

Potensi Sifat Antioksidan pada 10 Jenis Ekstrak dari Famili Rubiaceae (The Potential antioxidant activity of 10 Types Extract of Rubiaceae).

Sofnie Marusin*, Saefudin** & Chairul**

*) Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Batan. **Email:** sofnie@batan.go.id.***) Bidang Botani, Puslit Biologi LIPI, Cibinong Science Center, Cibinong, Indonesia. **Email:** chair_sy@yahoo.co.id

Memasukkan: November 2012. **Diterima:** Maret 2013

ABSTRACT

Rubiaceae is known for a long time as a source of Indonesian medicinal plants. Species such as *Coffea arabica*, *Morinda citrifolia*, and *Chinchona succirubra* have been used as folk medicine since long time ago. This research was conducted to observe the peroxide value and antioxidant activity on extracts of 10 species of other Rubiaceae. The observation of peroxide value (POV) was measured by iodometric method and the result showed that significantly different POV were found in bark of *Anthocephalus macrophyllus* (69,48), bark of *Wendlandia glabrata* (67,86), bark of *Guettarda speciosa* (73,17) and leaf of *Paederia foetida* (89,14). Antioxidant activity had been measured using thiocyanate method (FTC) on four potential extracts, *i.e.*, bark of *A. macrophyllus*, bark of *W. glabrata*, bark of *G. speciosa* and leaf of *P. foetida*. The absorbance values (A) of each species are 0,294; 0,293; 0,365 and 0,375, respectively, compared to control negative (0,919) and control positive (0,31).

Keywords: Rubiaceae, antioxidant properties, POV, thiocyanate method (FTC)

ABSTRAK

Famili Rubiaceae telah lama dikenal sebagai sumber tanaman obat Indonesia. Beberapa spesies seperti *Coffea arabica*, *Morinda citrifolia*, *Chinchona succirubra* telah digunakan sebagai obat rakyat sejak jaman dulu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai peroksida dan aktivitas antioksidan pada 10 jenis ekstrak famili Rubiaceae yang lain. Nilai peroksida (POV) diukur menggunakan metode iodometri dan hasil pengukuran menunjukkan POV yang berbeda nyata kulit kayu *Anthocephalus macrophyllus* (69,48), kulit kayu *Wendlandia glabrata* (67,86), kulit kayu *Guettarda speciosa* (73,17) dan daun *Paederia foetida* (89,14). Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode tiosianat (FTC) pada empat jenis ekstrak yang berpotensi, yaitu kulit kayu *A. macrophyllus*, kulit kayu *W. glabrata*, kulit kayu *G. speciosa* dan daun *P. foetida*. Nilai absorbansi (A) dari masing-masing jenis adalah 0,294; 0,293; 0,365; dan 0,375, dibandingkan dengan kontrol negatif (0,919) dan kontrol positif (0,31).

Kata kunci: Rubiaceae, sifat antioksidan, POV, metode tiosianat (FTC)

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskular dan penuaan (Halliwell 2000). Dalam arti lain, *antioksidan* adalah senyawa yang dapat melawan dan menetralkan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan oksidatif pada molekul biologi

(Vimala 2003).

Famili Rubiaceae telah lama dikenal sebagai sumber tumbuhan obat tradisional Indonesia. Beberapa jenis telah digunakan sebagai obat tradisional dan diduga mempunyai aktivitas sebagai penangkal radikal bebas, reaktif oksigen spesies dan superoksida, yaitu radikal bebas alami yang memiliki satu elektron tidak berpasangan.

Jenis-jenis Rubiaceae yang digunakan dalam pengobatan tradisional dan modern, serta minuman fungsional dalam kehidupan masyarakat misalnya *Coffea arabica*, *Morinda citrifolia*,

Chinchona succirubra dan sebagainya. *Coffea arabica* mampu mengatasi penyakit diabetes, kandungan asam klorogenik merupakan kandidat terkuat yang berfungsi sebagai antioksidan, selain itu dapat mengurangi sakit kepala, osteoporosis, dan regenerasi sel yang rusak (Gilleen 2008). *Morinda citrifolia* dapat digunakan sebagai antioksidan, immunostimulan, antikanker, antibakteri, memperlebar pembuluh darah, analgesik, antibakteri, antifungi, antiradang, antihistamin, menurunkan kolesterol, mengikat lemak, mengatur kadar gula darah, obat cacing, TBC dan imunostimulan. Pada buah mengkudu terdapat antioksidan alami yaitu asam askorbat (Luthana 2009). *Chinchona succirubra* digunakan untuk influenza, disentri, diare, dan tonik. Kulit kina banyak mengandung alkaloid-alkaloid yang berguna untuk obat. Dua tipe alkaloid yang sangat penting yaitu kinina untuk penyakit malaria dan kinidina untuk penyakit jantung (Anonim 2009)

Penelitian potensi sifat antioksidan alami terutama pada jenis tumbuhan famili Rubiaceae lainnya perlu dilakukan untuk memperkaya khasanah pengetahuan dan alternatif sumberdaya bahan. Sebagai langkah awal, dilakukan penelitian efektivitas 10 tipe ekstrak tumbuhan famili Rubiaceae lainnya secara *in-vitro*. Tipe ekstrak yang diduga efektif sebagai antioksidan adalah: kulit batang *Anthocephalus macrophyllus*,

Guettarda speciosa Aubl., *Mussaenda frondosa* Blanco, *Neonauclea excelsa*, *Urophyllum arboreum*, herba dari *Oldenlandia corymbos*, daun dan kulit batang *Wendlandia glabrata*, daun *Paederia foetida* Lin., dan biji *Psychotria viridiflora* Reinw. ex. Blume.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan penelitian yang digunakan adalah 10 ekstrak tumbuhan dari sembilan jenis tumbuhan famili Rubiaceae yang dikoleksi dari berbagai daerah di Indonesia.

Semua herbarium dari koleksi tumbuhan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi-LIPI

Bagian tumbuhan yang diperoleh berupa kulit batang, daun ataupun biji dicuci bersih dan ditiriskan sampai kering diiris atau dipotong kecil dan dikering-anginkan dan tidak kena cahaya matahari langsung, Serbuk ekstrak dibuat dengan menggunakan *grinder* (mesh 40). Penyarian dilakukan dengan etanol secara maserasi dingin, dan filtrat dikentalkan dengan *vacuum rotavapor* sehingga diperoleh ekstrak kental dan diberi nomor barkode. Masing-masing ekstrak dibuat konsentrasi 1000 µg/ml (timbang masing-masing ekstrak ± 5 mg dalam vial 10 ml), untuk memudahkan kelarutan ekstrak tambahkan Dimetil sulfoksida (DMSO) 1–5 tetes, ditambahkan ± 5 ml air suling steril.

Tabel 1. Bahan penelitian 10 Ekatrak koleksi BETBI (Bank Ekstrak Tumbuhan Berguna Indonesia), Puslit Biologi LIPI (BIO-LIPI)

No.	Barkode Ekatrak	Jenis tanaman	Bagian Tanaman
	129	<i>Anthocephalus macrophyllus</i>	kulit batang
	444	<i>Guettarda speciosa</i>	kulit batang
	244	<i>Mussaenda frondosa</i>	kulit batang
	282	<i>Neonauclea excelsa</i>	kulit batang
	216	<i>Oldenlandia corymbosa</i>	herba
	238	<i>Paederia foetida</i>	daun
	406	<i>Psychotria. viridiflora</i>	biji
	37	<i>Urophyllum arboreum</i>	kulit batang
	150	<i>Wendlandia glabrata</i>	daun
	189	<i>Wendlandia glabrata</i>	kulit batang

Penapisan fitokimia dilakukan untuk identifikasi terhadap golongan senyawa kimia tertentu seperti alkaloid, saponin, glikosida, flavonoida, tannin, polifenol dan antrakuinon (Guevara & Recio 1985). Penapisan fitokimia (*Phytochemical screening*) dilakukan dengan menggunakan kit pereaksi warna (kualitatif) terhadap ekstrak dari masing-masing tipe.

Sebagai kontrol digunakan kulit batang *Cinchona succirubra* (++++)(alkaloid), buah lerak atau *Sapindus rarak* (++++)(saponin), buah atau umbi gadung *Dioscorea* sp (++++)(steroid), kulit jeruk *Citrus aurantii*(++++)(flavonoid/antosianidin), buah pinang *Areca catechu* (++++)(tannin/polifenol), dan jadam *Aloe vera* (++++)(antrakuinon)(Tyler, 1988).

Peroxyde Value (POV) ditentukan secara titrasi iodometri sebagai larutan titran natrium tiosulfat 0.01 N ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), berdasar metode Official method of Analysis (AOAC) (Williams, 1984). Pengujian dilakukan secara triplo dan α -tokoferol (Vit. E) digunakan sebagai kontrol positif. Dari hasil titrasi tersebut dicatat jumlah (dalam ml) natrium tiosulfat yang terpakai. Nilai peroksida dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{POV} = S \times N \times 1000 / \text{gram sampel}$$

Keterangan:

S = ml larutan Natrium tiosulfat N= normalitas dari Natrium tiosulfat

Pengujian sifat antioksidan dilakukan berdasar metode tiosianat yang dikembangkan oleh Kikuzaki *et al.* (1999) dengan menggunakan asam linoleat, H_2O_2 , Ferosulfat (FeSO_4) dan ammonium tiosianida (NH_4CNS). Absorbansi (A) dari warna merah yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 500 nm. Pengujian tersebut dilakukan selama 14 hari secara triplo. α -tokoferol atau Vit. E (10%) digunakan sebagai kontrol positif.

Data yang diperoleh dari sifat antioksidan diuji menggunakan metode Kuscall-Wallis dengan $\alpha = 0,05$, jika terdapat perbedaan dilanjutkan uji statistik Mann Witney. Pengolahan data dilakukan dengan komputasi menggunakan piranti lunak program pengolahan data statistik SPSS 17 (Santoso 2007).

HASIL

Uji nilai peroksida (POV)

Hasil pengujian menunjukkan nilai Peroksida sangat bervariasi dengan kategori kelompok tinggi, sedang, dan rendah dibandingkan kontrol (Tabel 2).

Uji anti oksidan

Hasil uji penapisan fitokimia pada 10 jenis ekstrak tumbuhan famili Rubiaceae yang diteliti mempunyai kandungan kimia yang bervariasi

Tabel 2. Nilai peroksida 10 tipe ekstrak koleksi Bank Ekstrak-BIO-LIPI

No. Barkode Ekstrak	Jenis tanaman	Bagian yang di ekstrak	Nilai
129	<i>A. macrophyllus</i>	kulit batang	69,48
444	<i>G. speciosa</i>	kulit batang	73,17
244	<i>M. frondosa</i>	kulit batang	124,7
282	<i>N. excelsa</i>	kulit batang	99,3
216	<i>O. corymbosa</i>	herba	138,6
238	<i>P. foetida</i>	daun	89,14
406	<i>P. viridiflora</i>	biji	90,64
37	<i>U. arboreum</i>	kulit batang	99,33
150	<i>W. glabrata</i>	daun	92,66
189	<i>W. glabrata</i>	kulit batang	67,86
	<i>Vit. E</i>		89,2

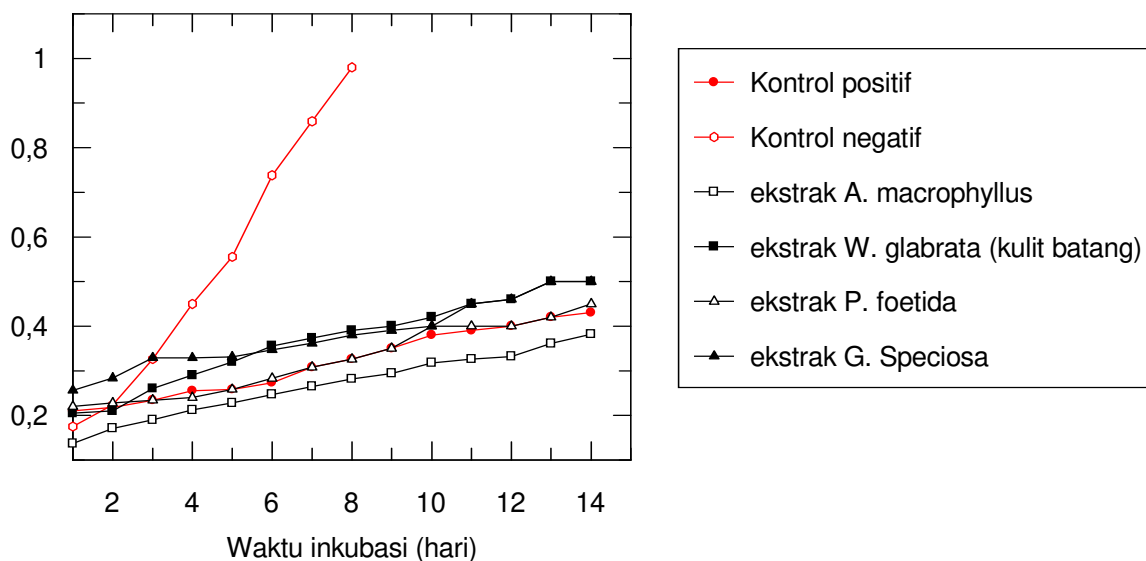
meliputi kelompok kimia alkaloid (Alk), saponin (Sap), glikosida (Gli), flavonoid (Flav), tannin/polifenol (T/P) dan antrakuinon (Antra) (Tabel 3, Gambar 1).

Uji penapisanfitokimia

Hasil uji penapisan fitokimia pada 10 jenis ekstrak tumbuhan famili Rubiaceae yang diteliti mempunyai kandungan kimia yang bervariasi meliputi kelompok kimia alkaloid (Alk), saponin

Tabel 3, Nilai Absorbansi rata-rata sifat antioksidan 4 jenis ekstrak Rubiaceae terpilih dengan metode Tiosianat (FTC)

Hari	Ekstrak (1000 µg/ml)					
	KP	K N	Am	Wgb	Pf	GS
1	0,21	0,175	0,137	0,205	0,22	0,256
2	0,218	0,234	0,171	0,21	0,228	0,284
3	0,234	0,326	0,19	0,26	0,234	0,292
4	0,255	0,404	0,212	0,29	0,24	0,314
5	0,258	0,555	0,228	0,32	0,258	0,331
6	0,27	0,738	0,247	0,356	0,283	0,347
7	0,308	0,859	0,265	0,373	0,308	0,362
8	0,326	0,98	0,282	0,39	0,326	0,378
9	0,353	1,101	0,294	0,406	0,353	0,394
10	0,38	1,222	0,318	0,423	0,38	0,403
11	0,39	1,343	0,326	0,445	0,4	0,441
12	0,4	1,464	0,332	0,459	0,41	0,459
13	0,423	1,585	0,361	0,478	0,423	0,472
14	0,434	1,706	0,382	0,49	0,454	0,515
Jml	4,459	12,872	3,745	5,105	4,107	5,248
Rataan	0,319	0,919	0,268	0,365	0,293	0,375



Gambar 1, Kurva sifat antioksidan 4 jenis ekstrak Rubiaceae terpilih

(Sap), glikosida(Gli), flavonoid (Flav), tanin/polifenol (T/P) dan antrakuinon (Antra) (Tabel 4).

PEMBAHASAN

Hasil uji potensi antioksidan dari beberapa ekstrak Rubiaceae yang diteliti, diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang bervariasi dan berdasarkan data nilai peroksidanya (POV) maupun uji potensi antioksidan dari jenis-jenis terpilih dengan metode FTC, 4 ekstrak diantaranya menunjukkan aktivitas yang cukup signifikan yaitu, ekstrak kulit batang *A. macrophyllus*, ekstrak daun *P. foetida*, ekstrak kulit batang *W. glabrata* dan ekstrak kulit batang *G. speciosa*, maka pengukuran sifat antioksidan dilakukan terhadap ekstrak kulit batang *A. macrophyllus*, kulit batang *W. glabrata*, daun *P. foetida* dan kulit batang *G. speciosa* (Tabel 2).

Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan nilai absorbansi (A). Nilai absorbansi akan meningkat seiring dengan lama waktu penyimpanan. Pada pengamatan antioksidan dapat diketahui hampir semua ekstrak mempunyai nilai rata-rata absorbansi dibawah kontrol negative (KN). Nilai rata-rata absorbansi terendah

dibawah kontrol positif (KP) adalah ekstrak kulit batang *A. macrophyllus* (0,268) dan daun *P. foetida* (0,293), sedangkan dua lainnya di atas rata-rata KP yaitu, kulit batang *W. glabrata* (0,365) dan kulit batang *G. speciosa* (0,375). Nilai rata-rata absorbansi setelah penyimpanan selama 14 hari pada kontrol positif (KP) adalah 0,31 dan kontrol negatif (KN) 0,919 (Tabel 3) Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diuji memberikan nilai A yang berbeda signifikan baik terhadap kontrol positif (KP) dan kontrol negatif (KN) (Tabel 3 dan Gambar 1).

Hal ini terjadi karena adanya perbedaan kandungan senyawa pada masing-masing ekstrak tumbuhan, ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi diduga memiliki kandungan senyawa turunan poliena, flavonoid, tannin (polifenol), enol dan enon. Dari analisis kelompok/golongan kandungan senyawa kimia (penapisan fitokimia) ekstrak uji dapat diketahui bahwa kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam bahan uji tersebut bervariasi (Tabel 4). Hasil uji menunjukkan bahwa bahan uji yang mengandung kelompok senyawa alkaloid, flavonoid dan tannin/polifenol yang tinggi memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi pula

Tabel 4. Hasil penapisan fitokimia

Jenis	Alk	Sap	Gli	Flav	T/p	Antra	Bgn digunakan
<i>U, arboreum</i>	-	++	-	+++	+	-	KB
<i>A macrophyllus</i>	-	+++	-	-	+++	+++	KB
<i>W, glabrata</i>	-	++	-	++	++	-	D
<i>W, glarata</i>	-	+	-	+++	+++	-	KB
<i>O,corymbosa</i>	-	-	-	++	+	-	H
<i>N, excelsa</i>	-	++	++	++	+++	-	KB
<i>P, foetida</i>	-	+	-	+++	+++	-	D
<i>M, frondosa</i>	+	+	+	++	++	-	KB
<i>G, speciosa</i>	-	+	-	+++	+++	++	KB
<i>P, viridiflora</i>	-	+++	-	++	++	-	B

Keterangan : KB (kulit batang), D (daun), H (herba) dan B (biji),

+++ = memberikan reaksi banyak + = memberikan reaksi sedikit
 ++ = memberikan reaksi sedang - = memberikan reaksi negative

(Vimala 2003).

Flavonoid dan tannin (polifenol) adalah suatu kelompok senyawa fenolik alam, disintesis oleh tumbuhan, mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia. (Ardiansyah 2007). Sejak awal 1966, aktivitas antioksidan dari flavonoida telah mulai dipelajari terutama difokuskan pada kuersetin dan rutin, tetapi hasilnya tidaklah konsisten, walaupun menggunakan cara uji yang sama (Robak 1988; Yuting 1990). Aktivitas antioksidan beberapa flavonoida telah diuji dengan menggunakan metoda peroksida pada lipida (Ramanathan 1994; Mora 1990; Cholbi 1991; Loughton 1991; Wang 1992). Flavonoid dikenal memiliki peran sebagai pelindung terhadap iradiasi sinar ultra violet (UV), termasuk beberapa senyawa biflavonoid (Harborne & Williams, 2000) dan sebagai antioksidan (Nakatani 1990). Flavonoid dan turunannya juga telah diakui memainkan peranan yang sangat penting dalam kesehatan tidak hanya terbatas pada aktivitas antioksidannya, tetapi juga berbagai aktivitas biologi dan farmakologi lainnya seperti, sebagai antibakteri, antiviral, dan efek antimutagenik serta menghambat beberapa enzim (Berghe 1993; Harborne & Williams 2000).

Dapat dirumuskan bahwa beberapa tumbuhan penghasil flavonoida yaitu daun seledri (*Apium graveolens*), Jeruk (*Citrus sp*), Teh (*Camellia sinensis*), Coklat hitam (*Theobroma cacao*) bawang (*Allium cepa*), Bayam merah (*Amaranthus sp*), kedelai (*Soya max*) dsb. (Anonim 2013; Gil 1999; Divi 1997; Ioku 2001) dapat dipromosikan sebagai antioksidan, misalnya untuk pengendali kelebihan konsentrasi asam urat (reumatik/gout) dan penurunan aktivitas sel akibat iskemia, maupun antioksidan dalam jaringan tubuh manusia seperti anti-inflamasi, anti mutagenik (Edenharder dkk. 1993), anti klastogenik (Heo dkk. 1992) anti kanker (Verma dkk.

1988; Dreschner dkk. 1991), anti-platelet (Harborne & Williams 2000).

Dari penelusuran pustaka diketahui bahwa dari keempat ekstrak yang mempunyai aktivitas antioksidan yang baik (*A. macrophyllus*, *P. foetida*, *W. glabrata* dan *G. speciosa*), informasi tentang evaluasi kimia dan efikasinya sangat sedikit sekali dan ada diantaranya tidak ada sama sekali seperti *A. macrophyllus* (Pubmed.com, 2013). Genus *Guettarda* diketahui mengandung senyawa iridoid dan glikosida (Moura 2011) dan berkhasiat sebagai larvasida terhadap *Aedes aegypti* L. (Oliveira 2010), dan *Paederia foetida* mempunyai khasiat sebagai antioksidan, antidiarrhoeal dan anti-inflamasi (Osman 2009; Afroz 2006; De 1994), dan kandungan kimianya adalah senyawa fenol (Osman 2009), sedangkan Genus *Wenlandia* mengandung glikosida iridoid yang bersifat sebagai antioksidan (Dinda 2006 & 201; Raju 2004).

Analisis statistik pada uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa nilai absorbansi (A) ekstrak uji dan kontrol berbeda secara signifikan ($\alpha \leq 0,05$) yang menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok sampel yang memiliki nilai peroksida tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang memiliki nilai peroksida rendah. Namun demikian masih diperlukan penelitian lebih lanjut. Meskipun suatu ekstrak/senyawa uji menunjukkan daya antioksidan yang tinggi dengan salah satu metode, tidak selalu akan memberikan hasil yang sama baiknya dengan menggunakan metode lainnya sehingga disarankan untuk mengukur daya antioksidan dengan berbagai macam metode.

DAFTAR PUSTAKA

Afroz S., M. Alamgir, MT. Khan. 2006. Antidiarrhoeal activity of the ethanol extract of *Paederia foetida* Linn (Rubiaceae), *J*

- Ethnopharmacol* 105(1-2); 125-130.
- Anonim. 2009. *Mengenal Tanaman Obat Indonesia*. Blog's E-smartschool.
- Anonim, 2013. *Flavonoid*, Wikipedia, the free encyclopedia.
- Ardiansyah. 2007. *Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan*. Artikel Iptek. Akses 29 Maret 2009.
- Berghe, V.D.A.R., A. Haemers, & A.J. Vlietinck, 1993. in *Bioactive Natural Products: Antioxidant Detection, Isolation and Structural Determination*; Colegate, S.M. & R.J. Molyneux. (Eds.). CRC Press, London. 405-440.
- Cholbi, M.R., M. Paya, & M.J. Alcazar, 1991, Inhibitory effects of phenolic compounds on CCl₄-induced microantioxidant lipid peroxidation, *Experient*, 47:195-199.
- De S, B. Ravishankar & G.C. Bavshar, 1994. Investigation of the anti-inflammatory effect of *Paederia foetida*. *J Ethnopharmacol* 43 (1): 31-38.
- Dinda B, S. Debnath, R. Banik, N. Sato & Y. Harigaya. 2011. Iridoid glucoside from *Wendlandia tinctoria* roots, *Nat Prod Commun* 6 (6): 747-748
- Dinda B, S. Debnath, S. Arima, N. Sato & Y. Harigaya. 2006, Iridoid glucoside from *Wendlandia tinctoria* roots, *Chem Pharm Bull* 54 (7): 1030-1033.
- Divi R.L., H.C. Chang, & D.R. Doerge. 1997. Antithyroid isoflavon from soybean: isolation, characterization, and mechanism of action, *Biochem Pharmacol* 54 (10); 1087-1096.
- Donald, R.B., & C. Miranda. 2001. *Antioxidant Activities of Flavonoids*. lpi@oregon state.edu.
- Dreschner, E.E., J. Ruperto, G. Wong & H.L. Newmark. 1991. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis* 7: 1193-1196.
- Gilleen. 2008. *Manfaat kopi*. Gilleen's Blog. 15 September 2008.
- Gill M.T., F. Ferreres, & F.A. Tomas-Barberan. 1999. The effect of postharvest storage and processing on antioxidant constituents (flavonoid and vitamin C) of fresh cut spinach, *J. Agric Food Chem* 47(6): 2213-2217.
- Guevara B.Q. & B.V. Recio. 1985. *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological Screening of the Medicinal Plants*. Research Center University of Santo Thomas, Philippines.
- Edenharder, R., I. von Petersdorff & R. Rauscher. 1993. Antimutagenic effects of flavonoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3-methylimidazo-4,5-quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutant Research* 28: 261-274
- Halliwell, B & J.M.C. Gutteridge. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York.
- Harborne, J.B. & C.A. Williams. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55: 481-504
- Heo, M.Y., K. Yu, K.H. Kim, H.P. Kim, & W.W. Au. 1992. Anticlastogenic effect of flavonoids against mutagen-induced micronuclei in mice. *Mutant Research* 284: 243-249.
- Ioku, K., Y. Aoyama, & A. Tokuno. 2001. Various cooking methods and the flavonoid content in onion. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo) 41 (7): 78-83.
- Kikuzaki H., S. Hara, K. Yayoi & N. Nakatani. 1999. Antioxidative, phenylpropanoids from berries of *Pimenta dioica*. *J. Phytochem.* 52: 1307-1312.
- Laughton, M.J., P.J. Evans, & M.A. Moroney. 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavo-

- noids and phenolic and dietary additives. *Biochem Pharmacol*, 42, 1673-1681.
- Luthana, YK. 2009. *Mengkudu dan Senyawa Antioksidannya*. Yongki's Blog. 26 Januari 200
- Mora, A., M. J.L. Paya, Rios & M.J. Alcazar 1990. Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymatic lipid oxidation, *Biochem Pharmacol*, 40, 793-797.
- Moura FS, GS. Lima, MR. Meneghetti, LRP. Lyra & LM. Conserva. 2001. A New Irodooid from *Guettarda grazielae* MRV Barbosa (Rubiaceae), *Nat. Prod. Res.* 25 (17): 1614-1620.
- Nakatani, N. 1990. Recent advances in the study on natural antioxidants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 37: 569-576.
- Oliveira PV, JC. Ferreira jr, & FS. Moura. 2010. Larvicidal activity of 94 extracts from ten plants species of northern Brazil against *Aedes aegypti* L (Diptera: Culicidae), *Parasitol Res* 107 (2): 403-407.
- Osaman, H., AA. Rahin, NM. Isa & NM. Bakhir. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of *Paederia foetida* and *Syzygium aqueum*, *Molecules* 14 (3): 970-978.
- Pubmed-NCBI, <http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- Raju BL, SJ. Lin, WC. How, ZY. Lai, PC. & FL. Hsu. 2004. Antioxidant iridoid glucoside from *Wendlandia formosana*. *Nat Prod Res* 18 (4): 357 – 364.
- Ramanathan, R., NP. Das & CH. Tan. 1994. Effects of D-linolenic acid, flavonoids, and vitamins on cytotoxicity and lipid peroxidation, *Free Rad Biol Med*. 16: 43-48.
- Robak, J. & RJ. Greiglewski. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions, *Biochem Pharmacol*. 37: 837-841.
- Santoso Singgih. 2007. *Menguasai Statistik Di Era Informasi Dengan SPSS 15*. PT Elex Media Komputindo. Jakarta
- Takaya, Y., Y. Kondo, T. Furukawa, T & M. Niwa. 2003. Antioxidant Constituents of Radish Sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L., *J. Agric. Food Chem*, 51: 8061-8066.
- Tyler VE, LR. Bradyand & JE Robbers 1988. *Pharmacognosy* 9th ed. Lea & Febiger, Philadelphia USA.
- Wang, P-F & R-L Zheng. 1992. Inhibition of the autoxidation of linoleic acid by flavonoids in micelles, *Chem Phys Lipids*. 63: 37-40.
- Verma, AK, JA. Johnson, MN. Gould & M.A. Tanner. 1988. Inhibition of 7,12 dimethylbenz(a)anthracene and N-nitroantioxidant methylurea induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin. *Cancer Research*. 48: 5754-5788.
- Vimala, S., MI. Adenan, AR. Ahmad & Shahdan Rohana. 2003. *Nature's Choice To Wellness: Antioxidant Vegetables/Ulam*. Forest Research Institut. Malaysia, Kuala Lumpur
- Williams, S. 1984. *Official Methods of Analysis*, 14th edition. American Official Analytical Chemistry (AOAC). Arlington, Virginia, 507.