

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) DENGAN METODE 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) DAN UJI STABILITAS FORMULASI SEDIAAN KRIM

Elizabet Lilis Noviana Sitompul¹, Sutriningsih²

Fakultas Farmasi 17 Agustus 1945 Jakarta^{1,2}

vinnelaras@yahoo.co.id

ABSTRAK

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki elektron bebas tidak berpasangan sehingga tidak stabil. Radikal bebas dapat merusak berbagai sel makromolekul seperti protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat serta menjadi penyebab dari penuaan dini dan beberapa penyakit degeneratif. Antioksidan adalah senyawa yang mampu untuk menangkap radikal bebas, dimana senyawa ini akan menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas dan kemudian mengubahnya menjadi senyawa yang lebih stabil. Daun sirsak (*Annona muricata L.*) bermanfaat sebagai anti penuaan dini karena mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan. Untuk penentuan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Daun sirsak dikeringkan dan diserbukkan kemudian dimaserasi dengan etanol 96%, selanjutnya dilakukan skrining fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan (IC₅₀), formulasi krim dan pengujian stabilitas sediaan krim. Hasil antioksidan ekstrak etanol 96% daun sirsak sebesar 79,320 ppm. Antioksidan dari ekstrak etanol daun sirsak ini tergolong kuat. Kestabilan sediaan krim dipengaruhi oleh formulasinya. Pada penelitian ini dilakukan uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH dan uji viskositas selama 4 minggu. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa formula I lebih baik dari formula II dan formula III.

Kata kunci: *Annona muricata L.*, Antioksidan, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, Krim

ABSTRACT

Free radicals are compounds that have unpaired free electrons that are unstable. Free radicals can damage various cell of macromolecules including proteins, carbohydrates, fats and nucleic acids and become the cause of premature aging and as the cause of several degenerative diseases. Antioxidants are compounds that are able to capture free radicals, which compounds will donate one or more electrons to free radicals and then turn it into a more stable compound. Soursop leaf (*Annona muricata L.*) is useful as an anti aging because it has the content of flavonoid compounds that can act as antioxidants. For determination macromolecular macromolecular of antioxidant activity of soursop leaf extract was done by using DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) with UV-Vis spectrophotometer at 517 nm wavelength. Soursop leaves are dried and powdered and then macerated with 96% ethanol, further phytochemical screening, testing the antioxidant activity (IC₅₀) cream formulation and stability testing cream preparation. The result of 96% ethanol extract antioxidant of soursop leaves at 79.320 ppm. Antioxidants of ethanol extract of soursop leaves is quite strong. The stability of the cream preparations affected by the formulation. In this study, organoleptic test, homogeneity, pH and viscosity test for 4 weeks. The results showed that the formula I is better than Formula II and Formula III.

Keywords: *Annona muricata L.*, Antioxidant, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Cream.

PENDAHULUAN

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi mengakibatkan timbulnya efek samping berupa pencemaran dan dapat menimbulkan berbagai macam gangguan kesehatan (Romansyah, 2011).

Senyawa radikal bebas dari luar (eksternal), seperti : Asap rokok, makanan yang digoreng, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, pembuangan industri, kebakaran hutan dan radiasi komputer (Romansyah, 2011). Sumber radikal bebas dalam tubuh (internal) yaitu proses metabolisme seperti hidroksil (OH), peroksil (ROO), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksida nitrit (NO) (Siswono, 2005).

Radikal bebas adalah molekul yang orbital terluarnya mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, mempunyai sifat sangat tidak stabil dan reaktif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel seperti DNA, protein, lipid dan karbohidrat (Packer dan Cadenas, 2002). Tubuh manusia tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang cukup untuk menangkal paparan radikal yang berlebih, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh (Pham-Huy dkk., 2008; Sunarni dkk., 2007).

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) sebagai radikal bebas yang stabil. Metode aktivitas antiradikal bebas ini merupakan metode yang dipilih untuk menapis aktivitas antioksidan bahan alam (Molyneux, 2004; *et al*).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah *Annona muricata* L. atau yang lebih dikenal dengan nama daun sirsak (Baskar dkk., 2006). Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat menangkal radikal bebas sehingga dapat melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit (Winarsi, 2007).

Uji skrining daun sirsak (*Annona muricata* L.) menunjukkan hasil yang positif terhadap senyawa flavonoid (Purwatresna, 2012). Senyawa golongan flavonoid ini yang diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Zuhra dkk., 2008).

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut kedalam bahan dasar sesuai yang digunakan. Krim biasanya digunakan sebagai emolien pada kulit. Emulsi jenis minyak dalam air lebih disukai karena sifatnya yang mudah dibersihkan (Ansel, 2005).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Viskometer *brookfield*, kamera digital, pH meter, pipet mikro, spektrofotometer UV – Vis, penangas air, oven, lemari pendingin, neraca analitik, rotary evaporator, wadah krim, spatel dan alat – alat gelas.

Bahan

Daun sirsak, setil alkohol, parafin cair, asam stearat, gliserin, adepslanae, metil paraben (nipagin), propil paraben (nipasol), trietanolamin (TEA), air murni (aquadestilata), DPPH (2,2- *diphenyl-1-picrylhydrazyl*), asam askorbat (Vitamin C), etanol 96% dan pewangi *strawberry*.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 1000 gram simplisia kering daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang telah dihaluskan diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, diaduk dan dibiarkan didalam bejana maserasi selama 3×24 jam (remaserasi). Kemudian ditambahkan pelarut kembali sampai pelarut jernih dan disaring. Maserat etanol 96% yang diperoleh dipekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang kemudian dilanjutkan dalam penangas air pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes,2000).

Parameter Ekstrak dan Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak yang digunakan dalam pengujian parameter ekstrak yaitu uji organoleptis, rendemen, kadar air dan susut pengeringan serta uji skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, steroid, flavonoid dan tanin.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak

Pembuatan larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml etanol 96%. Larutan dikocok hingga homogen dan diperoleh DPPH dengan konsentrasi 40 ppm.

Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko dibuat dengan cara sebanyak 3 ml larutan DPPH dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 3 ml etanol 96%.

Pembuatan larutan induk vitamin C

Ditimbang 1 mg vitamin C, dilarutkan kedalam 10 ml etanol etanol 96% (100 ppm), kemudian dibuat larutan seri (2, 4, 6, 8 ppm).

Pembuatan larutan induk ekstrak daun sirsak

Ekstrak ditimbang 50 mg, dilarutkan kedalam 5 ml etanol etanol 96% (10.000 ppm). Kemudian dibuat larutan seri (1, 10, 100, 1.000 ppm).

Pengukuran absorbansi

Larutan blanko, ekstrak daun sirsak dan kontrol positif (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam keadaan gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian setelah nilai absorbansinya diperoleh, dihitung % inhibisi pada masing-masing larutan dihitung dengan menggunakan rumus (Hanani dkk.,2005). Setelah mendapatkan % aktivitas hambatan, kemudian dicari nilai

dicari nilai IC_{50} dari persamaan regresi linier dengan persamaan $y = a + bx$, dimana $y = 50$ dan nilai x menunjukkan nilai IC_{50} (Hanani dkk., 2005).

Formulasi Sediaan Krim dengan Modifikasi (Hamzah dkk., 2014).

Dalam formulasi krim, dibuat 3 variasi dalam konsentrasi ekstrak daun sirsak yaitu 0,5%, 1% dan 1,5%.

Tabel 1. Formulasi Krim Ekstrak Etanol 96% Daun Sirsak

Bahan	Formulasi Krim (100g)		
	F 1	F 2	F 3
Ekstrak daun sirsak	0,5%	1 %	1,5 %
Setil alcohol	2	2	2
Asam stearate	5	5	5
Propil paraben	0,5	0,5	0,5
Metil paraben	0,5	0,5	0,5
Parafin cair	1	1	1
Adeplanae	2	2	2
TEA	1	1	1
Gliserin	6	6	6
Pewangi <i>strawberry</i>	2 tetes	2 tetes	2 tetes
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Pembuatan Krim (Nursalam, H., dkk, 2014)

Alat dan bahan yang digunakan disiapkan, fase minyak dibuat dengan melebur setil alkohol, adeplanae, parafin cair, asam stearat dan propil paraben, kemudian dipertahankan pada suhu 70°C. Fase air dibuat dengan melarutkan metil paraben pada suhu 90°C lalu ditambahkan gliserin dan TEA kemudian dipertahankan pada suhu 70°C.

Krim dibuat dengan mencampurkan fase minyak kedalam fase air sambil diaduk selama 3 menit. Didiamkan selama 20 detik, lalu diaduk kembali sampai terbentuk krim yang homogen. Ekstrak etanol 96% daun sirsak ditambahkan kedalam krim sedikit demi sedikit kemudian ditetaskan pengaroma. Dimasukkan dalam wadah.

Pengamatan Organoleptis

Pengamatan sediaan krim dilakukan dengan mengamati dari segibau, warna dan tekstur krim (Sharom, *et al.*, 2013).

Pemeriksaan Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan menggunakan kaca objek. Sejumlah tertentu krim dioleskan pada kaca objek dan diamati adanya butiran kasar (Dirjen POM, 1979)

Pemeriksaan pH

Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter sebelum digunakan dikalibrasi menggunakan larutan buffer standar. Elektroda pH meter dicelupkan kedalam krim, angka pada pH meter dibiarkan bergerak sampai menunjukkan angka tetap, lalu dicatat hasilnya (Aswal, *et al.*, 2013).

Pengukuran Viskositas

Pemeriksaan viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer. Krim dimasukkan kedalam beaker glass, selanjutnya pasang spindel nomor 4. Spindel diturunkan hingga batas spindel tercelup kedalam krim, kemudian motor dinyalakan dengan menekan tombol *on*. Kecepatan alat diatur pada 0,3 rpm. Masing-masing pengukuran dengan perbedaan kecepatan rpm dibaca skalanya hingga jarum merah yang bergerak telah stabil.

Cycling Test

Sampel krim disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam kemudian dipindahkan pada suhu 40°C selama 24 jam (satu siklus), dibuat 6 siklus dan dilakukan pengamatan organoleptis (Raden, N., 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Parameter Ekstrak

Hasil pemeriksaan parameter ekstrak dapat dilihat dari tabel 2.

Tabel 2. Hasil Karakteristik Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L)

Parameter	Hasil Parameter
Organoleptis : Bentuk Warna Bau	Kental dan berminyak Hijau tua Khas daun sirsak
Berat ekstrak	106,4 g
Rendemen	10,64 %
Susut Pengeringan	10,813 %
Kadar air	9,361 %

Skrining Fitokimia Ekstrak

Dari tabel 3, ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa alkaloid, steroid, flavonoid dan tanin.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

No	Uji Fitokimia	Keterangan
1	Alkaloid	+
2	Steroid	+
3	Flavonoid	+
4	Tanin	+

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak dan Vitamin C

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% daun sirsak bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang ada pada ekstrak etanol 96% daun sirsak. Dalam pengujian ini vitamin C dipakai sebagai kontrol positif. Hasil absorbansi, % inhibisi dan IC₅₀ dapat dilihat pada tabel 4.

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang didapat dan nilai persentase inhibisinya akan semakin besar. Dapat diamati bahwa nilai IC₅₀ yang dimiliki oleh ekstrak etanol 96% daun sirsak (*Annona muricara* L.) maka nilai IC₅₀ ekstrak etanol 96% daun sirsak adalah 79,320 ppm dan nilai IC₅₀ vitamin c sebesar 1,202 ppm.

Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa aktivitas ekstrak etanol 96% daun sirsak lebih rendah dibandingkan vitamin C, namun ekstrak 96% daun sirsak ini tergolong antioksidan dengan aktivitas kuat. Berdasarkan standar nilai IC₅₀, suatu sampel yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ nya kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilainya 50-100 ppm, sedang apabila nilainya 101-150 ppm, dan lemah jika nilainya antara 151-200 ppm (Zuhra, *et al.* 2008).

Tabel 4. Hasil Absorbansi, % Inhibisi, IC₅₀ Ekstrak dan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak daun sirsak	1	39,411	79,320
	10	47,794	
	100	60,588	
	1000	71,764	
Vitamin C	2	61,470	1,202
	4	71,470	
	6	77,500	
	8	85,147	

Namun ada teori lain yang mengatakan bahwa suatu sampel mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm dan bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut bersifat kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Silalahi, 2010).

Hasil Pemeriksaan Viskositas

Hasil pengukuran viskositas krim pada formula I, II dan III menunjukkan bahwa semua krim memiliki viskositas yang tinggi. Hal ini terjadi karena ketiga formula dipengaruhi oleh bahan-bahan yang terdapat pada sediaan yang mempunyai konsistensi yang padat (Rahmanto, 2011). Perubahan viskositas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu penyimpanan, pengemasan sediaan krim, kondisi medium dispers, fase dispers, lingkungan, kecepatan penguraian dan juga emulgator (Awastika, Mufrod dan Purwanto, 2013).

Tabel 5. Hasil Pengamatan Viskositas Krim

Suhu	Waktu	Viskositas (cps)		
		F1	F2	F3
4°C	Minggu 0	210.000	230.000	260.000
	Minggu 1	200.000	230.000	270.000
	Minggu 2	210.000	220.000	270.000
	Minggu 3	230.000	230.000	290.000
	Minggu 4	230.000	230.000	280.000
25°C	Minggu 0	210.000	230.000	260.000
	Minggu 1	190.000	210.000	270.000
	Minggu 2	200.000	220.000	240.000
	Minggu 3	190.000	230.000	260.000
	Minggu 4	190.000	230.000	250.000
40°C	Minggu 0	210.000	230.000	260.000
	Minggu 1	170.000	190.000	220.000
	Minggu 2	160.000	190.000	190.000
	Minggu 3	170.000	180.000	170.000
	Minggu 4	160.000	170.000	180.000

Hasil Pemeriksaan pH

Hasil pengukuran pH krim pada masing- masing formula I, II dan III yang dilakukan selama 4 minggu pada suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi. Berdasarkan tabel 6, dapat dilihat bahwa nilai pH pada krim formula I, II dan III memasuki batas rentang pH yaitu antara 4,5-8 (SNI 16-4399-1996). Tingginya nilai pH pada formula dipengaruhi oleh bahan yang mempunyai sifat basa, dimana pada formula terdapat TEA yang memiliki sifat basa kuat (Rowe, dkk., 2009). Penyimpanan krim pada suhu yang berbeda menyebabkan pH sediaan krim juga berbeda-beda.

Tabel 6. Hasil Pengamatan pH Krim

Suhu	Waktu	pH		
		F1	F2	F3
4°C	Minggu 0	6,68	6,83	7,02
	Minggu 1	6,67	6,82	6,97
	Minggu 2	6,68	6,81	6,97
	Minggu 3	6,67	6,81	6,98
	Minggu 4	6,66	6,81	6,97
25°C	Minggu 0	6,68	6,83	7,02
	Minggu 1	6,71	6,83	7,03
	Minggu 2	6,71	6,82	7,04
	Minggu 3	6,71	6,83	7,05
	Minggu 4	6,73	6,82	7,04
40°C	Minggu 0	6,68	6,83	7,02
	Minggu 1	6,70	6,84	7,05
	Minggu 2	6,71	6,83	7,05
	Minggu 3	6,72	6,84	7,04
	Minggu 4	6,72	6,83	7,05

Hasil Pemeriksaan Organoleptis

Hasil pengamatan organoleptis ketiga jenis krim pada suhu penyimpanan yang berbeda yaitu pada suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi. Setelah dilakukan uji stabilitas selama 4 minggu, semua formula menunjukkan homogenitas yang baik, dibuktikan dengan tidak adanya granul-granul kasar pada kaca objek.

Hasil Pemeriksaan *Cycling Test*

Ketiga formula krim menunjukkan hasil yang stabil, dilihat dari krim formula I, II dan III tidak adanya pemisahan fase maupun perbedaan dengan kondisi awal. Pengamatan ini dilakukan setelah 6 siklus antara suhu 4°C dan suhu 40°C.

Hasil pengamatan *cycling test* dapat dilihat pada tabel 7. Dari tabel 7, menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan antara siklus awal dan siklus akhir, hal ini menunjukkan bahwa formula krim tersebut memiliki stabilitas yang baik.

Tabel 7. Hasil Pengamatan *Cycling Test* Krim

Sebelum (Siklus ke-0)					
Sediaan	Warna	Bau	Bentuk	Tekstur	Homogenitas
F1	Hijau	+	+	+	+
F2	Hijau	+	+	+	+
F3	Hijau	+	+	+	+
Sesudah (Siklus ke-6)					
Sediaan	Warna	Bau	Bentuk	Tekstur	Homogenitas
F1	Hijau	+	+	+	+
F2	Hijau	+	+	+	+
F3	Hijau	+	+	+	+

Keterangan

- | | | | |
|-----------|----------|---------------|-----------|
| + Bau | = khas | + Bentuk | = kental |
| + Tekstur | = lembut | + Homogenitas | = homogen |
| - Bentuk | = keras | | |

KESIMPULAN

Pengukuran aktioksidan ekstrak etanol 96% daun sirsak dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 79,320 ppm dan nilai IC_{50} vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 1,202 ppm. Ekstrak etanol 96% daun sirsak mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Ekstrak daun sirsak dapat diformulasikan menjadi sediaan krim tipe M/A dengan konsentrasi ekstrak 0,5% , 1% dan 1,5% yang memenuhi syarat kestabilan fisik berdasarkan parameter uji organoleptik, homogenitas, pH dan viskositas

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, O.N. and Markham, K.R., (2006), *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor & Francis Group, LLC, pp. 11.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi ketiga*. Depkes RI : Jakarta
- Ansel, H.C., 2008, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi Keempat*, Diterjemahkan oleh Faridah Ibrahim, Jakarta: Universitas Indonesia, 2008, 143, 380, 491, 493, 515.
- Buchman. 2011. *Main Cosmetic Vehicles*, in Barel, A.O., Paye,M., and Maibach,H.I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 145-167, New York: Marcel Dekker Inc.
- Badan POM, 2004, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- 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.
- Connor A. M., Luby, J. J., Hancock, J. F., Berkheimer, S., & Hanson, E. J., 2005. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold- temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50** : 893–898.
- Departemen Kesehatan RI. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan*. Jakarta : Depkes RI.2000, hal. 1-12.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2011. *Suplemen II Farmakope herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Universitas Indonesia, 2005.
- Depkes RI, 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1. Jilid II*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 303.
- Depkes RI, 2014, *Farmakope Indonesia Edisi kelima*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 46, 392.
- Ervina, M., I. S. Soediro dan S. Kusmardiyani, 2001, *Telaah Fitokimia Akar Lobak (Raphanus sativus L. Var, Hortensis Back.) sebagai Penangkap Radikal Bebas*, Thesis, Program Pendidikan S2 Program Studi Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Febriani D., Mulyanti D., Rismawati E., 2015, *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak*

Etanol Daun Sirsak (Annona Muricata Linn), Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba.

- Kandaswami, C and Middleton, E. 1997. *Flavonoids as antioxidant*, In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illions : AOCS Press.
- Kassim, J.M., Hussin, H.M., Achmad, A., Dahon, N. H., Suan, T.K. & Hamdan S. 2011. Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambir* extracts. *Majalah Farmasi Indonesia*. 22(1): 50-59.
- Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26 (2): 211-219.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories- Analytical Progress. Volume 19. Nomor 2. Hal 1-4.
- Raharjo, S, 2006, *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Rijke E, 2005, *Trace-Level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application Plants of The Leguminosae Family* [disetasi], Amsterdam: Universitas Amsterdam.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J. and Owen S. C., 2006, *Handbook of Pharmaceutical Exipients, Fifth Edition*, Pharmaceutical Press, UK, 48, 155, 301, 399, 466, 471, 629, 737, 794, 802.
- Sanjayasari, D. dan Pliliang W. G., 2011, *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr.) Terhadap Larva Udang Artemia salina: Potensi Fitofarmaka pada Ikan*, Berkala Perikanan Terubuk Vol. 39 No. 1: 91-100.
- Silalahi, R. M., 2010, *Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bunga Tumbuhan Brokoli (Brassica oleracea L. var. botrytis L.)*, Skripsi, FMIPA, USU.
- Tranggono, R.I., Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan kosmetik*. PT. Gramedia : Jakarta
- Voigt, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S. Yogyakarta: UGM Press., Hal 561; 567-569; 577.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. pp. 12-15, 77- 80, 185.

Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., and Sihotang, H., (2008), Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.), *Journal Vol.3*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.