

Aktivitas Antioksidan dan Penghambat Xantin Oksidase dari Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Ruth Elenora Kristanty¹, Abdul Mun'im², Katrin²

ABSTRACT: *The fruits of andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.) are well known in North Sumatera and commonly used as seasoning for Batak traditional cuisine. Aims of this study were to determine the scavenging activity of free radicals and xanthine oxidase inhibitory activity from the andaliman fruit extracts after macerated gradually in petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, n-butanol, and methanol. Activity assays were evaluated in vitro by using DPPH and enzyme xanthine oxidase. The results showed that n-butanol extract has medium antioxidant activity with IC₅₀ values of 53.51 µg/mL and methanol extract has strong antioxidant activity with IC₅₀ values of 26.39 µg/mL. Xanthine oxidase inhibitory activity of the extract given by n-butanol and methanol are very strong with IC₅₀ values of 3.69 µg/mL and 4.03 µg/mL.*

Keywords : *antioxidant, free radical, xanthine oxidase, Zanthoxylum acanthopodium DC.*

ABSTRAK: Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) adalah tanaman liar yang tumbuh di daerah Sumatera Utara, umumnya digunakan sebagai rempah-rempah untuk bumbu masakan tradisional masyarakat Batak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas peredaman radikal bebas dan penghambatan xantin oksidase dari ekstrak buah andaliman setelah dimaserasi secara bertingkat dengan petroleum eter, diklorometana, etil asetat, *n*-butanol, dan metanol. Pengujian aktivitas dilakukan secara *in vitro* menggunakan DPPH dan enzim xantin oksidase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang menengah dengan nilai IC₅₀ sebesar 53,51 µg/mL dan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 26,39 µg/mL. Aktivitas penghambatan xantin oksidase yang diberikan oleh ekstrak diklorometana, *n*-butanol, dan metanol sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,9 µg/mL, 3,69 µg/mL, dan 4,03 µg/mL.

Kata kunci: *Antioksidan, radikal bebas, xantin oksidase, Zanthoxylum acanthopodium DC.*

¹ Jurusan Analisa Farmasi dan Makanan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II, Indonesia.

² Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok.

Korespondensi:

Ruth Elenora Kristanty

Email : ruth.elenora@yahoo.com

PENDAHULUAN

Radikal bebas dihasilkan secara normal di dalam tubuh oleh metabolisme sel, peradangan, atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan (1). Jika terjadi paparan radikal yang melebihi daya proteksi endogen maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen untuk mengatasi masalah-masalah seperti penyakit degeneratif (2). Kerja antioksidan dapat dibagi melalui dua mekanisme utama yaitu dengan meredam radikal bebas dan meniadakan sumber inisiasi oksidatif seperti dengan menghambat enzim (3). Penghambatan pembentukan radikal bebas melalui mekanisme penghambatan xantin oksidase dapat menurunkan jumlah radikal bebas dan melindungi tubuh dari kerusakan jaringan (4).

Berbagai macam antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) telah dilaporkan memiliki beberapa efek samping seperti kerusakan hati dan mutagenesis (5). Alopurinol sebagai obat sintetis yang telah lama digunakan untuk mengobati penyakit gout (6) dengan mekanisme kerja menghambat xantin oksidase (7), juga dilaporkan memberikan banyak efek samping seperti reaksi alergi pada kulit dan diare (8). Dengan demikian, diperlukan obat alternatif yang memiliki aktivitas pengobatan lebih baik dan aman, yaitu dari bahan alam atau tumbuhan.

Dalam masyarakat Batak, dikenal rempah yang tergolong tanaman liar yakni andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang merupakan tanaman khas daerah Sumatera Utara (9,10) tetapi belum dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tanaman-tanaman dari genus *Zanthoxylum* (bagian kulit kayu dan daun) biasanya digunakan secara luas untuk mengobati inflamasi dan rematik (8). Buah andaliman telah dilaporkan memiliki aktivitas anti inflamasi (11) dan juga telah diteliti aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah andaliman dalam beberapa sistem pangan (11) serta aktivitas antiradikal ekstrak etanol buah andaliman konsentrasi 200 ppm yang menunjukkan daya inhibisi sebesar 61,81% (12). Penelitian antioksidan terhadap buah andaliman yang telah dilaporkan

masih terbatas pada pengujian terhadap ekstrak kasar dan penelitian yang mengungkap aktivitas buah andaliman dalam menghambat xantin oksidase belum pernah dilaporkan sampai saat ini.

METODE PENELITIAN

Bahan Uji

Buah segar andaliman diperoleh dari Kabupaten Dairi, Sumatera Utara. Tanaman andaliman dideter-minasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Pusat Penelitian Biologi, Cibinong. Bagian tanaman yang digunakan sebagai simplisia adalah buah yang berwarna hijau. Buah sebanyak 13 kg disortasi, dicuci, dan dikeringkan di lemari pengering pada suhu 40°C. Selanjutnya simplisia dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain petroleum eter, *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, dan *n*-butanol teknis (Brataco Chemika, Indonesia) yang telah didestilasi, kloroform p.a, metanol p.a, dan *n*-heksana p.a (Merck, Jerman), air suling demineral (Brataco Chemika, Indonesia), dimetil sulfoksida atau DMSO (Merck, Jerman), Alopurinol (Pyridam Farma, Indonesia), silika gel G-60 (Merck, Jerman), DPPH (Sigma Aldrich, Singapura), BHT (Sigma Aldrich, Singapura), Kuersetin (Sigma Aldrich, Singapura), Xantin (Sigma Aldrich, Singapura), Xantin oksidase (Sigma Aldrich, Singapura).

Ekstraksi

Sebanyak 3 kg serbuk simplisia buah andaliman dimaserasi secara bertingkat mulai dari pelarut petroleum eter, diklorometana, etil asetat, *n*-butanol, dan metanol, kemudian dikocok selama 6 jam dengan pengaduk mekanik. Campuran didiamkan 24 jam lalu disaring dan filtrat dikumpulkan dalam suatu wadah. Total pemakaian pelarut adalah 9 L petroleum eter, 8 L diklorometana, 8 L etil asetat, 10 L *n*-butanol, dan 7 L metanol. Masing-masing filtrat diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu

Tabel 1. Data Rendemen Ekstrak Buah Andaliman

No.	Ekstrak	Bobot ekstrak (g)	Bobot Simplisia (g)	Rendemen (%)
1.	Petroleum eter	100		3,33
2.	Diklorometana	60		2,00
3.	Etil asetat	50	3000	1,67
4.	n-butanol	65		2,17
5.	Metanol	30		1,00

50-60°C kecuali ekstrak *n*-butanol pada suhu 75°C sehingga diperoleh ekstrak kental petroleum eter, diklorometana, etil asetat, *n*-butanol dan metanol, lalu ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap bobot simplisia awal (tabel 1).

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif melalui peredaman radikal DPPH terhadap masing-masing ekstrak kental dilakukan menggunakan metode Blois (1958) yang dimodifikasi. Sebanyak 1,0 mL diambil dari masing-masing larutan uji yang telah dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 50, 100, dan 200 ppm, dicampur dengan 1,0 mL larutan DPPH 100 µg/mL dan 2,0 mL metanol p.a serta dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu 37°C terlindung dari cahaya. Serapan larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian dilakukan duplo. Prosedur yang sama juga dilakukan terhadap BHT sebagai larutan standar dengan konsentrasi 1, 2, 4, 10, dan 16 ppm.

Persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan persamaan :

$$Q = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan :

Q = persentase inhibisi (%)

A₀ = serapan kontrol (pelarut + DPPH)

A₁ = serapan larutan uji (pelarut + DPPH + sampel)

Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (7). Ekstrak yang mempunyai nilai IC₅₀ antara 10-50 µg/mL adalah ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang kuat (13).

Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase oleh Ekstrak

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktivitas penghambatan xantin oksidase oleh masing-masing ekstrak kental dengan metode Owen dan Johns (1999) yang dimodifikasi. Pengujian sampel dilakukan duplo.

Larutan yang disiapkan untuk pengujian terdiri dari larutan xantin sebagai substrat, larutan enzim (xantin oksidase), dan larutan uji. Larutan substrat yang digunakan adalah larutan xantin 0,15 mM yang diperoleh dari pengenceran larutan stok 1 mM dengan menimbang 15,21 mg xantin dan diencerkan dengan air demineralisasi dalam labu ukur 100 mL. Larutan xantin oksidase 0,1 unit/mL dibuat dengan menimbang 9,09 mg xantin oksidase dan dilarutkan dengan larutan dapar fosfat sampai 10,0 mL. Larutan uji diperoleh dengan menimbang 10,0 mg ekstrak kental dan dilarutkan dalam sedikit DMSO kemudian dilarutkan dalam dapar fosfat menggunakan labu ukur 10 ml sebagai larutan induk (1000 ppm) lalu diencerkan dengan dapar fosfat hingga diperoleh konsentrasi akhir larutan sampel sebesar 100, 50, 20, 10, 5 dan 1 ppm.

Kondisi optimum pengujian mengacu pada optimasi yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu pada waktu inkubasi 40 menit, suhu 30°C, pH 7,8, dan konsentrasi substrat (xantin) 0,15 mM. Masing-masing sampel sebanyak 1,0 mL dimasukkan

ke dalam tabung reaksi terpisah dengan variasi konsentrasi tertentu. Selanjutnya ke dalamnya ditambahkan 2,9 mL larutan dapar fosfat dan 2,0 mL xantin lalu diprainskubasi pada suhu 30°C selama 10 menit. Xantin oksidase 0,1 unit/mL sebanyak 0,1 mL ditambahkan lalu diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 30 menit. Setelah masa inkubasi, ke dalam campuran dengan segera ditambahkan asam klorida 1N sebanyak 1,0 mL untuk menghentikan reaksi dan dihomogenkan. Campuran larutan uji selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang hasil optimasi (284 nm) untuk melihat besarnya pembentukan asam urat yang terjadi dalam larutan uji kemudian ditentukan seberapa besar persen hambatan ekstrak yang diujikan terhadap xantin oksidase.

Persentase hambatan xantin oksidase (XO) dihitung dengan persamaan berikut (14):

$$\% \text{ hambatan xantin oksidase} = 1 - \frac{B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = selisih serapan blanko dengan kontrol blanko ($A_1 - A_0$)

B = selisih serapan sampel dengan kontrol sampel ($B_1 - B_0$)

Nilai IC_{50} diperoleh melalui analisis regresi linier yang diplot antara konsentrasi sampel terhadap persentase hambat (1). Pengujian juga dilakukan terhadap blanko, kontrol blanko, dan kontrol sampel.

Penapisan Fitokimia

Terhadap ekstrak yang aktif menurut hasil uji peredaman radikal DPPH dan uji penghambatan xantin oksidase, dilakukan pemeriksaan kandungan kimia dengan beberapa pereaksi kimia antara lain pereaksi untuk alkaloid, flavonoid, triterpenoid/steroid, glikosida, saponin, dan tanin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk buah andaliman dimaserasi secara bertingkat mulai dari pelarut non polar sampai dengan pelarut polar yang bertujuan untuk mem-

Tabel 2. Hasil uji antioksidan ekstrak buah andaliman

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak petroleum eter	200	14,92	220,67
	100	14,61	
	50	8,19	
	20	6,83	
Ekstrak diklorometana	200	33,71	88,26
	100	18,27	
	50	11,44	
	20	12,12	
Ekstrak etil asetat	200	29,91	83,50
	100	18,34	
	50	9,18	
	20	5,99	
Ekstrak n-butanol	200	46,97	53,51
	100	25,89	
	50	14,43	
	20	8,95	
Ekstrak metanol	100	47,66	26,39
	50	24,87	
	20	12,71	
	10	7,27	
BHT	16	37,09	5,52
	10	26,65	
	4	15,22	
	2	9,23	
	1	6,87	

peroleh ekstrak dengan rentang kepolaran yang berbeda. Diperoleh ekstrak petroleum eter dan ekstrak *n*-butanol dengan rendemen yang lebih besar dibandingkan ekstrak lainnya dan ekstrak metanol sebagai ekstrak dengan rendemen paling kecil.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Andaliman

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif terhadap masing-masing ekstrak buah andaliman dengan metode peredaman radikal DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH yaitu

Tabel 3. Hasil uji penghambatan xantin oksidase oleh ekstrak buah andaliman

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak petroleum eter	1	31,1	9,9
	5	37,8	
	10	53,6	
	20	57,1	
	50	48,5	
	100	49,9	
Ekstrak diklorometana	1	47,3	3,9
	5	56,6	
	10	54,0	
	20	27,7	
	50	50,6	
	100	67,8	
Ekstrak etil asetat	1	49,7	9,54
	5	53,1	
	10	32,1	
	20	42,9	
	50	47,3	
	100	55,0	
Ekstrak <i>n</i> -butanol	1	39,5	3,69
	5	41,3	
	10	46,4	
	20	46,4	
	50	66,4	
	100	69,9	
Ekstrak metanol	1	41,6	4,03
	5	50,7	
	10	49,6	
	20	48,7	
	50	54,7	
	100	56,6	

517 nm. Pengujian larutan sampel dan standar dilakukan untuk mengetahui kemampuan antioksidan yang diberikan oleh ekstrak dan standar.

Hasil pengujian terhadap sampel menunjukkan bahwa ekstrak *n*-butanol dan metanol memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil dibandingkan ekstrak lainnya yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 53,51 dan 26,39 µg/mL. Ekstrak yang mempunyai nilai IC₅₀ antara 50-100 µg/mL adalah ekstrak dengan aktivitas antioksidan menengah dan ekstrak yang mempunyai nilai IC₅₀ antara 10-50 µg/mL adalah ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang kuat (13). Berdasarkan rentang tersebut, ekstrak *n*-

Tabel 4. Hasil uji penghambatan xantin oksidase oleh alopurinol

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
Alopurinol	0,1	45,11	0,02
	0,25	55,42	
	0,5	74,6	
	1	87,56	

butanol memiliki aktivitas antioksidan menengah dan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Diduga ekstrak buah andaliman mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. BHT sebagai antioksidan sintetik memiliki nilai IC₅₀ 5,5 µg/mL yang menunjukkan bahwa senyawa standar tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (<10µg/mL). Nilai IC₅₀ setiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase

Pengujian aktivitas penghambatan masing-masing ekstrak buah andaliman terhadap xantin oksidase dilakukan secara *in vitro*. Prinsip dasar pengujian ini adalah mengukur serapan dari asam urat sebagai produk akhir dari reaksi katalisis xantin oksidase terhadap substratnya yaitu xantin (17) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang hasil optimasi, suhu optimum, pH optimum dan konsentrasi substrat yang optimum. Panjang gelombang maksimum yang digunakan adalah 284 nm. Dari hasil pengukuran, kondisi optimum ditunjukkan pada suhu 30°C dan pH 7,8 dan konsentrasi substrat yang digunakan pada uji penghambatan aktivitas xantin oksidase adalah 0,15 mM.

Pengujian larutan blanko dan kontrol blanko dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak, pengujian larutan sampel dan alopurinol sebagai standar dilakukan untuk mengetahui kemampuan penghambatan aktivitas enzim yang diberikan oleh ekstrak dan senyawa standar, sedangkan kontrol sampel dan kontrol alopurinol dilakukan sebagai faktor koreksi terhadap larutan sampel dan senyawa standar.

Ekstrak yang tidak dapat larut dengan air bebas karbondioksida P dilarutkan terlebih dahulu dengan 5 tetes DMSO (dimetil sulfoksida). Sebagai standar digunakan senyawa alopurinol. Hasil pengujian menunjukkan bahwa alopurinol memiliki efek penghambatan aktivitas xantin oksidase dengan nilai IC_{50} 0,02 $\mu\text{g/mL}$ (tabel 4). Hasil pengujian aktivitas penghambatan xantin oksidase oleh masing-masing ekstrak menunjukkan ekstrak *n*-butanol memiliki nilai IC_{50} paling kecil dibandingkan ekstrak lainnya yaitu 3,69 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 3) yang menunjukkan ekstrak *n*-butanol memiliki kemampuan penghambatan enzim yang sangat kuat.

Diduga ekstrak buah andaliman ini mengandung senyawa yang memiliki aktivitas penghambat xantin oksidase.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap ekstrak *n*-butanol dan metanol sebagai ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambatan xantin oksidase. Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa berdasarkan golongannya sebagai informasi awal kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak aktif. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak *n*-butanol mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin,

antrakuinon, dan terpenoid kecuali saponin dan tanin. Diduga bahwa komponen yang aktif dari ekstrak *n*-butanol dan metanol berasal dari golongan senyawa tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) melalui peredaman radikal bebas DPPH, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak *n*-butanol sebesar 53,51 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak metanol sebesar 26,39 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil pengujian penghambatan xantin oksidase, ekstrak *n*-butanol dan metanol memiliki aktivitas yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 3,69 $\mu\text{g/mL}$ dan 4,03 $\mu\text{g/mL}$.

Perlu dilakukan isolasi lebih lanjut senyawa murni dari ekstrak *n*-butanol maupun dari ekstrak metanol buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat xantin oksidase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan di Universitas Indonesia dan dibiayai oleh beasiswa program magister dari Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.

DAFTAR PUSTAKA

- Langseth L. Oxidant, Antioxidant, and Disease Prevention. Belgium: International Life Science Institute press 1995.
- Suryanto E, Sastrohamidjojo H, Raharjo S, Trangono. Antiradical activity of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) fruit extract. Indonesian Food and Nutrition Progress 2004; II (1): 15-19.
- Umamaheswari M, Asokkumar K, Sivashanmugam AT, Remyaraju A. In vitro xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. Journal of Ethnopharmacology 2009; 124: 646-648.
- Lin CN, Huang AM, Lin KW, Hour TC, Ko HH, Yang SC, Pu YS. Xanthine oxidase inhibitory terpenoids of *Amentotaxus formosana* protect cisplatin-induced cell death by reducing reactive oxygen species (ROS) in normal human urothelial and bladder cancer cells. *Phytochemistry* 2010; 71(17-18): 2140-2146.
- Sahgal G, Ramanathan S, Sasidharan S, Mordi MD, Ismail S, Mansor SM. In vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoniseed* extracts. *Molecules* 2009; 14: 4476-4485.
- Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C. Therapeutic ef-

- fects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacology Review* 2006; 58(1): 87-114.
7. Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Brahm UP. *Bio-kimia Kedokteran Dasar [Terjemahan]* Jakarta. Buku Kedokteran EGC; 2000.
 8. McInnes GT, Lawson DH, Jick H. Acute adverse reactions attributed to allopurinol in hospitalised patients. *Annals of the Rheumatic Disease* 1981; 40: 245-249.
 9. Owen P, Johns T. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 64: 149-160.
 10. Tahir I, Wijaya K, Widianingsih D. *Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan senyawa Turunan Flavon/Flavonol*; 2003.
 11. Yanti, Pramudito, TE, Nuriasari N, Juliana K. Lemon pepperfruit extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) suppresses the expression of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced macrophages in vitro. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2011; 7(4): 176-186.
 12. Phongpaichit S, Nikom J, Rungjindamai N, Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., Kirtikara, K. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from garcinia plants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2007; 51: 517-525.
 13. Apaya KL, Chichioco-Hernandez CL. Xanthine oxidase inhibition of selected Philippine medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011; 5(2): 289-292.
 14. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 181:1199-1200.
 15. Siregar BL. Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) di Sumatera Utara: Deskripsi dan Perkecambahannya. *Jurnal Hayati* 2002; 10(1): 38-40.
 16. Negi JS, Bish VK, Bhandari AK, Singh P, Sundriyah RC.. Chemical constituents and biological activities of the genus *Zanthoxylum*: A review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 2011; 5(12): 412-416.
 17. Molyneux, P The use of the stable free radical diphenyl picryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology* 2004; 26(2): 211-219.
 18. Tensiska C, Wijaya H, Nuri Andarwulan. Aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) dalam beberapa sistem pangan dan kestabilan aktivitasnya terhadap kondisi suhu dan pH. *Jurnal teknologi dan industri pangan* 2003; 16 (1): 29-39.
 19. Vaya J, Aviram M. Nutritional antioxidants : mechanism of action, analyses of activities and medical applications. *Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents* 2001; 1: 99-117.