

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI KLOROFORM EKSTRAK ETANOL  
DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN SENYAWA  
KIMIANYA**

**Aqnes Budiarti<sup>\*</sup>, Maria Ulfah, Frista Atika Oktania**  
Jurusan S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim  
Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236.  
\*Email: aqnesliu@gmail.com

**Abstrak**

*Antioksidan berguna bagi kesehatan yakni untuk melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara menetralkannya. Salah satu bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah daun *Annona muricata L.* yang lebih dikenal dengan nama daun sirsak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak dan identifikasi kandungan senyawa kimianya terutama flavonoid yang telah diketahui peranannya sebagai anti oksidan. Pembuatan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi selama tiga hari menggunakan pelarut etanol 96%. Fraksinasi dikerjakan secara bertingkat menggunakan pelarut dietil eter dan kloroform. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan dilakukan pada beberapa seri konsentrasi sampel yaitu 500; 1000; 2000 dan 4000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Pembanding yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah vitamin C dengan seri konsentrasi 0,3125; 0,625; 1,25 dan 2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Identifikasi kandungan senyawa kimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 3132  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , sementara vitamin C sebesar 1,35  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Hasil KLT terhadap fraksi uji menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.*

**Kata kunci :** antioksidan, fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak, metode DPPH.

## 1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif yang dapat merusak sel (Winarsi, 2007). Radikal bebas adalah salah satu bentuk dari senyawa oksigen reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab berbagai macam penyakit misalnya arterosklerosis, kanker, jantung koroner dan penuaan dini (Tapan, 2005).

Antioksidan sebagai penangkal radikal bebas saat ini sedang banyak diteliti (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat berasal dari alam, salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk obat tradisional sebagai antioksidan adalah *Annona muricata L.* yang lebih dikenal dengan nama daun sirsak. Penelitian antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) telah dilakukan oleh Baskar *et al* dan menghasilkan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*) sebesar 70  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Baskar dkk., 2006).

Uji pendahuluan terhadap daun sirsak (*Annona muricata L.*) menunjukkan hasil yang positif terhadap senyawa flavonoid, steroid, alkaloid, tanin dan saponin (Purwatesna, 2012). Senyawa golongan flavonoid dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Zuhra dkk., 2008). Flavonoid dapat bersifat polar karena adanya gula yang terikat padanya, bentuk ini cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Andersen dan Markham, 2006).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian aktivitas antioksidan fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dengan metode DPPH beserta identifikasi senyawa kimianya, terutama flavonoid. Penelitian ini melanjutkan uji aktivitas antioksidan yang telah dilakukan Baskar dkk (2006). Fraksinasi dilakukan dengan sistem partisi

cair-cair terhadap fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak. Metode DPPH digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan. Kandungan senyawa kimia diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

## 2. METODOLOGI

### 2.1. Bahan penelitian

Daun sirsak diambil dari Desa Sadeng Gunung Pati Semarang, etanol 96% (Brataco), kloroform (Brataco) dan aquadest, silica gel (Merck), butanol, asam asetat, alumunium klorida, DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) p.a, etanol 96% p.a dan vitamin C (Phapros).

### 2.2. Alat penelitian

Seperangkat alat maserasi, timbangan elektrik (Ohaus), corong buchner, seperangkat alat gelas, mikropipet, stirer, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10), seperangkat alat kromatografi vakum cair, *rotary evaporator* (Heidolph German), *moisture balance* (Ohaus), lempeng KLT, chamber, lampu UV 254 dan 366 nm dan oven.

### 2.3. Jalannya Penelitian

#### 2.3.1. Identifikasi bagian tanaman

Identifikasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas SAINS dan Matematika Universitas Diponegoro.

#### 2.3.2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk simplisia

Daun sirsak sebanyak 7,855 kg dipilih usia daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua kemudian daun sirsak dicuci dengan air mengalir, ditiriskan dan dianginkan. Selanjutnya dikeringkan di dalam oven dengan suhu kurang dari 50°C. Simplisia yang telah kering tersebut kemudian dihaluskan, diayak dan ditimbang, berat serbuk kering daun sirsak yang didapat sebanyak 2,255 kg.

#### 2.3.3. Pembuatan ekstraksi dan fraksinasi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara 2,255 kg serbuk daun sirsak diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96% sebanyak 22 L yang dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian pertama 16 L pelarut etanol digunakan untuk maserasi bagian pertama selama tiga hari terlindung dari cahaya dan ditaruh dalam bejana atau toples tertutup dengan pengadukan sehari minimal 3 kali dan kemudian disaring sehingga didapat filtrat I. Setelah tiga hari kemudian ampas diperas menggunakan corong buchner, ampas ditambah cairan penyari etanol 96% sebanyak 6 L, diaduk dan dibiarkan dalam bejana tertutup selama tiga hari. Ampas dan endapan dipisah dari filtratnya dengan kertas saring, filtrat I dan II dicampur untuk selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan proses fraksinasi.

Proses fraksinasi dimulai dengan melarutkan 150,0 g ekstrak kental daun sirsak yang diperoleh ke dalam 135 mL air dan 15 mL etanol (9:1) hingga seluruh ekstrak larut sempurna, selanjutnya difraksinasi bertingkat dengan menggunakan corong pisah dengan pelarut dietil eter dan kloroform. Proses ini dilakukan hingga fraksi kloroformnya jernih. Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan jumlah air:etanol (9:1) yang ditambahkan ke dalam ekstrak etanol daun sirsak (perbandingan 1:1). Fraksi kloroform ditampung dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 50°C.

#### 2.3.4. Uji aktivitas antioksidan

##### 2.3.4.1. Pembuatan larutan stok DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 1,97 miligram kemudian ditambah etanol 96% p.a sampai tanda pada labu takar 50,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM.

#### **2.3.4.2. Pembuatan larutan stok vitamin C**

Sebanyak 10,0 mg vitamin C dilarutkan dalam etanol 96% p.a hingga 50,0 mL, sehingga diperoleh larutan stok 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 0,3125; 0,625; 1,25 dan 2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

#### **2.3.4.3. Pembuatan deret konsentrasi larutan uji**

Sebanyak 100,0 mg fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak dilarutkan dalam etanol 96% p.a. hingga 5,0 mL sehingga diperoleh larutan stok 20.000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 2000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan 4000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

#### **2.3.4.4. Penentuan panjang gelombang DPPH 0,1 mM**

Larutan DPPH 0,1 mM diukur serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500-525 nm.

#### **2.3.4.5. Penentuan *operating time***

Vitamin C sebanyak 50  $\mu\text{L}$  ditambah 4,0 mL larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dengan cara divortex selama 30 detik dan diukur pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada  $\lambda$  maksimum yang telah diperoleh.

#### **2.3.4.6. Uji aktivitas antioksidan**

Sampel dengan berbagai konsentrasi, masing-masing sebanyak 50  $\mu\text{L}$  ditambah 4,0 mL larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dengan cara divortex selama 1 menit, didiamkan untuk mencapai *operating time* dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pembanding yang digunakan adalah vitamin C dengan berbagai seri konsentrasi, yang diperlakukan sama seperti sampel. Blanko menggunakan etanol 96% p.a.

#### **2.3.5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Fase gerak yang digunakan adalah butanol:asam asetat:air (3:1:1). Setelah proses elusi berakhir, lempeng silica gel tersebut dikeringkan dengan diangin-anginkan lalu dideteksi dengan penampak bercak aluminium klorida dan diamati pada sinar UV 254 nm dan 366 nm, bercak diukur dan dihitung nilai Rf nya.

### **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **3.1. Identifikasi Bagian Tanaman**

Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan sebagai sumber sampel adalah benar. Hasil identifikasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar *Annona muricata L.* dengan kunci identifikasi sebagai berikut: 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a..... (Van Steenis, 1981).

#### **3.2. Pembuatan Serbuk Simplisia**

Daun Sirsak dicuci dan dikeringkan. Tujuan pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu relatif lama (Mursito, 2002). Simplisia yang telah kering, dihitung kadar airnya sebelum diserbuk menggunakan alat *moisture balance*. Simplisia daun sirsak memiliki kadar air sebesar 2,5%. Secara umum, kadar air simplisia tanaman obat maksimum 10% (Gunawan dan Mulyani, 2004). Tujuan pengubahan bentuk dari daun sirsak menjadi serbuk yaitu untuk memperluas permukaan sehingga kontak antara dinding sel dengan cairan penyari sehingga mempermudah penyarian (Voight, 1994). Berat serbuk kering daun sirsak yang didapat sebanyak 2,255 kg.

#### **3.3. Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Sirsak**

Metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini adalah maserasi karena prosesnya tidak menggunakan panas sehingga tidak merusak komponen senyawa uji yang termolabil. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 260 gram dari 2,255 kg serbuk kering daun sirsak. Randemen ekstrak sebesar 11,53%. Merasasi ini diharapkan dapat menyari senyawa-senyawa non polar yang larut dalam pelarut etanol 96% seperti aglikon flavonoid. Secara makroskopis, ekstrak berwarna hijau kehitaman dengan bau yang khas. Pengentalan ekstrak dilakukan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut yang masih berada di dalam ekstrak sehingga diharapkan ekstrak yang diperoleh merupakan komponen zat aktif yang

terdapat pada daun sirsak dan tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Ekstrak kental disimpan pada tempat yang terlindung dari sinar cahaya matahari langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya matahari yang dapat merusak komponen zat aktif (Voight, 1994).

Proses fraksinasi menggunakan pelarut kloroform dan campuran air-ethanol. Hal ini dilakukan karena dasar dari pemisahan dengan cara partisi cair-cair adalah perbedaan kelarutan dan syarat untuk melakukan partisi adalah dua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur. Proses partisi bertujuan untuk menyari senyawa-senyawa yang terlarut dalam kloroform (Seidel, 2006). Fraksi kloroform yang diperoleh sebanyak 1,77 g.

### 3.4. Uji Aktivitas Antioksidan

#### 3.4.1 Penentuan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum dan *operating time*

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mendapatkan serapan yang maksimum dengan mengukur absorbansi senyawa DPPH pada daerah visibel. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimalnya adalah 517 nm.

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara menentukan waktu sempurnanya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi. Pengukuran *operating time* dihitung sejak dicampurkannya larutan DPPH 0,1 mM dengan vitamin C. Absorbansi larutan DPPH ditambah vitamin C relatif konstan mulai terjadi pada menit ke-10.

#### 3.4.2. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dapat diamati dengan indikator perubahan warna pada DPPH dari ungu menjadi kuning. Hal ini terjadi karena elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004). Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel I berikut :

**Tabel I. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Sirsak**

	Sampel	Konsentrasi ( $\mu$ g/ml)	Aktivitas Antioksidan (%)
<b>Fraksi</b>	500	32,576	
	1000	35,509	
	2000	36,803	
	4000	58,289	
<b>Vitamin C</b>	0,3125	35,130	
	0,625	42,996	
	1,25	53,048	
	2,5	60,972	

Data pada Tabel I menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel uji yang digunakan maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hal ini karena kemampuan antioksidan untuk meredam radikal bebas pada konsentrasi yang tinggi semakin besar, sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan juga semakin besar.

Selanjutnya dari data yang diperoleh diolah menggunakan persamaan regresi linier dari bentuk  $y = bx + a$  antara konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y). Persamaan regresi linier ini digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi berapakah fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak dan vitamin C dapat menghambat 50% absorbansi kontrol DPPH sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  didefinisikan sebagai agen konsentrasi yang menghasilkan penurunan 50% pada sampel dan kontrol (Blumenthal, 2005). Harga  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004). Harga  $IC_{50}$  sampel dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel II.

**Tabel II. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Sirsak**

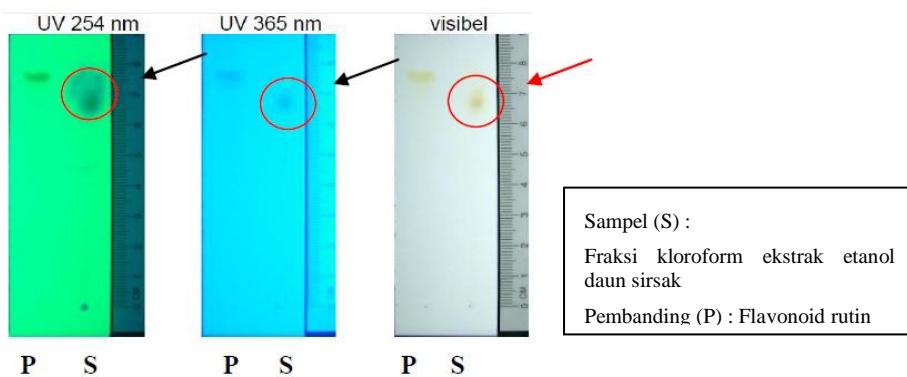
Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi Linier	Nilai $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol</b>	500	32,576	$Y = 7,32 \times 10^{-3} X + 27,072$	3132
	1000	35,509	$r = 0,960$	
	2000	36,803		
	4000	58,289		
<b>Vitamin C</b>	0,3125	35,130	$Y = 11,19X + 34,93$	1,35
	0,625	42,996	$r = 0,956$	
	1,25	53,048		
	2,5	60,972		

Tabel II menunjukkan bahwa nilai  $\text{IC}_{50}$  untuk fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak adalah 3132  $\mu\text{g/ml}$  dan jauh lebih besar dibanding  $\text{IC}_{50}$  untuk vitamin C yaitu 1,35  $\mu\text{g/ml}$ . Hal ini menunjukkan bahwa daya aktivitas antioksidan fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak lebih kecil dibanding dengan daya aktivitas antioksidan vitamin C. Semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  berarti semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004). Hal ini karena senyawa flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antioksidan dalam fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak kadarnya hanya sedikit dibanding vitamin C yang merupakan senyawa sintetis murni yang poten sebagai antioksidan.

Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah satu sumber antioksidan yang larut dalam air, mudah diperoleh, dan banyak dikonsumsi masyarakat. Vitamin C mudah mengalami oksidasi oleh radikal bebas karena mempunyai ikatan rangkap dan dengan adanya 2 gugus-OH yang terikat pada ikatan rangkap tersebut, radikal bebas akan mencabut atom hidrogen dan menyebabkan muatan negatif pada atom oksigen yang selanjutnya akan terstabilkan melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak membahayakan (Cholisoh dan Utami, 2008).

### 3.4.3. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Pengamatan lempeng KLT dilakukan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm untuk melihat perbedaan penampakan noda yang gelap dan berfluoresensi terang (Wagner, 1984).



**Gambar 1. Kromatogram Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Sirsak  
Dan Pembanding**

Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena senyawa tersebut adalah senyawa fenol yaitu senyawa dengan suatu gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Produk radikal bebas senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan tidak reaktif bila dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan (Fessenden and Fessenden, 1986).

Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya terkait kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan, diantaranya adalah daun *Plantago major* L.

yang mengandung senyawa golongan flavonoid dan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan sebesar 41,08% (Hertiani *et al.*, 2000). Daun katuk yang mengandung senyawa golongan flavonoid dan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 80,81  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Zuhra *et al.*, 2008). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari fraksi uji kemungkinan diperankan oleh adanya senyawa flavonoid yang terkandung.

#### 4. KESIMPULAN

1. Fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) mempunyai aktivitas antioksidan.
2. Nilai  $IC_{50}$  fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak dan vitamin C masing-masing sebesar 3132  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan 1,35  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
3. Senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi kloroform ekstrak etanol daun sirsak adalah golongan flavonoid.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, O.N. and Markham, K.R., (2006), *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor & Francis Group, LLC, pp. 11.
- Baskar, R., Rayeswari, R., and Kumar, T.S., (2006), In Vitro Antioxidant Studies In Leave Of *Annona species*, *Indian Journal of Experimental Biology Vol. 45*, India, pp. 480-485.
- Blumenthal, R.D., (2005), *Chemosensitivity Volume I In Vitro Assays*, E-ISBN, America, pp. 75.
- Cholisoh, Z. and Utami, W., (2008), Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Etanol 70 % Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*), *Pharmacon*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, pp. 1, 9, 33-40.
- Fessenden, R.J., and Fessenden, J.S., (1986), *Kimia Organik*, Jilid I, Edisi III, Diterjemahkan oleh A.H. Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta, pp. 223-226, 238-240.
- Gunawan, D., and Mulyani, S., (2004), *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*, Jilid I, Cetakan I, Penebar Swadaya, Jakarta, pp. 12-13.
- Hertiani, T., Pramono, S., and Supardjan, A.M., (2000), Uji Daya Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun *Plantago major L.*, *Majalah Farmasi Indonesia 11*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Molyneux, P., (2004), The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, pp. 26, 211-219.
- Mursito, B., (2002), *Ramuan Tradisional Untuk Kesehatan Anak*, Penebar Swadaya, Jakarta, pp. 7.
- Purwatesna, E., (2012), Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim  $\alpha$ -glukosidase, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Seidel, V., (2006), Initial and Bulk Extraction, in Sarker, S. D., Latif, Z., Gray, A.I., (Eds), *Natural Products Isolations*, Second Edition, Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 35-36.
- Tapan, E., (2005), *Kanker, Antioksidan dan Terapi komplementer*, Gramedia, Jakarta, pp. 15-16.
- Van Steenis, C.G.G.J., (1981), *Flora, Untuk Sekolah Indonesia*, P.T. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Voight, R., (1994), Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, pp. 561.
- Wagner, H., (1984), *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer-Verlag, Berlin Hedelberg New York, pp. 22.
- Winarsi, H., (2007), *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta, pp. 12-15, 77-80,185.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., and Sihotang, H., (2008), Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauvagesia androgynus* (L) Merr.), *Journal Vol.3*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.