

# ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus*), RUMPUT MUTIARA (*Oldenlandia corymbosa*), DAN SIRSAK (*Annona muricata*) DENGAN TEKNIK SPEKTROMETRI

Wulan Tri Wahyuni<sup>1,2\*</sup>, Latifah K Darusman<sup>1,2</sup> Pitria, Aprilani Rahmat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Divisi Kimia Analitik Departemen Kimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor Gedung Departemen Kimia Level 1, Jalan Tanjung No.3 Kampus IPB Dramaga, Bogor

<sup>2</sup>Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM Institut Pertanian Bogor Kampus IPB Taman Kencana No. 3, Bogor

[wulantriws@apps.ipb.ac.id](mailto:wulantriws@apps.ipb.ac.id)

## Artikel Info

Diterima tanggal  
20.01.2018

Disetujui publikasi tanggal  
30.04.2018

Kata kunci :  
*Annona muricata*, antioxidant, DPPH, flavonoid

## ABSTRAK

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar senyawa flavonoid dan penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus*), rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan sirsak (*Annona muricata*) dengan teknik spektrometri. Ekstrak masing-masing sampel diperoleh melalui ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik. Kadar flavonoid ditentukan dengan teknik spektrometri menggunakan quersetin sebagai standar, sementara aktivitas antioksidan dievaluasi melalui penangkapan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rendemen ekstraksi daun sirsak lebih tinggi dibandingkan rumput mutiara dan kenikir. Ekstrak etanol sirsak memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH terbaik dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 37.91 µg/mL. Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol sirsak tersebut ialah sebesar 1.78 mg ekuivalen quersetin/mg sampel, lebih rendah dibandingkan kadar flavonoid rumput mutiara dan kenikir. Hasil ini mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dimungkinkan tidak hanya berasal dari flavonoid, namun berasal dari gabungan senyawa flavonoid dengan senyawa aktif lain yang dikandungnya.

## ABSTRACT

This study was evaluated the flavonoid content and antioxidant activity of ethanolic extract of *Cosmos caudatus*, *Oldenlandia corymbosa*, and *Annona muricata* leaves using spectrometry technique. The ethanolic extract of each sample was obtained from sonicated assisted extraction. Flavonoid content was evaluated using spectrometry technique using quercetin as marker compound. Antioxidant activity was evaluated using radical scavenging assay of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The result revealed that *A. muricata* provide higher extraction yield compare to *C. caudatus* and *O. corymbosa*. Ethanolic extract of *A. muricata* exhibited the highest DPPH radical scavenging activity with IC<sub>50</sub> values of 37.91 µg/mL. Flavonoid content of the thanolic extract of *A. muricata* was 1.78 mg quercetin equivalent/mg sample, lower than flavonoid content of *C. caudatus* and *O. corymbosa* content. This result indicated that antioxidant activity of *A. muricata* may be come from synergy of flavonoid and other active compounds in the extract.

## PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam berbagai tanaman, termasuk di dalamnya tanaman obat. Flavonoid termasuk senyawa fenolik yang kaya akan gugus hidroksil dan dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Rao *et al.* (2007) menyatakan bahwa efek antioksidan pada tanaman terutama disebabkan oleh senyawa fenolik, salah satunya flavonoid. Aktivitas antioksidan lazim dihubungkan dengan manfaatnya dalam terapi penyakit degeneratif, termasuk di dalamnya kanker (Birt *et al.* 2001).

Tanaman yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan ialah kenikir (*Cosmos caudatus*), rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan sirsak (*Annona muricata*). Lee dan Vairappan (2011) menyatakan ekstrak etanol kenikir memiliki potensi sebagai antioksidan dengan *Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity* (AEAC) sebesar  $3200.37 \pm 54.11$  mg AA/100 g ekstrak. Endrini (2011) melaporkan ekstrak metanol rumput mutiara memiliki aktivitas peredaman radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 270.53 µg/mL. Elisya *et al.* (2014) melaporkan fraksi etil asetat daun sirsak memiliki aktivitas peredaman radikal DPPH dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 94.17 µg/mL.

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar flavonoid dan penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kenikir, rumput mutiara, dan sirsak. Analisis flavonoid dilakukan dengan Teknik spektrometri, sementara uji antioksidan dilakukan melalui uji penangkapan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan deteksi menggunakan spektrometri. Teknik spektrometri digunakan karena penggerjaanya cepat, instrumentasinya sederhana, dan ekonomis namun tetap memiliki limit deteksi dan akurasi yang dapat dibandingkan dengan teknik analisis lainnya.

## METODE

### Alat dan Bahannya

Peralatan yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-tampak Hitachi U-2800, *microplate reader* EPOCH, *microplate reader* BIO-RAD, sonikator AS ONE frekuensi 38 kHz, penguap putar Heidolph VV 2000, oven, neraca analitik, penangas air, lampu UV, desikator, peralatan kaca, dan peranti lunak *Microsoft Excel*.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi daun kenikir (*Cosmos caudatus*), rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan sirsak (*Annona muricata*) yang diperoleh dari kebun Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Bogor, etanol ( $C_2H_5OH$ ) 95%, *n*-heksana ( $C_6H_{14}$ ), *n*-butanol ( $C_4H_9OH$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), aseton ( $C_3H_6O$ ), etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ), methanol ( $CH_3OH$ ), mL heksametilentetramina (HMT), HCl, asam format ( $HCOOH$ ), asam asetat glasial ( $CH_3COOH$ ), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma Aldrich), serbuk asam askorbat ( $C_6H_8O_6$ , Sigma Aldrich), standar kuersetin ( $C_{15}H_{10}O_7$ , Sigma Aldrich), serbuk  $AlCl_3$ , dan pelat 96-sumur.

## Prosedur

### Preparasi Sampel

Sampel daun kenikir, rumput mutiara, dan sirsak dikeringkan. Setelah kering, sampel daun digiling dengan ukuran 60 mesh. Kadar air serbuk sampel kemudian ditentukan dengan teknik gravimetri evolusi merujuk pada AOAC 2016.

### Pembuatan Ekstrak

Serbuk sampel masing-masing ditimbang sebanyak 20 g kemudian diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 100 mL untuk menghilangkan lemak. Ekstraksi dilakukan menggunakan sonikator dengan frekuensi 38 kHz selama 3 jam, lalu dilakukan penyaringan. Residu masing-masing sampel diekstraksi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 100 mL menggunakan sonikator selama 3 jam, kemudian disaring. Filtrat hasil penyaringan dikumpulkan lalu dipartisi dengan pelarut kloroform (1:1), lapisan etanol dikumpulkan. Lapisan etanol yang diperoleh dipartisi kembali dengan pelarut *n*-butanol (1:1). Lapisan *n*-butanol dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan penguap putar pada suhu 40 °C (fraksi *n*-butanol). Ekstrak etanol 95% diperoleh dengan memekatkan filtrat etanol dari tiap sampel menggunakan penguap putar.

### Penentuan Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 200 mg ekstrak etanol 95% dari tiap sampel ditimbang ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan 1 mL heksametilentetramina (HMT) 0.5% b/v, 20 mL aseton, dan 2 mL HCl 25% v/v. Campuran selanjutnya dihidrolisis dengan cara direfluks dalam penangas air selama 30 menit pada suhu 80 °C. Setelah dingin, campuran disaring dan filtrat hasil penyaringan dimasukkan ke

dalam labu takar 100 mL. Filtrat ditambahkan aseton hingga tanda tera lalu dihomogenkan. Sebanyak 20 mL filtrat dipipet dan dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 20 mL akuades dan dipartisi sebanyak tiga kali masing-masing dengan 15 mL etil asetat. Fraksi etil asetat dikumpulkan dalam labu takar 50 mL, ditambahkan etil asetat hingga tanda tera lalu dihomogenkan. Sebanyak 10 mL larutan tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL, ditambahkan 1 mL larutan berisi 2 g AlCl<sub>3</sub> dalam 100 mL larutan asam asetat glasial 5% v/v (dalam metanol). Asam asetat glasial 5% ditambahkan hingga tanda tera lalu dihomogenkan. Absorbans diukur menggunakan spektrofotometer UV-tampak pada panjang gelombang 425 nm. Larutan standar dibuat dari standar kuersetin yang dilarutkan dengan asam asetat glasial 5%, kemudian diencerkan menjadi berbagai konsentrasi (Depkes RI 2000).

### **Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH**

Larutan stok dari tiap sampel dibuat dengan konsentrasi 1 mg/mL, kemudian diencerkan dalam etanol menjadi beberapa konsentrasi. Larutan sampel dipipet masing-masing sebanyak 100 µL ke dalam pelat 96-sumur, ditambahkan 100 µL larutan DPPH 125 µM dalam etanol, dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu, absorbans diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatifnya ialah etanol (Salazar *et al.* 2011). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari persamaan regresi grafik hubungan konsentrasi sampel uji dengan persen inhibisi. Persen inhibisi diperoleh melalui persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbans blangko} - \text{absorbans sampel}}{\text{absorbans blangko}} \times 100\%$$

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Identitas Sampel Uji dan Kadar Airnya Berdasarkan Analisis dengan Teknik Gravimetri Evolusi Tidak Langsung**

Sampel uji yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari kebun Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB. Identitas dari masing-masing sampel ditentukan oleh Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Hasil determinasi menunjukkan bahwa

identitas ketiga sampel yang digunakan ialah *Cosmos caudatus* Kunth, *Oldenlandia corymbose* L., and *Annona muricata* L.

Kadar air serbuk daun kering ketiga sampel berdasarkan pengujian dengan metode gravimetri evolusi ialah sebesar 7.92; 11.14; dan 9.92 % (Tabel 1). Nilai kadar air yang diperoleh digunakan sebagai faktor koreksi untuk menentukan rendemen ekstraksi berdasarkan bobot kering sampel. Berdasarkan nilai kadar air yang diperoleh, dapat dikatakan bahwa sampel dengan kadar air < 10%, yaitu *C. caudatus* dan *A. muricata* telah memenuhi persyaratan simplisia untuk proses penyimpanan. Sampel dengan kadar air > 10% tidak direkomendasikan untuk karena rentan terhadap serangan jamur dan mikroba yang umumnya mudah berkembang pada kadar air yang tinggi.

### **Ekstrak sampel yang diperoleh dengan Ekstraksi berbantuan Gelombang Ultrasonik**

Komponen bioaktif yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada ketiga sampel ialah senyawa fenolik, termasuk di dalamnya flavonoid. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang umumnya larut dalam pelarut yang bersifat polar. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstraksi dilakukan menggunakan etanol 95%. Sebelum diekstraksi dengan etanol 95%, bahan terlebih dahulu diekstraksi dengan *n*-heksana, kloroform, dan *n*-butanol. Penggunaan *n*-heksana pada tahap awal ekstraksi dimaksudkan untuk menghilangkan komponen non polar dalam sampel, sementara kloroform dan *n*-butanol digunakan untuk menghilangkan komponen semipolar. Proses ekstraksi dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik 38 kHz yang mampu merusak dinding sel tanaman sehingga mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut (Melecchi *et al.* 2006). Rendemen ekstraksi disajikan pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh menunjukkan rendemen ekstraksi daun sirsak lebih tinggi dibandingkan kenikir dan rumput mutiara.

Berdasarkan rendemen ekstraksi yang diperoleh, diketahui bahwa *A. muricata* memiliki rendemen ekstraksi tertinggi dibandingkan *C. caudatus* dan *O. corymbose*. Kandungan senyawa polar dalam *A. muricata* lebih tinggi dibandingkan kedua tanaman lainnya, diduga kandungan senyawa polar ini memiliki hubungan dengan aktivitas antiosidant dari ekstrak *A. muricata* yang ditentukan pada tahap berikutnya.

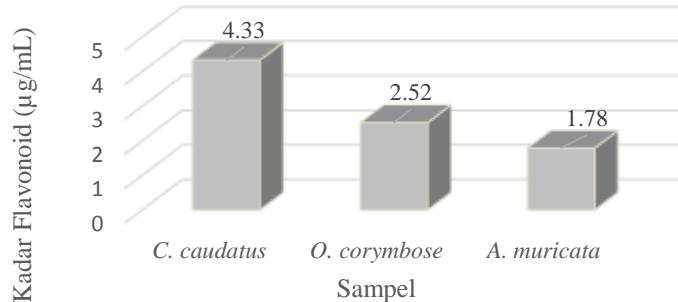
**Tabel 1.** Kadar air sampel dan rendemen ekstraksi sampel

Sampel	Kadar Air (%)	Rendemen Ekstraksi (%)
<i>C. caudatus</i>	7.92 ± 0.07	10.99 ± 0.55
<i>O. corymbose</i>	11.14 ± 0.03	8.18 ± 0.36
<i>A. muricata</i>	9.92 ± 0.05 %	12.46 ± 0.53

### Kandungan Flavonoid Total Berdasarkan Analisis dengan Teknik Spektrometri

Kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol 95% dari tiap sampel dievaluasi dengan metode pewarnaan AlCl<sub>3</sub> dengan deteksi menggunakan teknik spektrometri. Tahapan analisis diawali dengan hidrolisis menggunakan asam untuk memutus ikatan gula dengan flavonoid. Flavonoid dalam bentuk aglikon kemudian dipisahkan dari gula melalui partisi cair-cair dan dikompleks dengan AlCl<sub>3</sub>. Absorbans kompleks aglikon-AlCl<sub>3</sub> diukur dengan spektrofotometer UV-tampak (Rohaeti *et al.* 2011). Gambar 1 menyajikan kadar flavonoid total (mg ekuivalen kuersetin /g sampel) dari tiap ekstrak. Ekstrak kenikir memiliki kadar flavonoid total lebih besar dibandingkan rumput mutiara dan sirsak. Andarwulan *et al.* (2010) melaporkan kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak metanol 50% kenikir didominasi oleh kuersetin dan kaemferol, yakni sebesar ±60% dari total senyawa flavonoid pada ekstrak tersebut.

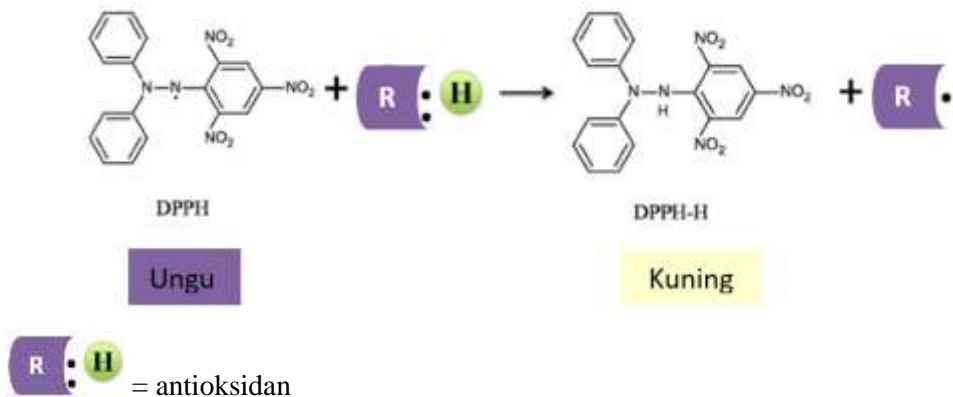
Hasil uji flavonoid menunjukkan bahwa tidak ada korelasi yang linear antara rendemen ekstraksi dengan kandungan flavonoid total. Ekstrak sirsak menunjukkan rendemen ekstraksi lebih tinggi dibandingkan sampel yang lain, namun kandungan flavonoidnya rendah. Diduga pada ekstrak sirsak terdapat senyawa fenolik lain yang cukup ruah secara struktur sehingga tidak membentuk kompleks dengan AlCl<sub>3</sub> saat dilakukan uji total flavonoid. Senyawa fenolik yang memiliki struktur ruah antara lain ialah senyawa tanin yang mengandung gugus gula (glikosida) maupun senyawa flavonoid yang mengikat gugus gula.



**Gambar 1.** Kadar flavonoid total dalam sampel berdasarkan pengukuran dengan Teknik spektrometri.

## Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan radikal bebas stabil yang lazim digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Kelebihan metode ini ialah mudah, cepat, dan sensitif (She *et al.* 2010). Antioksidan memiliki kemampuan menetralisasi radikal bebas dengan menyumbangkan radikal hidrogen kepada molekul radikal bebas tersebut (Badarinath *et al.* 2010). Penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal DPPH menyebabkan DPPH tereduksi menjadi senyawa DPPH-H, dan warna larutan berubah dari ungu menjadi kuning (Szabo *et al.* 2006). Mekanisme penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan disajikan pada Gambar 2. Nilai konsentrasi sampel yang memberikan penghambatan sebesar 50% terhadap radikal DPPH ( $IC_{50}$ ) disajikan pada Tabel 2.



**Gambar 2.** Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan (Liang & Kitt 2014).

Daya inhibisi terkuat terhadap radikal bebas DPPH dimiliki oleh ekstrak etanol sirsak dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 37.91 µg/mL. Nilai ini masih lebih besar dibandingkan kontrol positif vitamin C, namun demikian menurut Zuhra (2008) suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 µg/mL. Aktivitas antiosididan ekstrak sampel memiliki pola yang serupa dengan rendemen ekstraksinya, sampel dengan rendemen ekstraksi yang lebih tinggi juga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Dalam hal ini tersirat bahwa aktivitas antioksidan disumbangkan oleh senyawa yang larut dalam etanol, baik itu dari golongan fenolik maupun nonfenolik dan tidak hanya ditentukan oleh kandungan flavonoid dalam ekstrak. Menurut Rao *et al* (2008), selain senyawa flavonoid, efek antioksidan pada tanaman dapat disebabkan oleh senyawa fenolik lain seperti asam fenolat, tanin, dan diterpenoid fenolik. Dilaporkan ekstrak daun sirsak mengandung senyawa asetogenin yang berperan dalam aktivitas

antioksidan dan antikanker pada tumbuhan suku *Annonaceae* (Lima *et al.* 2010). Gugus fungsi yang terdapat pada senyawa asetogenin memiliki kemampuan sebagai donor elektron bagi radikal bebas DPPH. Asetogenin merupakan senyawa poliketida yang mudah larut dalam pelarut organik (Wijaya 2012).

**Tabel 2.** Nilai IC<sub>50</sub> ekstraksi sampel pada pengujian penangkapan radikal bebas DPPH

Sampel	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
<i>C. caudatus</i>	52.81 ± 0.30
<i>O. corymbose</i>	>500
<i>A. muricata</i>	37.91 ± 0.03
Vitamin C	4.99 ± 0.00

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 95% daun sirsak memberikan rendemen ekstraksi tertinggi dan aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan ekstrak daun kenikir dan rumput mutiara dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 37.91 μg/mL. Kadar flavonoid total dari ekstrak tersebut ialah sebesar 1.78 mg ekuivalen kuersetin/mg sampel, lebih rendah dibandingkan kadar flavonoid rumput mutiara dan kenikir.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist, 2016, *AOAC Official Method 935.29 Loss on Drying (Moisture) in Malt Gravimetric Method*. Washington DC (US): Association of Official Analytical Chemist.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta (ID): Depkes RI.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B., Wijaya, H, 2010, Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chem.* 121(2010):1231-1235.doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.033.
- Badarinath, A.V., Mallikarjuna, R.K., Chetty, C.M.S., Ramkanth, S., Rajan, T.V.S., GnanaPrakash, K., 2010, A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *Int J PharmTech Res.* 2(2):1276-1285.
- Birt, D.F., Hendrich, S., Wang, W., 2001, Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Ther.* 90:157-177.doi:10.1016/s0163-7258(01)00137-1.
- Endrini, S., 2011, Antioxidant activity and anticarcinogenic properties of rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.) and pohpohan (*Pilea trinervia* (Roxb.) Wight). *J Med Plant Res.* 5(16):3715-3718.

- Elisya, Y., Kardono, L.B.S., Simanjutak, P., 2014, Tablet formulation of the ethyl acetate soluble extract of soursop (*Annona muricata* L.) leaves. *Asian J Appl Sci.* 2(3):323-329.
- Lee, T.K., Vairappan, C.S., 2011, Antioxidant, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils and ethanol extracts of selected South East Asian herbs. *J Med Plant Res.* 5(21): 5824-5290.
- Liang, N., Kitts, D.D., 2014, Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecule.* 19(11): 19180-19208. doi: 10.3390/molecules191119180
- Lima, L.A.R.S., Pimenta, L.P.S., Boaventura, M.A.D., 2010, Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. *Food Chem.* 122(2010):1129-1138.doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.100.
- Melecchi, M.I.S., Péres, V.F., Dariva, C., Zinim, C.A., Abad, F.C., Martinez, M.M., Caramã, E.B., 2006, Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers. *Ultrason Sonochem.* 13(3):242-250.doi:10.1016/j.ultsonch.2005.02.003.
- Rao, Y.K., Geethangili, M., Fang, S.H., Tzeng, Y.M., 2007, Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: A comparative study. *Food Chem Toxicol.* 45(2007):1770-1776.doi:10.1016/j.fct.2007.03.012.
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Wahyuningrum, A., Darusman, L.K., 2011, Prediksi flavonoid total tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) menggunakan kombinasi spektroskopi IR dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *J Kim.* 5(2):101-108.
- Salazar, A.R., Alejandro, R.L.L., Lopez, A.J., Alicia, A.G.B., Waksman, T.N., 2011, Antimicrobial and antioxidant activities of plants from northeast of Mexico. *Evid Based Complement Altern Med.* 2011:1-6.doi:10.1093/ecam/nep127.
- She, G.M., Xu, C., Liu, B., Shi, R.B., 2010, Polyphenolic acids from Mint (the aerial of *Mentha haplocalyx* Briq.) with DPPH radical scavenging activity. *J Food Sci.* 75:C359-C362.doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01603.x.
- Szabo, M.R., Iditoiou, C., Chambire, D., Lupea, A.X., 2006, Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chem Pap.* 61(3):214-216.doi:10.2478/s11696-007-0022-7.
- Wijaya, M., 2012, Ekstraksi *Annonaceous acetogenin* dari daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai senyawa bioaktif antikanker [skripsi]. Depok (ID): Universitas Indonesia.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., Sihotang, H., 2008, Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauvagesia androgynus* (L) Merr.). *J Biol Sumatera.*