

ARTIKEL PENELITIAN

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Campuran Ekstrak-Etanol *A.indica* dan *C.asiatica* terhadap Ekstrak-Etanol *A.indica*

Kemas R. Notariza,¹ Desak G.B. Krisnamurti^{2*}

¹Program Studi Pendidikan Dokter FK Universitas Indonesia,

²Departemen Farmasi Kedokteran FK Universitas Indonesia

Corresponding author: gek_noy@yahoo.com

Diterima 13 Februari 2016; Revisi 18 Juli 2017; Disetujui: 28 Agustus 2017

DOI: 10.23886/ejki.5.8001

Abstrak

Radikal bebas pada konsentrasi tinggi dapat memicu stres oksidatif yang menjadi dasar patogenesis berbagai penyakit. Suplai antioksidan eksogen dibutuhkan untuk membantu kinerja antioksidan endogen dalam menangkal stres oksidatif. Ekstrak-etanol *Acalypha indica* dan *Centella asiatica* memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* terhadap ekstrak-etanol *A.indica*. Kombinasi ekstrak diharapkan mampu meningkatkan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dan menurunkan dosis yang digunakan. Aktivitas antioksidan ekstrak diukur dengan metode spektrofotometri dengan mengukur kadar 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Penelitian dilakukan di Departemen Farmasi Kedokteran FK Universitas Indonesia pada bulan Juni–Oktober 2015. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa Vitamin C yang menjadi kontrol positif menunjukkan nilai EC_{50} sebesar 0,012mg/mL. Nilai EC_{50} ekstrak-etanol *A.indica* adalah 13,68mg/mL, sedangkan nilai EC_{50} campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* 39,65mg/mL. Nilai EC_{50} yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Dengan demikian, aktivitas antioksidan campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* lebih rendah dibandingkan ekstrak-etanol *A.indica*.

Kata kunci: *A.indica*; aktivitas antioksidan; *C.asiatica*

Antioxidant Activity of Ethanolic-Extract Mixture of *A.indica* and *C.asiatica* in Comparison with Ethanolic-Extract of *A.indica*

Abstract

Excessive production of free-radicals may induce oxidative stress, which is the basis of many diseases pathogenesis. Exogenous antioxidant supply is needed to support the function of endogenous antioxidant in preventing oxidative stress. The ethanolic-extract of *A.indica* and *C.asiatica* possess the antioxidant activity. This study was aimed to know the antioxidant activity of ethanolic-extract mixture of *A.indica* and *C.asiatica* in comparison with ethanolic-extract of *A.indica*. The combination of extract was expected to improve the antioxidant activity and therefore to reduce the dosage. The 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) assay test with spectrophotometry was performed to measure the antioxidant activity. This study was conducted at the Department of Pharmacy Faculty of Medicine Universitas Indonesia, from June to October 2015. Vitamin C as the positive control exhibited EC_{50} score as much as 0.012 mg/mL. The EC_{50} score of the ethanolic-extract mixture was 13.68 mg/mL, while the ethanolic-extract of *A.indica*'s was 39.65 mg/mL. The lower the EC_{50} score indicates the higher antioxidant activity. Thus, the ethanolic-extract mixture of *A.indica* and *C.asiatica* has lower antioxidant activity compared to the ethanolic-extract of *A.indica*.

Keywords: *A.indica*; antioxidant activity; *C.asiatica*.

Pendahuluan

Radikal-bebas diproduksi secara terus-menerus oleh sel tubuh pada proses fisiologis normal.¹ *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan produk-samping dari respirasi aerobik serta berbagai proses katabolik dan anabolik.² Pada kadar rendah atau menengah, radikal-bebas memiliki peran fisiologis *in vitro*. Peran tersebut adalah fagositosis untuk pertahanan terhadap agen infeksius, produksi energi, pertumbuhan sel, sistem sinyal seluler, dan induksi respons mitogenik. Meskipun demikian, jika konsentrasinya terlampaui tinggi, radikal bebas akan menurunkan fungsi sel dan menginduksi kematian sel.¹

Efek kerusakan oksidatif oleh ROS dapat dinetralkan oleh antioksidan endogen dan eksogen,² namun apabila aktivitas radikal-bebas melebihi aktivitas antioksidan, terjadi stres oksidatif yang mengakibatkan kerusakan oksidatif terhadap protein, DNA, dan lipid. Kerusakan oksidatif akan berakumulasi terus-menerus sepanjang waktu dan berdampak terhadap patogenesis berbagai penyakit.³ Radikal-bebas juga terlibat dalam proses penuaan.¹

Penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif mempunyai tingkat mortalitas dan prevalensi yang tinggi. Data *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010* memaparkan bahwa pada tahun 2008, dari 57 juta kematian secara global, 36 juta di antaranya disebabkan oleh penyakit tidak menular.⁴ Empat penyakit penyebab kematian tertinggi di dunia disebabkan oleh stres oksidatif, yaitu penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, dan penyakit pulmonal obstruktif kronik (PPOK).^{1,4} Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 menyatakan bahwa prevalensi kanker, diabetes melitus, dan PPOK di Indonesia masing-masing adalah 1,4%, 1,5%, dan 3,7%.⁵ Hal tersebut menunjukkan perlunya suplai antioksidan eksogen yang diperoleh melalui diet untuk membantu kinerja antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh.^{1,2}

Senyawa antioksidan eksogen sintetis, contohnya vitamin E sintetis dan *butylated hydroxyanisole* (BHA), berperan menangkal radikal-bebas, tetapi senyawa sintetis tersebut juga menunjukkan efek toksik dan/atau mutagenik pada dosis yang tidak tepat.¹ Oleh karena itu, penggunaan sumber antioksidan alami sangat dibutuhkan.

Herbal merupakan antioksidan eksogen alami dan terbukti efektif secara klinis sebagai terapi antioksidatif dan memiliki efek toksik lebih kecil dibandingkan antioksidan kimia.¹ Penelitian terdahulu telah dilakukan untuk mengukur aktivitas antioksidan

herbal, termasuk *A.indica* dan *C.asiatica*. Ekstrak etanol *A.indica* mempunyai aktivitas antioksidan yang signifikan dibandingkan asam askorbat.⁶ Sementara itu, ekstrak-etanol *C.asiatica* juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang bermakna.⁷

Hingga kini, belum ada laporan yang mendokumentasikan interaksi negatif antara ekstrak *C.asiatica* dengan medikasi lain. *C.asiatica* hanya berpotensi menimbulkan efek samping jika dikonsumsi pada dosis tinggi, yaitu nyeri kepala, rasa kantuk berat, penurunan kesadaran sementara, alergi kulit, nyeri perut, dan mual.⁸ Ekstrak-etanol *A.indica* dosis rendah tidak memiliki efek toksik sehingga aman digunakan.⁹ Kombinasi ekstrak diharapkan dapat menurunkan dosis sehingga efek samping dapat dicegah.

Sampai saat ini, belum diketahui apakah campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* terhadap ekstrak-etanol *A.indica*.

Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dan dilakukan di Departemen Farmasi Kedokteran FK Universitas Indonesia pada bulan Juni–Oktober 2015. Akar *A.indica* dan daun *C.asiatica* masing-masing direndam di dalam etanol 70% selama 24 jam, dicuci dan diulangi sampai 3-5 kali. Selanjutnya, dilakukan evaporasi dengan *rotary evaporator* untuk memisahkan etanol dengan zat aktifnya hingga diperoleh zat aktif berupa larutan kental. Kadar air masing-masing ekstrak diukur dengan metode gravimetri.

Untuk membuat larutan sampel, ekstrak-etanol *A.indica* diencerkan menjadi 5 variasi konsentrasi (4%, 3%, 2%, 1%, dan 0,5%). Untuk kontrol positif dibuat dari sediaan vitamin C di pasaran dengan dosis 1.000mg/140mL diencerkan menjadi 5 variasi konsentrasi (0,0025%; 0,0020%; 0,0015%; 0,0010%; dan 0,0005%). Larutan *2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH) digunakan sebagai kontrol negatif.

Pengukuran aktivitas antioksidan dimulai dengan menginkubasi larutan sampel, blanko (metanol), dan kontrol positif selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi kontrol negatif, larutan sampel, dan kontrol positif diukur menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 520nm. Uji kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia tannin, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan steroid.

Analisis statistik terhadap hasil pengukuran absorbansi menggunakan *software* SPSS 20.0 for *Windows*. Normalitas distribusi data pengukuran absorbansi dianalisis dengan uji Saphiro-Wilk, sedangkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi dianalisis dengan uji korelasi Pearson. *Software Microsoft Excel* 2013 digunakan untuk memperoleh grafik regresi linier aktivitas antioksidan dan konsentrasi, serta persamaan garis untuk menghitung nilai EC_{50} .

Hasil

Pengukuran absorbansi dilakukan terhadap kelima variasi konsentrasi larutan ekstrak-etanol *A.indica*. Kontrol negatif berupa larutan DPPH pada pelarut etanol menunjukkan nilai 2,054 di panjang gelombang 520nm. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol *A.indica* dapat dilihat pada Tabel.1.

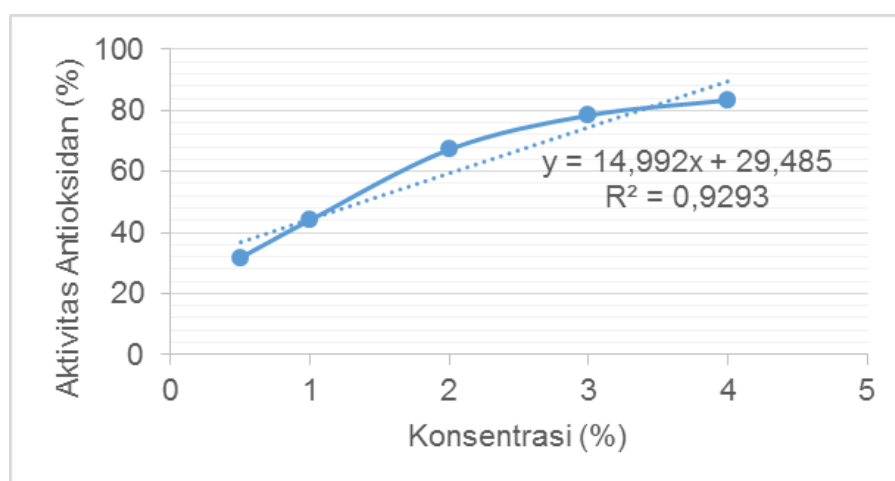
Tabel 1. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak-Etanol *A.indica*

Konsentrasi (%)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rerata Abs	Aktivitas Antioksidan (%)
4	0,371	0,349	0,305	0,342	83,366
3	0,410	0,503	0,418	0,444	78,399
2	0,645	0,690	0,684	0,673	67,235
1	1,122	1,212	1,112	1,149	44,077
0,5	1,406	1,430	1,369	1,402	31,759

Dengan uji Saphiro-Wilk, diketahui bahwa nilai absorbansi untuk semua variasi konsentrasi memiliki sebaran data normal. Uji korelasi Pearson menghasilkan skor kekuatan korelasi -0,961 dengan nilai $p < 0,001$. Berikutnya, dibuat grafik regresi linier yang menghubungkan konsentrasi sampel dengan aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran spektrofotometri menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak etanol *A.indica* berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi.

Dari grafik tersebut, diperoleh persamaan garis $y = 14.992x + 29.485$ yang digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} . Nilai R^2 persamaan garis adalah 0,9293.

Berdasarkan persamaan garis, diketahui nilai EC_{50} ekstrak-etanol *A.indica* adalah 13,68mg/mL (Gambar 1) yang mengindikasikan bahwa untuk mengurangi konsentrasi DPPH sebanyak 50%, dibutuhkan konsentrasi ekstrak-etanol *A.indica* 13,68 mg/mL.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *A.indica*

Hasil pengukuran absorbansi terhadap kelima variasi konsentrasi larutan campuran ekstrak etanol *A.indica* dan *C.asiatica* dapat dilihat pada Tabel

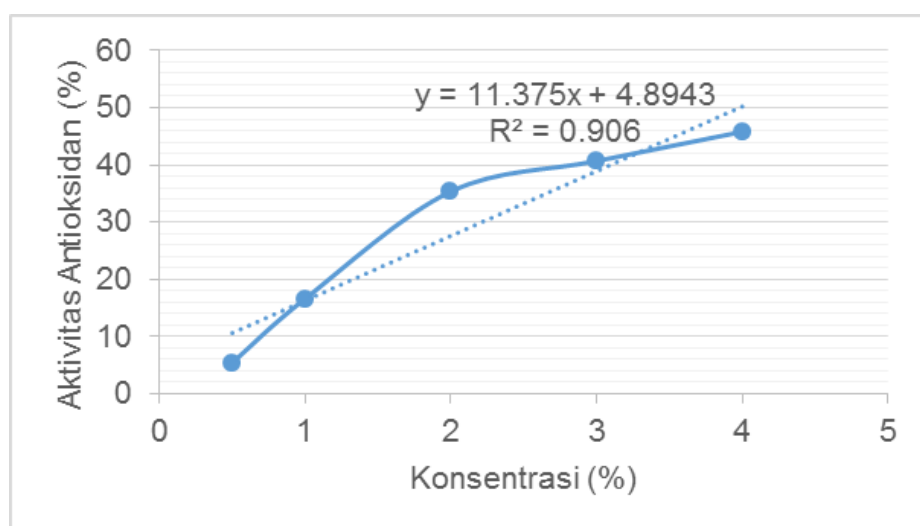
2. Pada pengukuran ini, larutan DPPH sebagai kontrol negatif memiliki nilai serapan cahaya 1,627 pada panjang gelombang 520nm.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Campuran Ekstrak Etanol *A.indica* dan *C.asiatica*

Konsentrasi (%)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rerata Abs	Aktivitas Antioksidan (%)
4	0,903	0,853	0,888	0,881	45,831
3	0,954	0,978	0,962	0,965	40,709
2	1,164	0,911	1,080	1,052	35,362
1	1,351	1,368	1,352	1,357	16,595
0,5	1,581	1,540	1,496	1,539	5,409

Uji Saphiro-Wilk menunjukkan nilai absorbansi untuk semua variasi konsentrasi memiliki distribusi data normal. Uji korelasi Pearson menghasilkan nilai kekuatan korelasi -0,933 dengan nilai $p < 0,001$. Selanjutnya, dibuat grafik regresi linier yang menghubungkan konsentrasi sampel dan aktivitas antioksidan. Berdasarkan grafik tersebut,

diperoleh persamaan garis $y = 11.375x + 4.8943$ yang dapat digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} . Nilai R^2 persamaan garis tersebut adalah 0,906. Berdasarkan persamaan garis itu, diperoleh nilai EC_{50} campuran ekstrak etanol *A.indica* dan *C.asiatica* sebesar 39,65mg/mL (Gambar 2).

**Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Aktivitas Antioksidan Campuran Ekstrak Etanol *A.indica* dan *C.asiatica***

Pada pengukuran absorbansi vitamin C, absorbansi dari kontrol negatif berupa larutan DPPH pada pelarut etanol yang diukur di panjang gelombang 520nm menunjukkan nilai 2,134. Hasil

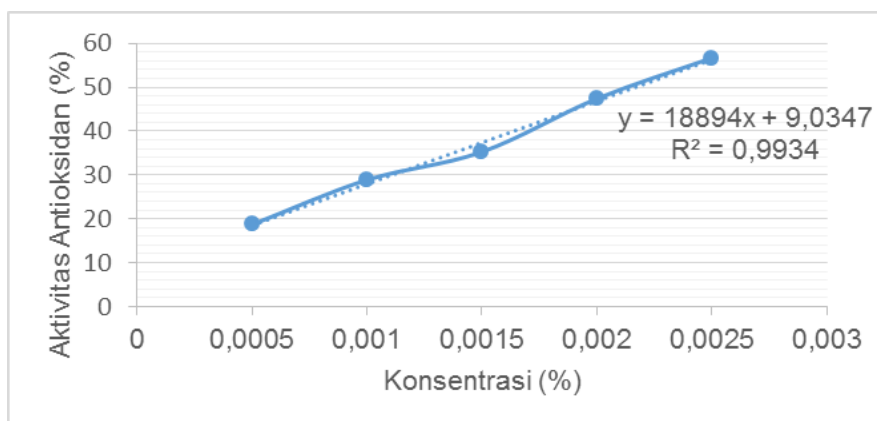
pengukuran disertai hasil penghitungan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel.3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi (%)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rerata Abs	Aktivitas Antioksidan (%)
0,0025	1,123	0,903	0,748	0,925	56,669
0,0020	1,137	1,270	0,961	1,123	47,391
0,0015	1,515	1,511	1,119	1,382	35,255
0,0010	1,526	1,673	1,355	1,518	28,866
0,0005	1,775	1,722	1,708	1,735	18,697

Berdasarkan uji Saphiro-Wilk, data nilai absorbansi untuk semua variasi konsentrasi berdistribusi normal. Uji korelasi Pearson menghasilkan nilai kekuatan korelasi -0,907 dengan nilai $p < 0,001$. Setelah itu, dibuat grafik regresi linier yang menghubungkan konsentrasi sampel dan

aktivitas antioksidan. Berdasarkan grafik tersebut, diperoleh persamaan garis $y = 18894x + 9.0347$ yang dapat dipakai untuk menghitung nilai EC_{50} . Nilai R^2 persamaan garis tersebut adalah 0,9934. Berdasarkan persamaan garis, diperoleh nilai EC_{50} vitamin C sebesar 0,02mg/mL (Gambar 3).



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Hasil uji kualitatif terhadap ekstrak etanol *A.indica* serta campuran ekstrak etanol *A.indica* dan *C.asiatica* terdapat di Tabel 4. Campuran

ekstrak etanol *A.indica* dan *C.asiatica* mengandung flavonoid dan steroid lebih banyak daripada ekstrak *A.indica*.

Tabel 4. Hasil Uji Kualitatif Fitokimia terhadap Ekstra Etanol *A.indica* dan Campuran *A.indica* dan *C.asiatica*

Fitokimia	Ekstra Etanol <i>A.indica</i>		Campuran Ekstrak Etanol <i>A.indica</i> dan <i>C.asiatica</i>	
	Hasil	Deskripsi Larutan	Hasil	Deskripsi Larutan
Tannin	-	Kuning keruh	-	Coklat kekuningan
Flavonoid	+	Kuning keputihan	++	Kuning kecoklatan
Saponin	-	Tidak ada busa	-	Tidak ada busa
Triterpenoid	-	Hijau muda	-	Hijau keruh
Steroid	+	Hijau muda	++	Hijau keruh

Pembahasan

Pada penelitian ini diperoleh nilai EC_{50} vitamin C sebesar 0,022mg/mL. Hasil tersebut serupa dengan pengukuran EC_{50} pada studi yang dilakukan oleh Chakraborty dan Ghorpade,¹⁰ Nilai EC_{50} yang terukur pada penelitian tersebut adalah 20,73µg/mL atau sama dengan 0,021mg/mL.

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang diperoleh dari penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak-etanol *A.indica* maupun campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* memiliki nilai EC_{50} yang lebih tinggi dibandingkan vitamin C yang menjadi kontrol positif. Hal tersebut berarti kedua jenis ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dari vitamin

C. Meskipun demikian, keduanya tetap memiliki aktivitas antioksidan yang bermakna sehingga memiliki fungsi sebagai antioksidan.

Campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* memiliki nilai EC_{50} lebih tinggi dari nilai EC_{50} ekstrak-etanol *A.indica*. Berdasarkan hasil penelitian Pyrzynska dan Pekal,¹¹ nilai EC_{50} yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Artinya, campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah daripada ekstrak-etanol *A.indica* tunggal. Jadi, penambahan *C.asiatica* 0,5% justru menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan pada ekstrak-etanol *A.indica*.

Hasil penelitian ini sesuai dengan studi yang dilakukan Bouayed et al.¹² Studi tersebut membuktikan peningkatan dosis antioksidan, terutama yang berasal dari metode isolasi senyawa seperti ekstraksi, dapat mengganggu sistem keseimbangan reduksi-oksidasi reaksi. Peningkatan dosis agen antioksidan yang diperoleh dari isolasi senyawa zat aktif antioksidatif dari sumber multipel tidak menghasilkan kinerja sinergis akibat interaksi antara berbagai senyawa fitokimia yang kompleks.

Pada penelitian ini, kandungan fitokimia ekstrak diuji secara kualitatif meliputi identifikasi kandungan tannin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Ekstrak-etanol *A.indica* menunjukkan warna kuning keruh pada uji tannin sehingga mengindikasikan bahwa secara kualitatif, ekstrak ini tidak memiliki kandungan tannin. Pada uji flavonoid, ekstrak-etanol *A.indica* menghasilkan warna kuning keputihan, artinya ekstrak etanol *A.indica* mengandung flavonoid. Meski warna kuningnya tidak kemerahan, hasil tersebut dianggap positif-1 (+).

Uji saponin pada ekstrak-etanol *A.indica* juga menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk busa stabil di permukaan larutan setelah dikocok secara vertikal. Pada uji triterpenoid, ekstrak-etanol *A.indica* menunjukkan warna hijau muda yang berarti bahwa secara kualitatif, ekstrak-etanol *A.indica* tidak mengandung triterpenoid. Warna hijau muda pada uji triterpenoid menunjukkan ekstrak tersebut mengandung steroid.

Hasil negatif kandungan tannin pada uji kualitatif fitokimia ekstrak etanol *A.indica* berbeda dengan penelitian Pragada et al.¹¹ Pada penelitian itu, ekstrak hidroalkoholik *A.indica* positif mengandung tannin. Perbedaan hasil itu disebabkan oleh perbedaan prosedur pengujian. Pada penelitian tersebut, ekstrak dididihkan dalam air panas sebelum disaring, sedangkan pada penelitian ini prosedur pendidihan tidak dilakukan. Hal tersebut menyebabkan reaksi belum terjadi secara optimal sehingga uji kualitatif tannin menunjukkan hasil negatif. Meskipun demikian, hasil positif pada uji kualitatif flavonoid dan steroid serupa dengan penelitian Pragada et al.¹¹ Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa ekstrak-etanol *A.indica* memiliki kandungan flavonoid dan steroid.

Campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* menghasilkan warna coklat kekuningan pada uji tannin, yang menunjukkan campuran ekstrak secara kualitatif tidak memiliki kandungan tannin.

Uji flavonoid pada campuran ekstrak menyebabkan larutan berwarna kuning kecoklatan yang berarti bahwa secara kualitatif, kandungan flavonoid pada campuran ekstrak adalah positif namun, karena warna kuning larutan tidak terlalu kemerahan, derajat kepositifan dinyatakan positif-2 (++).

Pada uji saponin, tidak ada busa stabil yang terbentuk pada permukaan larutan campuran ekstrak tersebut. Uji triterpenoid pada campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* menunjukkan warna hijau keruh yang mengindikasikan bahwa campuran ekstrak tidak mengandung triterpenoid. Sebagian hasil uji kualitatif fitokimia pada penelitian ini berbeda dari penelitian Rahman et al.⁶ Berdasarkan uji kuantitatif kandungan fitokimia pada penelitian Rahman et al.,⁶ ekstrak-etanol *C.asiatica* mengandung tannin, yaitu $5,7 \pm 3,3 \mu\text{g}/\text{mg}$ ekstrak. Sementara itu, hasil uji kualitatif kandungan tannin pada campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* pada penelitian ini menunjukkan hasil negatif. Perbedaan tersebut disebabkan oleh sensitivitas uji kualitatif yang lebih inferior dibandingkan uji kuantitatif yang dilakukan pada penelitian Rahman et al.⁶ Oleh karena itu, kadar tannin yang tidak terlalu tinggi pada ekstrak di penelitian ini tidak terdeteksi melalui uji kualitatif.

Di sisi lain, penelitian Rahman et al.⁶ mendukung hasil positif pada uji kualitatif kandungan flavonoid. Uji kuantitatif kandungan flavonoid pada ekstrak-etanol *C.asiatica* menunjukkan kadar flavonoid $9,3 \pm 0,3 \mu\text{g}/\text{mg}$ ekstrak. Hasil uji kualitatif kandungan flavonoid yang positif-2 (++) pada campuran ekstrak-etanol disebabkan oleh flavonoid dari masing-masing penyusun campuran ekstrak, yaitu ekstrak-etanol *A.indica* dan ekstrak etanol *C.asiatica*.^{6,11}

Kesimpulan

Konsentrasi dan absorbansi ekstrak-etanol *A.indica* berbanding terbalik dan konsentrasi campuran ekstrak-etanol *A.indica* serta *C.asiatica* juga berbanding terbalik dengan absorbansinya. Ekstrak-etanol *A.indica* mempunyai nilai EC_{50} 13,68mg/mL, sedangkan campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* memiliki nilai EC_{50} 39,65mg/mL. Dengan demikian, aktivitas antioksidan campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* lebih rendah dibandingkan ekstrak-etanol *A.indica*. Secara kualitatif, ekstrak-etanol *A.indica* maupun campuran ekstrak-etanol *A.indica* dan *C.asiatica* positif mengandung fitokimia berupa flavonoid dan steroid.

Daftar Pustaka

1. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2010;3:91-100.
2. Cui H, Kong Y, Zhang H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *J Signal Transduct*. 2011;2012:1-13.
3. Sims-Robinson C, Hur J, Hayes JM, Dauch JR, Keller PJ, Brooks SV, et al. The role of oxidative stress in nervous system aging. *Plos One*. 2013;8:1-12.
4. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: WHO; 2011.
5. Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar 2013. Jakarta: Kemenkes RI; 2013.
6. Rahman M, Hossain S, Rahaman A, Fatima N, Nahar T, Uddin B, et al. Antioxidant activity of *C.asiatica* (Linn.) Urban: impact of extraction solvent polarity. *J Pharmacogn Phytochem*. 2013;1:27-32.
7. Balakrishman N, Panda AB, Raj NR, Shrivastava A, Prathani R. The evaluation of nitric oxide scavenging activity of *A.indica* Linn root. *Asian J Research Chem*. 2009;2:148-50.
8. Gohil KJ, Patel JA, Gajjar AK. Pharmacological review on *C.asiatica*: a potential herbal cure-all. *Int J Pharm Sci*. 2010;72:546-56.
9. Sathta M, Kokilavani R, Teepa A. Acute and subacute toxicity studies of ethanolic extract of *A.indica* Linn in male wistar albino rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2012;5:98-100.
10. Chakraborty GS, Ghorpade PM. Free radical scavenging activity of *Abution indicum* (Linn) sweet stem extracts. *Int J Chem Tech*. 2010;2:526-31.
11. Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. Phytochemistry of medical plants. *J Pharmacognosy Phytother*. 2013;1:168-82.
12. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants, double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;3:228-37.