkirakan lebih banyak terdapat pada ekstrak EEDA dibandingkan EHDA. Hal ini didukung analisis kandungan total fenolik pada setiap konsentrasi ekstrak lebih besar terdapat pada EEDA daripada EHDA.

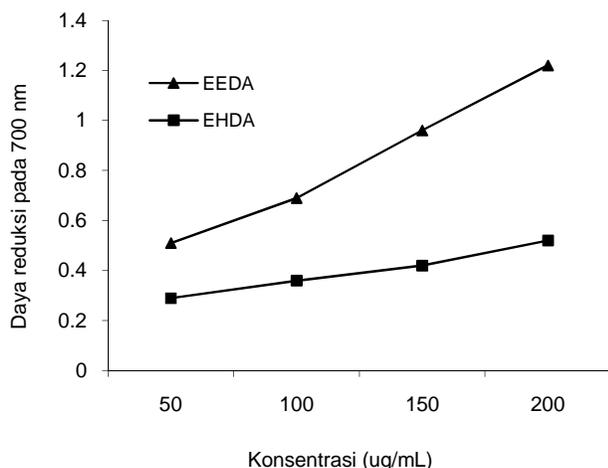
Aktivitas EEDA terhadap radikal bebas DPPH dibandingkan dengan BHT dan  $\alpha$ -tokoferol sebagai kontrol positif pada level 200 ppm. EEDA pada konsentrasi 100, 150 dan 200 ppm menunjukkan aktivitas penangkap radikal paling tinggi diikuti BHT dan  $\alpha$ -tokoferol. Persentase penangkapan radikal bebas DPPH dari EEDA pada 100, 150 dan 200 ppm berturut-turut adalah 93,54; 94,51 dan 94,71% sedangkan BHT dan  $\alpha$ -tokoferol adalah 80,44% dan

77,28%. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas penangkap radikal bebas DPPH dari daun alpukat sangat berpotensi sebagai antioksidan alami yang dapat digunakan sebagai antioksidan bahan pangan.

### Penentuan kemampuan mereduksi ekstrak daun alpukat

Pengujian antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi ekstrak daun alpukat dengan metode Oyaizu (1986), dilakukan untuk membandingkan kemampuan mereduksi dari kedua jenis ekstrak daun alpukat yang berbeda

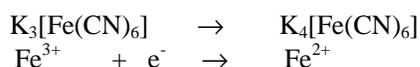
konsentrasinya. Menurut Yen dan Duh (1998) bahwa kemampuan mereduksi komponen bioaktif berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dengan kemampuan mereduksi menunjukkan korelasi positif yang tinggi (Yen dan Duh, 1993; Duh *et al.*, 1997). Menurut Lai *et al.* (2001), dalam penentuan daya reduksi, reduktor (antioksidan) dalam sampel akan mereduksi  $Fe^{3+}$  (kompleks kalium ferisianida [ $K_3Fe(CN)_6$ ]) menjadi  $Fe^{2+}$  (bentuk ferro). Hasil pengujian daya reduksi dari kedua jenis ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Daya reduksi berbagai konsentrasi ekstrak daun alpukat. EEDA: ekstrak etanol daun alpukat; EHDA ekstrak melalui hidrolisis dengan asam klorida

Dari Gambar 3 terlihat bahwa ekstrak etanol (EEDA) memiliki kemampuan mereduksi lebih besar dibanding ekstrak EHDA. Dari Gambar 3. juga menunjukkan bahwa ada hubungan antara daya reduksi dengan kandungan total fenol dan penangkap radikal dalam DPPH. Daya reduksi dari kedua ekstrak ini menunjukkan peningkatan dengan bertambahnya konsentrasi, makin tinggi konsentrasi ekstrak makin kuat kemampuan mereduksinya.

Ekstrak daun alpukat yang ditambahkan dalam larutan kalium ferisianida 1% akan mereduksi ion  $Fe^{3+}$  dalam larutan menjadi ion  $Fe^{2+}$ . Reaksi ini terjadi pada kondisi pH 6,6. Reaksinya adalah sebagai berikut :



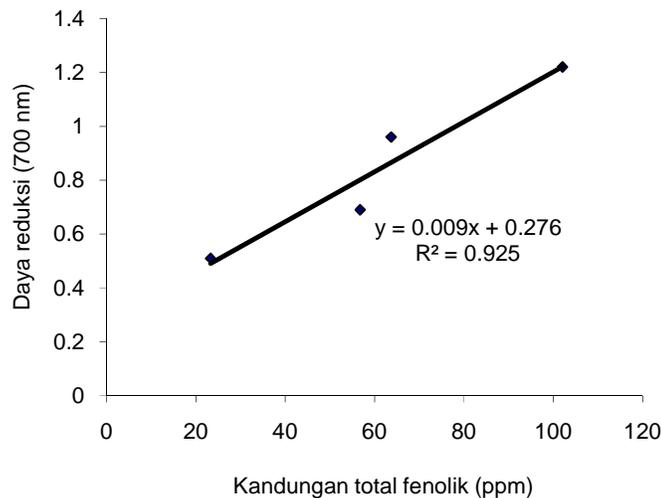
Setelah itu, asam trikloroasetat 10% ditambahkan ke dalam larutan agar kompleks kalium ferisianida mengendap dan dapat

dipisahkan. Proses pemisahannya dibantu dengan sentrifugasi. Supernatan yang diambil direaksikan dengan larutan  $FeCl_3$  0,1% untuk membentuk kompleks berwarna biru (*Pearl's Prussian Blue*) sehingga dapat dibaca pada spektrofotometri pada panjang gelombang 700 nm (Shahidi, *et al.*, 2004).

Terbentuknya warna biru menyebabkan kenaikan pada nilai absorbansi sampel. Makin biru warna yang terbentuk pada sampel makin tinggi nilai absorbansinya (Lai *et al.*, 2001). Ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun alpukat tinggi. Menurut Yen dan Chen (1995), ekstrak dengan daya reduksi tinggi merupakan donor elektron yang bagus yang memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi berantai radikal dengan cara mengubah radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil. Aktivitas antioksidan dari reduktor berdasarkan pada pemecahan rantai radikal akibat pemberian atom hidrogen (Yen dan Duh, 1993).

Jika dibandingkan kemampuan mereduksi ekstrak EEDA dengan antioksidan BHT dan  $\alpha$ -tokoferol sebagai pembanding pada konsentrasi 200 ppm, EEDA menunjukkan kemampuan mereduksi lebih kuat dibandingkan dengan BHT dan  $\alpha$ -tokoferol. Daya reduksi BHT dan  $\alpha$ -tokoferol adalah 0,86 dan 0,61, sedangkan EEDA

pada konsentrasi 150 dan 200 ppm berturut-turut adalah 0,96 dan 1,22. Data ini mengindikasikan bahwa ekstrak EEDA memiliki kemampuan kuat sebagai donor elektron dan dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya menjadi produk yang sangat stabil serta mengakhiri reaksi rantai radikal.



**Gambar 4.** Hubungan antara kandungan total fenolik dengan kemampuan mereduksi ekstrak daun alpukat

Gambar 4. menunjukkan hubungan kandungan total fenolik dengan kemampuan mereduksi dari ekstrak daun alpukat. Kandungan fenolik meningkat dengan bertambahnya kemampuan mereduksi dari ekstrak. Data ini juga memperlihatkan bahwa sifat komponen fenolik dalam ekstrak daun alpukat sesuai dengan perkembangan kemampuan mereduksi. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) antara kandung fenolik dan kemampuan mereduksi untuk ekstrak termasuk cukup tinggi, yaitu 0,9254. Nilai yang tinggi tersebut menandakan adanya hubungan linear yang sangat kuat antara komponen fenolik yang terdapat dalam ekstrak daun alpukat dengan kemampuan mereduksi. Hasil ini didukung dengan penelitian Yen dan Duh (1993) yang melaporkan bahwa daya reduksi ekstrak kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) meningkat dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sifat antioksidan dari EEDA dan EHDA mempunyai hubungan dengan perkembangan kemampuan mereduksi. Oleh karena itu, ketiga ekstrak ini mungkin mengandung reduktan dan bereaksi dengan radikal bebas untuk menjadi radikal yang

stabil dan selanjutnya mengakhiri reaksi rantai radikal tersebut

## KESIMPULAN

Kandungan total fenol dari ekstrak etanol daun alpukat tanpa dihidrolisis (EEDA) lebih besar dibanding ekstrak HCl 2 M daun alpukat yang dihidrolisis (EHDA). Kandungan total fenol kedua ekstrak meningkat secara signifikan dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Ekstrak EEDA memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi yang lebih besar dibanding ekstrak EHDA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ames, B.N. dan M.K. Shigenaga. 1993. Oxidants are a Major Contributor in Cancer and Aging. Dalam B. Halliwell and O.I. Aruoma (Eds). *DNA and Free Radicals*, Ellis Horwood Ltd., West Sussex, U.K.
- Burda, S. Dan W. Oleszek. 2001. Antioxidants and Antiradical Activities of Flavanoids. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2774-2779

- Duh, P.D., W.J. Yen, P.C. Du dan G.C. Yen. 1997. Antioxidant Activity of Mung Bean Hulls. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 1059-1063.
- Halliwell, B dan O.I. Aruoma. 1997. Free Radical and Antioxidants: The need for *in vivo* Markers of Oxidative Stress. Dalam Aruoma, O.I. dan S-L Cuppett. (eds.). *Antioxidant Methodology: In Vivo and in Vitro Concepts*. AOCS Press, Champaign, Illinois .
- Hung, C-Y. dan G-C. Yen, 2002 antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 2993-2997
- Ito, N., S. Fukushima, A. Hasegawa, M. Shibata dan T. Ogiso. 1983. *J. of National Cancer Institute.* 70: 343-347.
- Jeong, S.M., S.Y. Kim, D.R. Kim, S.C. Jo, K.C. Nam, D.U Ahn dan S.C. Lee. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *J. Agric. Food Chem.* 52: 3389-3393.
- Lai, L-S. S-T. Chou, W-W. dan Chao. 2001. Studies on the antioxidative Activities of Hsian-tsao (*Mesona Procumbens Hemsl*) Leaf Gum. *J. Agric. Food Chem.* 49: 963-968
- Larson, R.A. 1988. The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry.* 27: 969-977
- Ozcelik, B., J.H. Lee dan D.B. Min. 2003. Effect of Light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J. Food Sci.* 68: 487-490
- Perry, L.M. 1978. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. The MIT Press, London.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioksidants*, Departemnt of Biochemistry Memorial University of Newfoundland St. Jhon's, Newfoundland. AOCS Press. Canada.
- Shahidi, F. dan M. Nazek. 2004. *Phenolich in Food Neutraceuticals*. CRC Press. Boca Raton, Florida
- Sidduraju, P. dan K. Becker. 2003. Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Tree Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera Lam.*) Leaves. *J. Agric. Food Chem.* 51:2144-2155
- Wuart, C. 2002. *Medicinal Plants of Southeast Asia*. Prentice Hall, Malaysia.
- Wijayakusuma, H., S. Dalimartha dan A. S. Wirian. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid IV. Cet. Kedua. Jakarta: Pustaka Kartini
- Yen, G-C. dan P-D. Duh. 1993. Antioxidative Properties of methalonic Extracts from Peanut Hulls. *J. Agric. Oil Chem. Soc.* 70 : 383-386
- Yen, G-C. dan H-Y. Chen, 1995. Antioxidants Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 383-386