

**Penetapan Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan
dari Jus Buah Lima Spesies Jeruk (*Citrus sp.*)**

Dadang Juanda¹, Wempi Budiana¹, Irwan Muhamad Ridwan¹,

¹Sekolah Tinggi Farmasi Bandung

dang_juanda@yahoo.com

ABSTRAK

Jeruk merupakan buah yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, jenis jeruk cukup banyak diantaranya jeruk sunkist (*Citrus sinensis* Osbeck), jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) dan jeruk garut (*Citrus nobilis* Lour), kandungan senyawa aktif yang diketahui cukup banyak diantaranya senyawa fenolat yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari beberapa spesies jeruk. Buah jeruk diblender dan filtrat yang diperoleh di *freeze dry* sehingga didapat jus kering. Jus jeruk ditentukan kadar total fenol dengan menggunakan reagen Folin Ciocalteu dan aktivitas antioksidan diuji secara *in vitro* menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Kadar fenol total dari jeruk sunkist, jeruk purut, jeruk nipis, jeruk bali dan jeruk garut secara berurutan 98,6 ; 141,7; 81,7; 71,3; 67,4 (mg asam galat/100 g jus). Aktivitas antioksidan dari jeruk sunkist, jeruk purut, jeruk nipis, jeruk bali dan jeruk garut memberikan EC₅₀ (Efisien Konsentrasi) secara berurutan 732,00; 1.255,07; 1.631,80; 1.739,72; 2.192,2 µg/mL..

Kata kunci : *Citrus sp* , Jeruk , kadar fenolat total, antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Jeruk or Citrus is a fruit that is often consumed by Indonesia people, there are several kind of citrus such as *C. sinensis*, *C. hystrix*, *C. aurantifolia*, *C. maxima* and *C. nobilis*. The active compounds known from these plants are phenolic compounds which have antioxidant activity. The research was carried out to determine the total phenol content and antioxidant activity of some of the citrus. Squeezed citrus fruit were freeze dried to obtain dry juice. The levels of total phenols from juice were determined using Folin Ciocalteu reagent while antioxidant activity was tested *in vitro* using the method of reduction of free radical 1,1-diphenyl-2-picryl Hydrazyl (DPPH). Total phenol content of *C. sinensis*, *C. hystrix*, *C. aurantifolia*, *C. maxima* and *C. nobilis* respectively were 98,6; 141,7; 81,7; 71,3; 67,4 (mg gallic acid/100 g juice). EC₅₀ (efficient concentration) of *C. sinensis*, *C. hystrix*, *C. aurantifolia*, *C. maxima* and *C. nobilis* respectively were 732.00; 1255.07; 1631.80; 1739.72; 2192.2 µg/mL.

Keywords: citrus, total phenols, antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang secara normal dihasilkan dalam metabolisme sel (Halliwell *et al.*, 1995; Squadriato *et al.*, 1998) Radikal bebas seperti molekul oksigen reaktif (ROS) dan molekul nitrogen reaktif (RNS) yang bersifat reaktif dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan menimbulkan berbagai penyakit kronis dan degeneratif seperti inflamasi, penyakit kardiovaskular, kanker dan penyakit yang berhubungan dengan penuaan (Locatelli *et al.*, 2009)

Untuk menghindari dampak negatif dari radikal bebas maka diperlukan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mendonorkan proton kepada senyawa radikal bebas, sehingga tidak terjadi reaksi lebih lanjut yang berbahaya. Senyawa fenolat atau senyawa polifenol merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, antikanker, antiviral dan antiinflamasi (Amin *et al.*, 2006; Sandhar *et al.*, 2011).

Tanaman jeruk (*Citrus sp*) merupakan salah satu tanaman budidaya yang sangat penting dalam perekonomian masyarakat Indonesia. Jeruk dapat dikonsumsi segar atau dibuat jus yang sangat penting sebagai sumber antioksidan karena kandungan vitamin C, flavonoid dan senyawa fenolat. Konsumsi buah jeruk dalam rumah tangga di Indonesia pada tahun 2012 sebesar 2,764 kg/kapita/tahun, sedangkan pada tahun 2013-2014 menjadi 2,687 kg/kapita/tahun. Kebutuhan tersebut dipenuhi dari produksi jeruk nasional yang pada tahun 2012 mencapai 1,61 juta ton dan dari impor pada tahun yang sama mencapai 254 ton (DEPTAN, 2013).

Masyarakat Indonesia sekarang lebih memilih jeruk impor daripada jeruk lokal dikarenakan warna yang menarik dan rasanya yang manis. Padahal banyak jenis jeruk lokal yang memiliki rasa dan khasiat yang tidak kalah dengan jeruk impor seperti jeruk garut dan jeruk bali dan jeruk lain yang sering digunakan sebagai bumbu masak seperti jeruk nipis dan jeruk purut. Konsumsi jeruk secara rutin dapat mengurangi resiko terjadinya *coronary heart disease* (Hertog *et al.*, 1993). Jeruk mengandung senyawa aktif seperti golongan senyawa fenol diantaranya flavonoid, flavanon glikosida dan asam hidroksi sinamat, vitamin C dan karotenoid (Abeyasinghe., 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenol total dan aktivitas antioksidan dari buah jeruk yang biasa dikonsumsi dalam kehidupan sehari-hari

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan kimia

Air destilasi, etanol 95%, n-heksana, etil asetat, aluminium klorida, metanol, kloroform, gelatin, amonia, besi (III) klorida, asam klorida, amil alkohol, natrium hidroksida, natrium asetat, natrium karbonat (Merck), serbuk magnesium, gelatin, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Folin-Ciocalteu (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, asam galat (Sigma Aldrich), asam sulfat, vitamin C, silika gel F₂₅₄ prasalut (Merck) dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich).

Bahan Tanaman

Buah jeruk sunkist (*Citrus sinensis* Osbeck), jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) dan jeruk garut (*Citrus nobilis* Lour)

Ekstraksi dan Pemantauan Ekstrak

Daging buah jeruk (tanpa kulit dan biji) segar ditimbang sebanyak 250 gram, dihaluskan kemudian airnya diperas, air perasan dikumpulkan kemudian dikeringkan menggunakan alat *frezze dryer*.

Penapisan fitokimia terhadap ekstrak dilakukan menurut prosedur *Materia Medika* (1995) dan *Farnsworth* (1996).

Jus jeruk dipantau secara kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel F_{254} prasalut dan pengembang butanol-asam asetat-air (3:1:5). Penampak bercak yang digunakan adalah sinar UV λ 254 nm, sinar UV λ 365 nm, H_2SO_4 10% dalam metanol, $FeCl_3$ 10% dan DPPH 0,2 % dalam metanol.

Penetapan Total Fenol

Penetapan kadar total fenol pada jus jeruk menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Jus jeruk dilarutkan dalam air-metanol (1:1). Sebanyak 0,5 mL jus jeruk ditambahkan 5 mL Folin-Ciocalteu (sebelumnya diencerkan dengan aquabides 1:10) diinkubasi selama 5 menit, kemudian ditambahkan 4 mL natrium karbonat 1M lalu inkubasi selama 15 menit. Standar yang digunakan adalah asam galat dengan konsentrasi 20 – 70 $\mu g/mL$. Standar mengalami perlakuan yang sama dengan sampel jus. Sampel dan standar diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kadar total fenol dihitung dari kurva kalibrasi asam galat. Total Fenol dinyatakan dalam total asam galat ekuivalen per 100 gram jus (GAE mg/ 100 g jus) (*Ghasemi et al.*, 2009).

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH DPPH (1,1-difenil-

2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri (*Blois*, 1958). Sampel dan standar yang dilarutkan dalam metanol ditambahkan larutan stok DPPH dengan perbandingan volume 1:1 dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar menggunakan wadah gelap yang dilapisi aluminium foil dan tertutup serapan diukur pada panjang gelombang λ 516 nm (*Locatelli et al.*, 2009). Analisis dilakukan pengulangan tiga kali untuk masing-masing sampel jus dan standar.

Persen penurunan absorbansi DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$I(\%) = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\%$$

Dimana :

I (%) = Persen penurunan absorbansi DPPH, A_0 = Absorbansi larutan kontrol, A_s = Absorbansi larutan sampel setelah ditambahkan DPPH.

Nilai Konsentrasi Efisien 50 (EC_{50}) ditentukan untuk sampel jus jeruk dan standar yang digunakan, ditentukan dari hubungan antara persen penurunan absorbansi DPPH terhadap larutan yang diuji. Nilai konsentrasi efektif 50 dihitung dari persamaan regresi yang diperoleh dengan memasukkan nilai peredaman 50% sebagai variabel tak bebasnya.

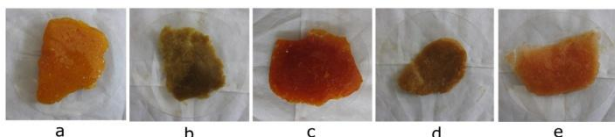
HASIL DAN DISKUSI

Penelitian diawali dengan pengumpulan bahan buah, jeruk garut, jeruk bali, jeruk nipis, jeruk purut yang diperoleh dari perkebunan di daerah Garut dan jeruk Sunkist diperoleh dari swalayan di daerah Bandung. Dari data determinasi yang dilakukan di *Herbarium Bandungense*, Program Studi Biologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung diperoleh informasi bahwa jeruk garut memiliki nama latin *Citrus nobilis* Lour., jeruk bali dengan nama latin *Citrus maxima* Merr., jeruk nipis dengan nama latin *Citrus aurantifolia*, jeruk purut dengan nama latin *Citrus hystrix* D. C. Determinasi jeruk sunkist dilakukan di Lembaga

Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) hasil menyatakan bahwa jeruk yang diperiksa merupakan buah jeruk sunkist dengan nama latin *Citrus sinensis* Osbeck.

Persiapan Jus dan Pemantauan

Hasil *freeze dry* untuk jeruk garut diperoleh jus padat sebanyak 16,54 g (rendemen 6,61 %), jeruk bali diperoleh jus padat sebanyak 16,24 g (rendemen 6,49 %), jeruk nipis diperoleh jus padat sebanyak 13,22 g (rendemen 5,28 %), jeruk purut diperoleh jus padat sebanyak 17,29 g (rendemen 6,92 %), dan jeruk Sunkist diperoleh jus padat sebanyak 25,36 g (rendemen 10,14 %). Warna jus hasil *freeze dry* untuk masing-masing jeruk berbeda, gambar jus padat ditampilkan pada Gambar 1.

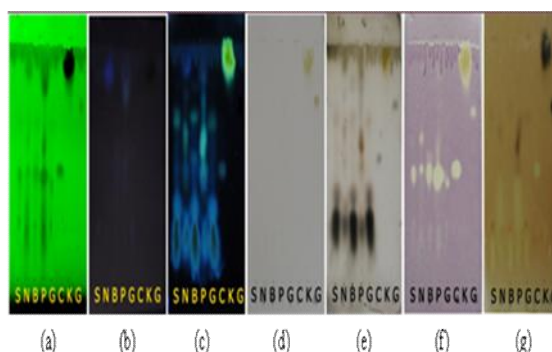


Gambar 1. Jus padat buah hasil *freeze dry*, jeruk sunkist (a), jeruk purut (b), jeruk garut (c), jeruk nipis (d), jeruk bali (e)

Sebelum dilakukan pemantauan terhadap jus jeruk yang diperoleh, dilakukan terlebih dulu penapisan fitokimia untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, kuinon, saponin dan steroid/triterpenoid yang terdapat dalam jus jeruk. Hasil penapisan menunjukkan kelima jus jeruk mengandung senyawa fenol dan flavonoid.

Hasil pemantauan dari kelima jus jeruk, pada kromatogram yang disemprot penampak bercak FeCl_3 10%, hasil menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa fenol yang ditandai dengan munculnya warna bercak coklat sampai hitam dengan intensitas yang berbeda, warna hitam pekat ditunjukkan juga pada senyawa pembanding

yaitu asam galat dan kuersetin. Pada kromatogram yang disemprot dengan AlCl_3 5% dalam metanol, semua sampel memberikan adanya bercak warna kuning berfloresensi (Markham, 1988), hal yang sama terjadi pada bercak kuersetin, secara kualitatif menunjukkan dalam jus jeruk terdapat senyawa flavonoid. Pada kromatogram yang disemprot DPPH 0,2% dalam metanol, semua sampel memberikan hasil positif adanya senyawa antioksidan yang ditunjukkan dengan warna bercak kuning dengan latar belakang ungu. Kromatogram yang diperoleh dari hasil pemantauan jus ditampilkan dalam Gambar 2.

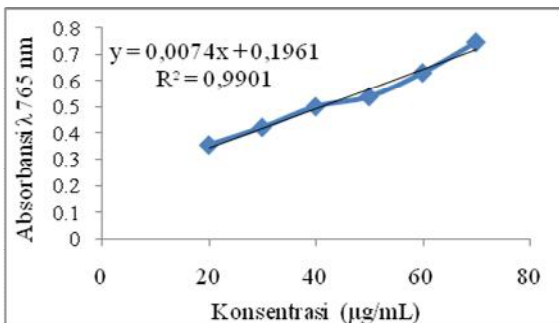


Gambar 2. Kromatogram lapis tipis jus jeruk, fase diam silika gel F_{254} pra salut dan pengembang butanol–asam asetat–air (3:1:5), (S) jeruk sunkist, (N) jeruk nipis, (B) jeruk bali, (P) jeruk purut, (G) jeruk garut, (C) vitamin C, (K) kuersetin, (G) asam galat, (a) penampak bercak sinar UV λ 254, (b) penampak bercak sinar UV λ 366 nm, (c) penampak bercak AlCl_3 5% dalam metanol diamati di bawah sinar UV λ 366 nm, (d) sinar tampak, (e) penampak bercak H_2SO_4 10 % dalam metanol, (f) penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol, (g) penampak bercak FeCl_3 10%,

Penetapan Total Fenol

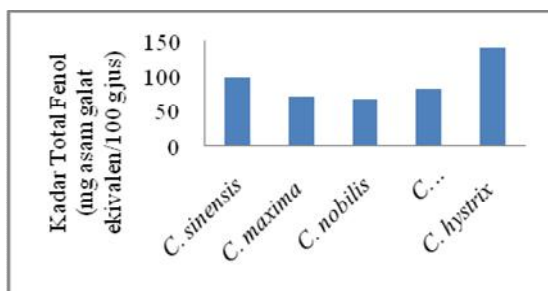
Pereaksi Folin-Ciocalteu mengandung senyawa fosfatungstat dan asam fosfomolibdat yang akan membentuk kompleks melalui reaksi redoks dengan senyawa fenol yang terdapat dalam sample yang diukur (Prasad *et al*, 2005).

Kandungan senyawa fenol dalam buah jeruk dinyatakan dalam total asam galat ekuivalen per 100 gram jus (mg GAE/100 g jus). Absorbansi dari asam galat yang didapat kemudian diplot terhadap konsentrasi untuk mendapatkan persamaan kurva kalibrasi. Persamaan yang diperoleh yaitu $y = 0,0074x + 0,1961$ dengan kuadrat koefisien korelasi (R^2) = 0,991 dengan y menunjukkan serapan sedangkan x adalah konsentrasi dalam $\mu\text{g/mL}$. Kurva standar asam galat ditampilkan dalam gambar 3.



Gambar 3. Kurva kalibrasi asam galat yang ditentukan dengan spektrofotometri UV pada λ 765 nm

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) memiliki kandungan total paling tinggi ($141,7 \pm 0,021$ mg GAE/100 g jus) dibandingkan dengan jenis jeruk lainnya (gambar 4), sedangkan jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) memiliki kandungan total fenol terendah ($71,3 \pm 0,004$ mg GAE/100 g jus).



Gambar 4. Kadar total fenol dari beberapa jus jeruk

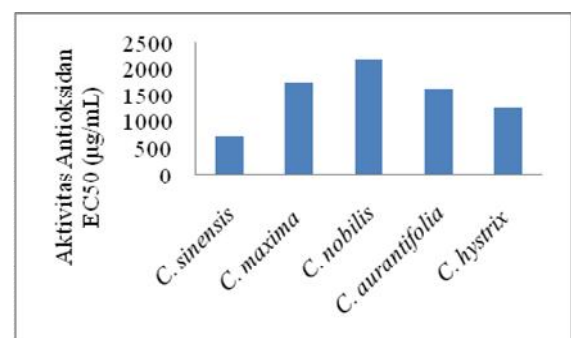
Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Ghafar *et al* (2010)

yang menyampaikan jeruk purut memiliki kadar total fenol paling tinggi (hasil total fenol untuk *C. hystrix*, *C. aurantifolia*, *C. microcarpa* dan *C. sinensis* secara berurutan 490,74; 211,70; 105,0; 135,3 mg GAE/100 mL jus).

Hasil penelitian lain menyampaikan kadar total fenol dari kulit buah *C. aurantifolia*, *C. limon*, *C. hystrix*, *C. maxima* dan *C. sinensis* ekstraksi secara bertingkat (n-heksana, etil asetat, etanol) secara refluks, diperoleh kadar total fenol dengan rentang nilai 48,42 – 431,25 mg GAE/100 g ekstrak, hasil tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat *C. sinensis* dengan nilai 431,25 mg GAE/100 g (Irda *et al*, 2015). Perbedaan nilai kadar total fenol dapat disebabkan perbedaan bagian tanaman yang digunakan, metode ekstraksi/pemekatan dan perbedaan kondisi lingkungan tumbuh tanaman jeruk.

Uji Aktivitas Antioksidan

Potensi antioksidan diuji secara *in vitro* terhadap kelima sampel jeruk menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) sebagai radikal bebas. Untuk setiap sampel jeruk ditentukan nilai EC_{50} (efektif konsentrasi) merupakan nilai konsentrasi sampel yang dapat menurunkan 50% konsentrasi DPPH, semakin kecil nilai EC_{50} maka suatu sampel memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Molyneux, 2004)



Gambar 5. Aktivitas antioksidan dari beberapa jus jeruk

Nilai EC_{50} (gambar 5) untuk jeruk sunkist (*C. sinensis* Osbeck), jeruk purut (*C. hystrix* D. C.), jeruk nipis (*C. aurantium*), jeruk bali (*C. maxima* Merr) dan jeruk garut (*C. nobilis* Lour) secara berurutan 732; 1.255,07; 1.631,80; 1.739,72; 2.192,20 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai EC_{50} vitamin C 6,67 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian Ghafar *et al* menyampaikan jeruk purut (*C. hystrix*) memiliki nilai EC_{50} 35 mg/100 mL jus. Penelitian lain menyampaikan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dari kulit buah *C. aurantifolia*, *C. limon*, *C. hystrix*, *C. maxima* dan *C. sinensis* diperoleh Nilai IC_{50} dengan rentang nilai 11 – 106,4 $\mu\text{g/mL}$ dan vitamin C sebagai standar memiliki nilai IC_{50} 2 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etil asetat *C. sinensis* memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai 11 $\mu\text{g/mL}$ (Fidrianny *et al*, 2015).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol, yang memiliki berbagai aktivitas sebagai antioksidan dan *metal chelators* dan berkaitan dengan aktivitas antinflamasi, antialergi, hepatoprotektif, antitrombosis, antiviral, dan aktivitas antikarsinogenik (Tapas *et al.*, 2008).

Aktivitas antioksidan untuk golongan senyawa flavonoid memiliki kekuatan yang berbeda. Berikut urutan kekuatan aktivitas antioksidan beberapa flavonoid, mirsetin > kuersetin > morin > diometin > naringenin > apigenin > katekin > 5,7-dihidroksi-3',4',5'-trimetoksi flavon, > robinin > kaemferol > flavon (Ratty, 1988). Perbedaan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh rantai samping dan substituen yang terikat dalam flavonoid tersebut. Sehingga dimungkinkan suatu sampel memiliki kadar fenol yang tinggi, tetapi tidak diikuti dengan aktivitas antioksidan yang kuat.

Penelitian Zhang (1999) menyampaikan flavonoid dengan gugus OH pada cincin B memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari pada flavonoid dengan

gugus OH pada cincin A. Senyawa fenol dengan OH pada posisi *ortho* memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dan senyawa fenol dengan OH pada posisi *meta* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari pada senyawa fenol dengan satu OH (Zhang, 1999).

KESIMPULAN

Penetapan total fenol dengan reagen Folin Ciocalteau secara spektrofotometri jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) memiliki kandungan fenol total tertinggi dengan kadar 141,7 mg GAE/100 g jus. Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) jeruk sunkist (*Citrus sinensis* Osbeck) memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai EC_{50} 732,00 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeyasinghe DC., Li X., Sun CD., Zhang WS., Zhou CH, Chen KS (2007): Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species, *Food Chem*, **104**, 1338-1344
- Amin I., Norazaidah Y., Hainida KIE. (2006): Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species, *Food Chem*, **94**, 47-52.
- Blois, M.S. (1958): Antioxidant determination by the use of stable free radicals, *Nature*, **181**, 1199-1200
- Haliwell, B., (1995): How to characterize an antioxidant: an up date. *Bioch.Soc. Sym.* **61**.85-91
- Departemen Kesehatan RI, (1995): *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Depkes RI, Jakarta
- Departemen pertanian, Pusat data dan Sistem Informasi (2013): *Buletin Konsumsi pangan*, 4(1) 25-33.

- Farnsworth, N.R., (1996): Biological And Phytochemical Screening Of Plants *Journal Of Pharmaceutical Sciences.* **55**, 3
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M. (2009): Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus Species Peels and Tissues, *Pak. J. Pharm. Sci*, **22** (3), 277-281
- Squadriato, G.L., W.A. Peyor (1998): oxodative chemistry of nitric oxide: the role of superoxide, peroxy nitrite, and carbon dioxide. *Free Radical Biol Med*, **25**, 392-403
- Hertog MGL, Fleskeens EJM, Holmann CH., Katan MB and Kromhout D (1993). Dietary antioxidant flavonoid and risk of coronary heart disease, The Zutphen elderly study. *Lancet*, **342**, 1007-1011.
- Sandhar, HK., B Kumar., S Prasher., P Tiwari., M Salham, P Sharma. (2011): A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, *International Pharmaceutica Scientia*, **1** (1), 25-41
- Fidrianny, I., H Nurfitri., Sukrasno. (2015): in vitro antioxidant activities, phenolic, flavonoid and carotenoid content from different polarity extracts of five citrus peels using DPPH and Cuprac method, *J of Chemical and Pharmaceutical Research*, **7**(4), 1525-1531.
- Locatelli, M., Gindro, R., Travaglia, F., Coïsson, D-J., Rinaldi, M., Arlorio, M. (2009) : Study of the DPPH-Scavenging activity: Development of a free software for the corret interpretation of data, *Food Chemistry*, **114**, 889-897.
- Markham, K.R. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, penerbit ITB, Bandung 1988
- MFA Ghafar., KN Prasad., KK Weng., A Ismail. (2010): Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from citrus species, *Afr J Biotechnol*, **9**(3), 326-330.
- Molyneux, P, (2004): The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, *J.Sci Technol*, **26** (2), 211-219
- Prasad NK., Divakar S., Shivamurthy GR., Aradhya SM. (2005): isolation of a free radical scavenging antioxidant from water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk), *J.Sci Food Agric*, **85**, 1461-1468.
- Ratty, A.K., (1988): Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure activity relationship. *Biochem Med Metabol Biol*, **39**: 67-69
- Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B., (2008): Flavonoid as Nutraceuticals: A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **7**(3): 1089-1099
- Zhang, Hongyu, (1999): Theoretical elucidation of structure-activity relationship of flavonoid antioxidants. *Science In China* (Series B), Vol 42. No 1