

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI BERBAGAI FRAKSI ESKTRAK DAGING BUAH DAN KULIT BIJI MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*)

Vivi Lisdawati,* L. Broto S. Kardono**

Abstract

The antioxidant activity of various extracts from *P. macrocarpa*, fam. Thymelaeaceae, were investigated. The *in vitro* bioassay has been studied for screening antioxidant activity of chemical compounds from *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of mesocarp and seed from the plant. Non polar, semi polar and polar extracts are prepared of each plants part obtained, then evaluated by using spectrophotometry methods. This methods conducted by using α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) as the sources of free radical and BHA (butylated hydroxy anisole) as the positive control. The antioxidant activity of scavenging effects on α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl radical decreased in the order polar > semi polar > non polar extracts with values from 13– 90% at dose of 200 μ g.

Keywords: antioxidant activity, extracts of *P. macrocarpa*, Thymelaeaceae, scavenging effects, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl radical

Pendahuluan

Peranan oksigen aktif dan radikal bebas terhadap kerusakan jaringan pada tubuh manusia telah diketahui menempati porsi yang sangat besar, di mana keadaan ini nantinya dapat memicu timbulnya berbagai jenis penyakit terminal di dalam tubuh. Suatu senyawa radikal bebas dapat menyerang asam lemak tak jenuh pada biomembran hingga menyebabkan membran lemak mengalami peroksidasi dan dapat menurunkan fluiditas membran, tingkat aktivitas enzim dan reseptor, serta menimbulkan kerusakan protein membran yang akhirnya mengarah pada inaktivasi sel. Radikal bebas juga menyerang DNA dan menyebabkan mutasi yang mengarah ke kanker.^{1, 2}

Telah diketahui bahwa radikal bebas dapat terjadi akibat adanya proses oksidasi pada senyawa oksigen yang berada pada kondisi stabil (*ground level*) kemudian berubah menjadi senyawa aktif/tidak stabil (*superoxide* atau *hydroperoxide*). Senyawa oksigen aktif atau radikal bebas ini nantinya dapat merusak jaringan lain untuk memperoleh energi agar dapat kembali mencapai kondisi stabil. Berbagai faktor fisika dan kimia dapat menjadi pemicu keadaan tersebut, semisal: kehadiran logam-logam berat, asam lemak tak jenuh, pemanasan yang berlebihan atau

pun bahan pewarna, pengawet, dan cahaya dari sinar radiasi.²

Oksigen aktif dalam bentuk superoksida dan radikal bebas pada dasarnya merupakan produk sampingan yang normal dari proses metabolisme tubuh. Keadaan ini menjadi tidak normal bila terdapat dalam jumlah berlebihan yang akan memicu kehadiran sejumlah senyawa kimia lain yang bersifat karsinogenik. Percobaan yang dilakukan *Singa dkk.* pada tahun 1982 menunjukkan bahwa hidrogen peroksida dapat menyebabkan tumor pada kulit tikus percobaan. Berbagai penelitian terhadap kerusakan DNA polimerisasi manusia juga menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara radikal-radikal bebas dengan tingkat kerusakan molekul DNA. Jumlah kerusakan berkurang dengan penambahan logam pengkkelat, yang mengindikasikan bahwa kerusakan yang terjadi disebabkan oleh peroksida ataupun radikal hidroksil.³ Oleh karena itu penelitian terhadap berbagai senyawa yang dapat mengatasi kehadiran oksigen aktif dan radikal bebas menjadi semakin penting untuk dilakukan.

Senyawa anti oksidan dapat berupa senyawa alam maupun senyawa sintetis. Pada saat ini senyawa antioksidan sintetis sudah mulai ditinggalkan karena memiliki sifat karsinogenik dan antioksidan yang berasal dari alam mulai

*¹) Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang. Depkes

**²) Pusat Penelitian Kimia, Puspiptek LIPI – Serpong

memegang peranan penting. Senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alam banyak di-temukan di dalam kulit buah pada tumbuhan. Berbagai golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang dikenal sebagai sumber *radical scavenger* adalah golongan senyawa fenol, seperti: flavonol, flavonon, flavon, fenil propanoid, antrakuinon, ataupun lignan; senyawa-senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan antra-kuinon.^{4,5}

Penelitian awal terhadap tanaman mahkota dewa, *P. macrocarpa* (Scheff) Boerl., sinonim *P. papuana* Warb. Var. *Wichannii* (Val.) Back., suku *Thymelaeaceae*, mengidentifikasi golongan metabolit sekunder yang ada merupakan golongan alkaloid, terpenoid, saponin dan senyawa polifenol di dalam daun dan buah tanaman. Semua golongan metabolit yang ditemukan tersebut termasuk ke dalam golongan senyawa metabolit dengan aktivitas antioksidan.^{6,7} Isolasi pada bagian daging buah tanaman fraksi etil asetat memberikan hasil berupa senyawa asam lemak dan juga senyawa lignan dengan rumus molekul $C_{19}H_{20}O_6$ dan struktur molekul 5-[4(4-methoxyphenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c] furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol.⁷ Senyawa asam lemak dan senyawa lignan secara literatur termasuk ke dalam golongan senyawa dengan aktivitas antioksidan.⁵ Meskipun demikian, tanpa adanya acuan informasi ilmiah yang mendukung aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman maka penggunaan tanaman mahkota dewa sebagai suatu tanaman alternatif antioksidan tetap akan mengalami hambatan.

Senyawa sintesis anti oksidan yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini adalah BHA, yang telah umum digunakan sebagai stabilisator agen bagi sediaan farmasi dan kosmetika yang mengandung minyak, paraffin, polietilenglikol, maupun lemak. Berdasarkan hasil survei FDA tahun 1981, BHA telah digunakan sebesar 88% dari seluruh sediaan formulasi kosmetik yang beredar di Amerika, dan masih terus digunakan hingga saat ini. Tetapi berdasarkan penelitian, terbukti kemudian bahwa BHA juga memiliki efek karsinogenik terhadap hewan percobaan. Kelainan kulit pada sejumlah konsumen dari produk kosmetika yang menggunakan BHA sebagai pengawetnya juga telah ditemukan. Pada pemberian saat diet, BHA dapat menginduksi papiloma dan sel karsinoma pada lambung tikus jantan dan betina galur Syrian Golden. Sampai sejauh ini belum ada bukti nyata yang menunjukkan BHA bersifat karsinogenik

terhadap mencit pada pemberian topikal dan injek subcutan atau interperenial. Penelitian-penelitian ini menggambarkan bahwa hampir keseluruhan senyawa sintetik antioksidan rata-rata memberikan efek samping yang tidak diinginkan sebagai suatu senyawa karsinogenik.^{8,5,3} Oleh karenanya masih terus dilakukan upaya penelitian untuk memperoleh senyawa bahan alam yang dapat memberikan efek antioksidan tetapi tidak merupakan suatu senyawa karsinogenik.

Berdasarkan gambaran di atas yang menyangkut kenyataan bahwa masih dibutuhkan-nya senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan, maka kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak buah dan kulit biji mahkota dewa menggunakan pereaksi radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) yang stabil secara spektrofotometri, dilanjutkan dengan penentuan IC_{50} dari masing-masing ekstrak uji.

Penelitian bertujuan untuk menentukan fraksi ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling tinggi dari fraksi non polar, semi polar serta polar berdasarkan kemampuan larutan menangkap radikal bebas dan menurunkan intensitas warna DPPH. Penelitian dapat bermanfaat sebagai tambahan data ilmiah bagi aktivitas antioksidan tanaman mahkota dewa. Ekstrak kasar yang diuji merupakan ekstrak yang telah menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel leukemia *L1210*.⁷

Bahan dan Cara Kerja

Bahan

Ekstrak kasar *n*-heksan, etil asetat dan metanol hasil ekstraksi menggunakan metode fraksinasi dan isolasi bahan alam dari bagian daging buah dan kulit biji mahkota dewa, yang telah diuji aktivitas antikankernya.⁷ Buah tanaman dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi - LIPI, Bogor. Bahan kimia *α,α*-diphenyl-*β*-picrylhydrazyl diperoleh dari Sigma Chemical Co. (St. Louis MO).

Alat

Spektrofotometer UV-Vis. (Shimadzu) - 160A.

Cara kerja

Pembuatan Ekstrak

Daging buah dan kulit biji dikeringkan dengan cara diangin-angin lalu dihaluskan. Daging buah diiris tipis dan kulit biji ditumbuk kasar. Selanjutnya diekstraksi dengan cara perko-

lasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Masing-masing filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30 – 50°C. Ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dilanjutkan dengan uji penapisan fitokimia dan aktivitas antioksidan.

Uji Penapisan Fitokimia

Penapisan dilakukan terhadap masing-masing ekstrak kasar untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam setiap fraksi berdasarkan polaritas. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi mencakup golongan: alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin dan sterol-terpenoid, dengan menggunakan metode penapisan senyawa bahan alam.⁹

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode *Yen & Chen* untuk melihat intensitas pemudaran warna larutan DPPH secara spektrofotometri setelah ditambahkan ekstrak uji. Larutan ekstrak uji (8 – 200 µg/ml) dalam 4 ml air suling ditambahkan ke dalam larutan metanol DPPH (1 mm, 1 ml) sampai volume 5 ml. Campuran kemudian dihomogenkan menggunakan vortek dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbans larutan kemudian diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 515 nm menggunakan blanko. IC₅₀ dihitung dari % penghambatan serapan dari berbagai konsentrasi

ekstrak (8 – 200 µg/ml) menggunakan regresi linier.

Blanko berupa larutan standar BHA (8 – 200 µg/ml) yang ditambahkan larutan metanol DPPH (1 mm, 1 ml) sampai volume 5 ml. Blanko diperlakukan sama dengan ekstrak uji.

Hasil dan Pembahasan

Uji penapisan fitokimia terhadap ekstrak kasar daging buah dan kulit biji mahkota dewa dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan metanol menggunakan metode *Ciulei* menunjukkan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak uji seperti dapat dilihat pada Tabel 1.

Terlihat bahwa ekstrak kasar daging buah dan kulit biji fraksi etil asetat sama-sama mengandung alkaloid. Untuk senyawa flavonoid terdapat pada semua fraksi dari kedua bagian. Sedangkan untuk golongan fenol hanya dimiliki oleh fraksi etil asetat dan metanol pada bagian daging buah dan juga pada bagian kulit biji. Setelah diperoleh hasil penapisan fitokimia ekstrak, yang memperlihatkan terdapatnya golongan senyawa kimia yang bersifat antioksidan pada semua ekstrak uji, maka pengujian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan terhadap semua fraksi karena memiliki kemungkinan yang sama untuk bersifat anti oksidan.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Secara Metode *Ciulei* Terhadap Ekstrak Kasar Daging Buah dan Kulit Biji *P. macrocarpa* (Scheff) Boerl.

Ekstrak kasar	Ekstrak kasar DB fraksi <i>n</i> -heksan	Ekstrak kasar DB fraksi etil asetat	Ekstrak kasar DB fraksi metanol	Ekstrak kasar KB fraksi <i>n</i> -heksan	Ekstrak kasar KB fraksi etil asetat	Ekstrak kasar KB fraksi metanol
Uji Golongan						
Alkaloid	-	+	-	-	+	-
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Fenol	-	+	+	-	+	+
Saponin	+	-	+	+	-	-
Tanin	-	+	+	-	+	+
Sterol/terpenoid	+	+	-	-	-	-

Keterangan:

DB = daging buah mahkota dewa

KB = kulit biji mahkota dewa

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang diukur secara spektrofotometri

menggunakan senyawa BHA sebagai kontrol positif.¹⁰ Hasil dapat dilihat pada tabel 2 s/d tabel 4.

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan BHA Berdasarkan Nilai Absorbansi 0,001% DPPH Radikal

Sampel	C (µg/ml)	A	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
BHA	200	0,11	91,79	3,81
	40	0,15	88,68	
	8	1,00	25,96	

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Daging Buah Mahkota Dewa Berdasarkan Nilai Absorbansi 0,001% DPPH Radikal

Jenis Ekstrak	C (µg/ml)	A	Inhibisi (I) (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
n-heksan	200	1,29	4,88	2747,67
	40	1,32	2,29	
	8	1,33	1,33	
Etilasetat	200	0,42	69,23	136,79
	40	1,08	20,04	
	8	1,20	11,61	
Metanol	200	0,13	90,31	103,75
	40	1,04	22,78	
	8	1,21	10,50	

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Kulit Biji Mahkota Dewa Berdasarkan Nilai Absorbansi 0,001% DPPH Radikal

Jenis Ekstrak	C (µg/ml)	A	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
n-heksan	200	1,18	13,09	1144,10
	40	1,25	7,47	
	8	1,28	5,25	
Etilasetat	200	0,16	88,46	107,12
	40	1,04	22,86	
	8	1,24	8,21	
Metanol	200	0,15	88,76	94,89
	40	0,81	40,46	
	8	1,26	6,58	

Keterangan : C = konsentrasi larutan; A = Serapan larutan
 IC₅₀ = konsentrasi larutan ekstrak yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% intensitas serapan dibandingkan larutan blanko
 Serapan Blangko = 1,352

Penentuan IC_{50} dari masing-masing ekstrak bertujuan untuk memperoleh jumlah dosis ekstrak yang dapat menurunkan intensitas serapan atau penangkapan radikal bebas DPPH sebesar 50% dibandingkan dengan larutan blangko, dihitung secara regresi linier berdasarkan 3 titik konsentrasi (8,40 dan 200 $\mu\text{g/ml}$). Dari hasil interpolasi maka kemudian diperoleh nilai IC_{50} untuk masing-masing ekstrak. Untuk bagian *daging buah*: fraksi metanol memberikan nilai IC_{50} sebesar 103,75 $\mu\text{g/ml}$, fraksi etil asetat sebesar 136,79 $\mu\text{g/ml}$, dan fraksi *n*-heksan sebesar 2747,67 $\mu\text{g/ml}$. Untuk bagian *kulit biji*: fraksi metanol memberikan nilai IC_{50} sebesar 94,89 $\mu\text{g/ml}$, fraksi etil asetat sebesar 107,12 $\mu\text{g/ml}$, dan fraksi *n*-heksan sebesar 1144,10 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan nilai IC_{50} untuk BHA adalah sebesar 3,81 $\mu\text{g/ml}$.

Suatu senyawa dinyatakan *sangat aktif* sebagai suatu antioksidan bila IC_{50} yang dimiliki $\leq 100 \mu\text{g/ml}$, dinyatakan berpotensi *sedang* bila IC_{50} yang dimiliki 100 - 200 $\mu\text{g/ml}$, dan terakhir dinyatakan tidak aktif sebagai antioksidan bila IC_{50} yang dimiliki $> 200 \mu\text{g/ml}$. Mengacu pada batasan ini maka dapat dinyatakan bahwa fraksi polar dan semi polar *bagian daging buah* menunjukkan aktivitas antioksidan sedang. Untuk *bagian kulit biji*, fraksi polar termasuk ke dalam senyawa sangat aktif sebagai antioksidan sedangkan fraksi semi polarnya termasuk ke dalam senyawa dengan aktivitas antioksidan sedang.¹⁰

Nilai IC_{50} dari setiap fraksi bila dibandingkan dengan hasil penapisan fitokimia awal menunjukkan hasil yang signifikan, terutama untuk fraksi polar yang secara fitokimia diidentifikasi mengandung golongan fenol, flavonoid, dan saponin. Ketiga golongan senyawa ini memiliki gugus fungsi yang bersifat antioksidan dengan

tugas sebagai hidrogen donor dan menangkap gugus radikal bebas yang ada.

Tabel 2 s/d tabel 4 kemudian ditabulasikan untuk melihat aktivitas antioksidan bahan uji pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ berdasarkan intensitas penangkapan radikal bebas dari DPPH. Hasil tabulasi dapat dilihat pada Tabel 5.

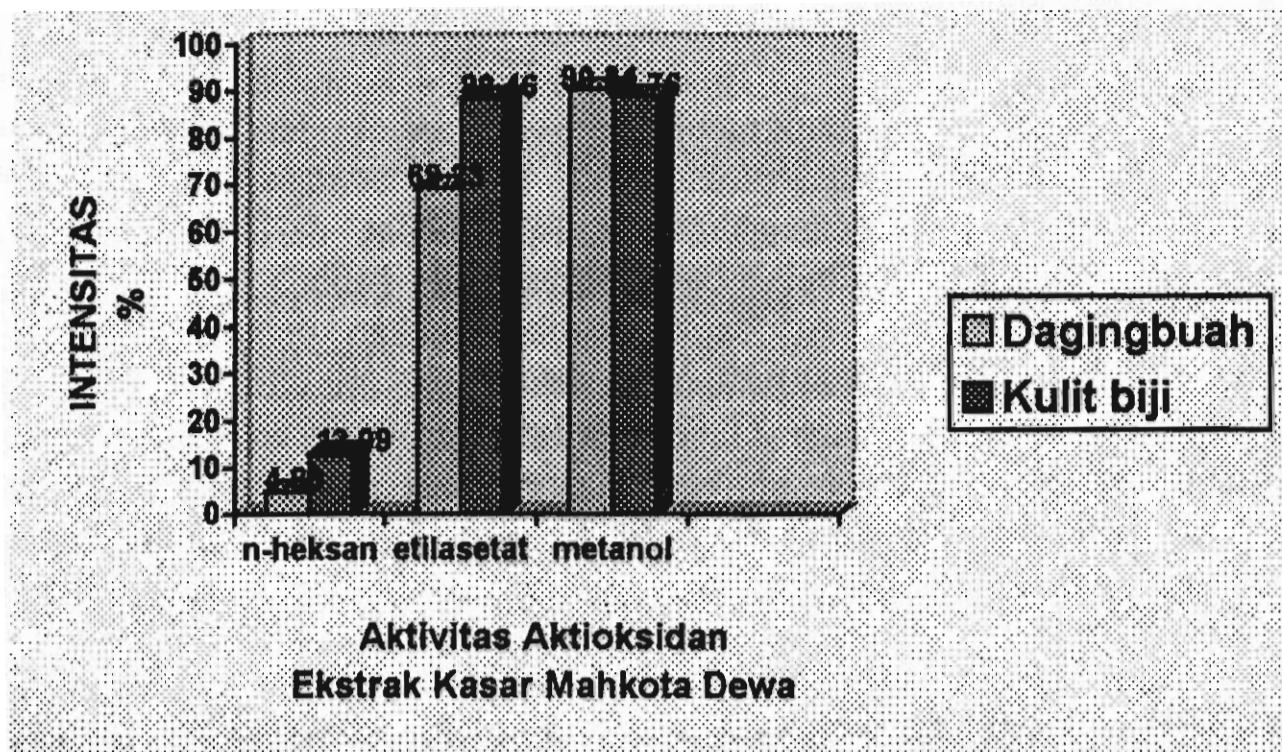
Tabel 5 menunjukkan persentase inhibisi atau persentase reduksi absorpsi DPPH dari ekstrak daging buah dan kulit biji tanaman mahkota dewa memberikan nilai terbesar pada fraksi polar dan bergerak turun ke arah non polar. Untuk bagian daging buah, nilai intensitas dari ekstrak metanol 90,31%, untuk ekstrak etil asetat 69,23, dan untuk ekstrak *n*-heksan 4,88%. Pada bagian kulit biji, nilai intensitas dari ekstrak metanol 88,76%, untuk ekstrak etil asetat 88,46%, sedangkan untuk ekstrak *n*-heksan 13,09%. Dari hasil yang diperoleh bila dibandingkan dengan harga intensitas senyawa antioksidan sintetik BHA sebagai kontrol sebesar 91,79%, maka intensitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak uji menunjukkan nilai yang cukup signifikan pada kondisi percobaan.

Intensitas penangkapan radikal bebas yang ditunjukkan oleh ekstrak mahkota dewa dapat dilihat pada gambar 1.

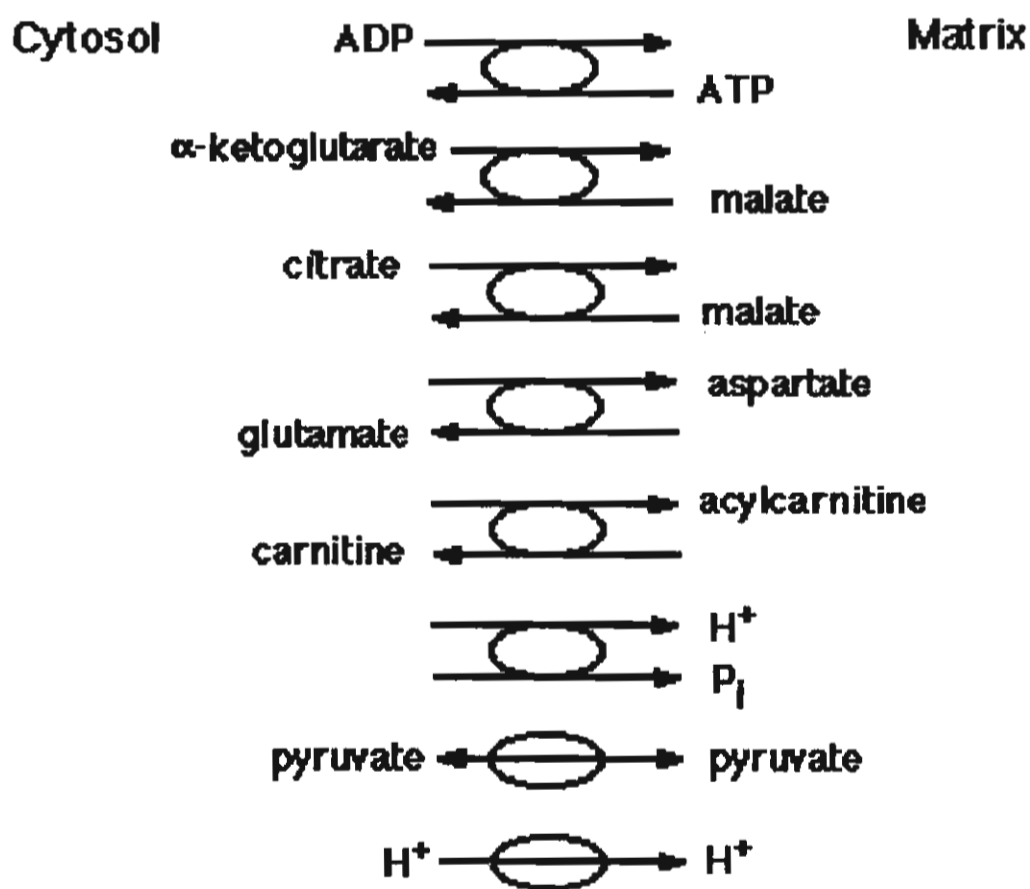
Penangkapan radikal bebas pada metode DPPH menggunakan prinsip kolorimetri, di mana pemudaran warna DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal bebas dengan menyediakan hidrogen donor yang akan membantu radikal bebas mencapai kondisi stabil. Hidrogen donor pada umumnya dimiliki oleh golongan senyawa fenol dan asam lemak, di mana diketahui bahwa kulit buah merupakan sumber dari *radical scavenges* di alam.⁵ Hidrogen donor dihasilkan metabolit sekunder melalui rangkaian mekanisme (Gambar 2).⁸

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa Berdasarkan Nilai Absorbansi 0.001% DPPH Radikal

	Ekstrak <i>n</i> -heksan DB (200 $\mu\text{g/ml}$)	Ekstrak etil asetat DB (200 $\mu\text{g/ml}$)	Ekstrak metanol DB (200 $\mu\text{g/ml}$)	Ekstrak <i>n</i> -heksan KB (200 $\mu\text{g/ml}$)	Ekstrak etil asetat KB (200 $\mu\text{g/ml}$)	Ekstrak metanol KB (200 $\mu\text{g/ml}$)	BHA (200 $\mu\text{g/ml}$)
Abs.	1,286	0,416	0,131	1,175	0,156	0,152	0,111
I (%)	4,88	69,23	90,31	13,09	88,46	88,76	91,79
IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	2747,67	136,79	103,75	1144,10	107,12	94,89	3,81



Gambar 1. Diagram Batang Yang Menunjukkan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Mahkota Dewa



Gambar 2. Mekanisme Hidrogen Donor Dihasilkan Metabolit Sekunder

Setelah tersedia hidrogen donor, maka radikal bebas dapat ditangkap dengan reaksi berikut:



Reaksi deaktivasi radikal bebas dengan membuat kondisi stabil amat dibutuhkan untuk mencegah berbagai mutasi yang dapat merusak kondisi normal sel. Bila hasil pada penelitian ini

dibandingkan dengan kandungan metabolit sekunder berdasarkan penapisan fitokimia dengan metode *Ciulei*, maka terlihat bahwa fraksi polar dan non polar memang terbukti memiliki golongan senyawa flavonoid dan fenol di dalam masing-masing fraksi. Seluruh golongan senyawa kimia tersebut sebagaimana telah dinyatakan di atas merupakan sumber senyawa alam antioksidan dan oleh karenanya membuktikan bahwa senyawa flavonoid dan fenol yang terdapat dalam tanaman

mahkota dewa berperan penting sebagai sumber senyawa bioaktif antioksidan. Perbedaan aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi yang ada menunjukkan perbedaan jenis senyawa metabolit sekunder dalam tanaman dan sekaligus menggambarkan prospek pemanfaatan masing-masing bagian dengan probabilitas yang lebih luas.

Bila dibandingkan dengan senyawa sintetik BHA yang pada percobaan ini digunakan sebagai kontrol positif, maka terlihat aktivitas antioksidan BHA menunjukkan intensitas yang lebih tinggi dibanding sampel uji. Aktivitas antioksidan ini terlihat tidak jauh berbeda dengan nilai IC_{50} yang ditunjukkan oleh fraksi polar dari bagian kulit biji. Hal mana yang memberi nilai lebih bagi penelitian karena seperti dinyatakan oleh literatur bahwa di samping manfaatnya sebagai suatu antioksidan, senyawa sintetik BHA juga merupakan suatu senyawa yang bersifat karsinogenik.

Kesimpulan

Penggunaan dosis ekstrak uji (fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol) sebesar 200 $\mu\text{g/ml}$ dapat menurunkan intensitas serapan atau penangkapan radikal bebas DPPH sebesar 90% pada konsisi percobaan. Ekstrak uji metanol dari daging buah memiliki nilai IC_{50} dengan aktivitas antioksidan *sangat aktif*, sementara untuk ekstrak uji dari fraksi lain memiliki aktivitas antioksidan *sedang*. Kesimpulan ini mendukung dugaan bahwa ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol dari mahkota dewa mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi dari fraksi metanol bagian daging buah dengan nilai IC_{50} sebesar 103,75 $\mu\text{g/ml}$.

Daftar Pustaka

1. Cooper, G.M. & R.E. Hausman, The Cell: A Molecular Approach, Sinauer Ass., Inc., Sunderland, Massachusetts, 2004, 640 – 633.
2. Fearon, E.R., Human Cancer Syndrome: Clues to the Origin and Nature of Cancer, Science, 1997, 278, 1050-1043.
3. Shrififar, F., N. Yassa, A. Shafiee, Anti-oxidant Activity of *Otostegia persica* (Labiatae) and its constituents, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2003, 239-235.
4. Cutler, S.J. & H. Cutler, Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals, CRC Press. A, Boca Raton, 2000, 13-1; 92-73.
5. Lu, Y. & L.Y. Foo, Antioxidant Activities of Polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*), Food Chemistry, 2001, 75: 202-197.
6. Gotama, I. dkk.. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid V., Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 1999, 147-148.
7. Lisdawati, V., L. Broto S.K, Sumali W., Bioasai invitro Antikanker Terhadap Sel Leukemia L1210 dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*P. macrocarpa*), Jurnal Bahan Alam Indonesia, Jakarta, 2006; 5(1), 303–309.
8. IARC, Catabolism of Fatty Acids, Biochemistry I Fall Term: Lecture 33, Assigned reading in Campbell, 2004, Chapter 18.5-18.1.
9. Ciulei, I., Methodology for Analysis of Vegetable Drugs, Chemical Industries Branch Division-Industrial Operation UNIDO, Buchaerest-Romania, 1984, 23-11.
10. Yen, G.C. & H.Y. Chen, Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity, J. Agric. Food Chem., 1995, 43: 32-27.