**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI BUAH *Areca vestiaria* Giseke DAN FRAKSINYA DENGAN METODE DPPH**

**Nur Candra Eka Setiawan , Hilda Amalia**

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

nur.candra.akfarpim@gmail.com

**Abstrak**

Senyawa antioksidan semakin luas penggunaannya seiring dengan berkembangnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degenerative serta penuaan dini. Biji buah pinang yaki (*Areca vestiaria* Giseke) mengandung banyak senyawa yang bersifat antioksidan dengan mekanisme pengkapan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak dan fraksi biji buah pinang yaki dan nilai IC50 dari aktivitas antioksidannya. Dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dipartisi menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol-air. Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air biji buah pinang yaki berturut-turut 17,11%, 10,82%, 18,16%, 52,78%. Skrining fitokimia flavonoid pada ekstrak etanol, etil asetat, fraksi etanol-air menunjukkan positif adanya senyawa flavonoid terhadap reagen Mg-HCl. Nilai IC50 ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi etanol-air berturut-turut 94,52 µg/ml, 445,72 µg/ml, 44,65 µg/ml, 91,4 µg/ml. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji buah pinang yaki dan fraksinya memiliki aktivitas antioksidan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 44,65 µg/ml.

Kata Kunci: Antioxidant*, Areca vestiaria Giseke*, DPPH.

***ABSTRACT***

*Antioxidant compound extends widely used to prevent degenerative desease and anti aging. The seed of Pinang yaki fruits contain some compounds reported to have antioxidant activity. The purposes of this research were to know the antioxidant activity of ethanolic extracts and fractions of the seed of pinang yaki fruits and the IC50 value of its antioxidant activity. The samples of the seed were prepared separately by soxhlet extraction method with ethanol 96% as the solvent. Then fractionation process used three different solvents are n-hexane, ethyl acetate, and ethanol-water. Futhermore, the calculation of yield, phytochemical screening, and test of antioxidant activity using DPPH method. Yield calculation result showed ethanolic extract, fraction of n-hexane, fraction of ethyl acetate, fraction of ethanol-water 17,11%, 10,82%, 18,16%, 52,78%. Phytochemical screening of Flavonoids ethanolic extract, fraction of ethyl acetate, fraction of ethanol-water showed positive contains Flavonoid. IC50 value of ethanolic extract, fraction of n-hexane, fraction of ethyl acetate, fraction of ethanol-water 94,52 µg/ml, 445,72 µg/ml, 44,65 µg/ml, 91,4 µg/ml. The conclusion of this research is extract of ethanol and the fraction of seed of pinang yaki fruits has the antioxidant activity. Fraction of ethyl acetate has the higher antioxidant activity 44,65 µg/ml.*

Key Words : , Antioxidant*, Areca vestiaria Giseke*, DPPH.

**PENDAHULUAN**

Penyakit degenerative adalah salah satu penyakit yang menjadi penyebab utama kematian secara global (WHO, 2010). Dari tahun ke tahun prevalensi penderita penyakit degenerative terus meningkat di dunia.

Penyakit degenerative umumnya terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak, protein, system kekebalan, dan DNA yang disebabkan oleh berbagai factor baik terjadi secara alami, terkena radiasi, atau oleh zat – zat kimia yang bersifat karsinogenik. Ada berbagai macam teori yang dapat menjelaskan penyebab penyakit degenerative. Salah satu teori yang dianggap cukup signifikan adalah teori reaksi radikal bebas. Kelebihan radikal bebas di dalam tubuh dapat memacu timbulnya berbagai macam penyakit degenerative dan kronis (Pham-Huy *et al.,*2008).

Radikal bebas adalah molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital atomnya. Radikal bebas ini berbahaya karena sangat reaktif mencari pasangan elektronnya untuk mencapai kestabilan (Winarsih, 2007). Radikal bebas yang merusak sel tubuh ini dapat dinetralisir dengan senyawa antioksidan (Iorio, 2007).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh dengan cara menyerahkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi molekul yang normal kembali dan menghentikan kerusakan yang ditimbulkan (Sasikumar *et al.,* 2009). Pada keadaan normal (saat istirahat) sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh dapat secara mudah mengatasi radikal bebas yang terbentuk (Capelli dan Cysewski, 2006). Namun, ketika produksi radikal bebas melebihi kemampuan pertahanan antioksidan maka akan terjadi kerusakan oksidatif dan menyebabkan menurunnya imunitas terhadap penyakit dan cidera. Oleh sebab itu dibutuhkan asupan vitamin sebagai zat antioksidan tambahan.

Zat antioksidan yang berasal dari tumbuhan banyak dikembangkan dan diteliti. Sumber antioksidan dari tumbuhan banyak berasal dari senyawa fenolik, terutama flavonoid(Khumar dan Pandey, 2013). Beberapa tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah daun kenari memiliki aktivitas antioksidan sebesar 63,2% (Lukmanto, 2015), kulit manggis memiliki aktivitas antioksidan 8,667 ppm (termasuk antioksidan kuat) ( Miryanti *et al*., 2011), buah bakum memiliki aktivitas antioksidan 318,621 ppm (Ridho, 2013).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Simbala, 2006 tanaman pinang Yaki memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, triterpenoid, tanin, hidrokuinon dan saponin. Penelitian yang dilakukan oleh Ismail *et al.,*  (2012) juga menyatakan bahwa total fenolik ekstrak biji buah pinang Yaki adalah 85,92 mg/kg sedangkan antioksidan sebesar 88,16%. Sehingga berdasarkan penelitian tersebut pinang yaki dapat digunakan sebagai antioksidan dan dapat digunakan sebagai alternative terapi penyakit degenerative. Oleh karena itu diperlukan penelitian lanjutan untuk uji aktivitas pada ekstrak buah biji pinang dan fraksinya sehingga dapat diketahui fraksi mana yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif karena penelitian ini bertujuan untuk menyajikan gambaran lengkap mengenai berapa besar aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji buah pinang yaki beserta fraksinya. Pengamatan ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu persiapan alat dan bahan, ekstraksi dengan metode sokhletasi, fraksinasi, dan uji antioksidan.

## Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat – alat gelas, neraca analitik, penangas air, pipet volum, sokhletasi, aluminum foil, kertas saring, kuvet, *rotary evaporator,* corong pisah dan spektrofotometer (UV–Vis).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah pinang yaki. Bahan kimia yang digunakan adalah etil asetat, n-heksana dan etanol 96% teknis yang telah diredistilasi, etanol p.a (*pro analysis)*, aquades, Wagner LP, Mayer LP, Dragendorf LP, besi (III) klorida, serbuk Mg, asam klorida, asam sulfat, alumunium klorida, vitamin C, dan DPPH.

**Tahap Penelitian**

**Ekstraksi dan Fraksinasi**

Sebanyak 100 g serbuk biji buah pinang yaki dimasukkan ke dalam selongsong soxhlet. Ditambahkan etanol 96% sampai bisa terjadi sirkulasi (400 ml). Proses ekstraksi dilakukan hingga menghasilkan cairan bening. Ekstrak yang didapat dievaporasi menggunakan *evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak pekat (Mokoginta, Eka Pratiwi, *et al*. 2013).

Hasil ekstrak kemudian difraksinasi dengan corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol-air, n-heksan, dan etil asetat dengan masing-masing perbandingan 1:1. Hasil fraksi kemudian dipekatkan dan dihitung rendemennya (Sarker *et al.,* 2006).

**Skrining Fitokimia**

**Uji Alkaloid.** Sampel dibasakan dengan kloroform berammonia, lalu disaring. Ditambahkan 0,5 – 1 ml asam sulfat 2 N pada hasil filtrate, dikocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan dibagi dalam 3 tabung reaksi. Masing – masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Kemudian diamati perubahan yang terjadi (Kristianti *et l*., 2008).

**Uji Flavonoid.** Sampel diekstraksi dengan pelarut n-heksana atau petrolatum eter sebanyak 15 ml, lalu disaring. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diekstraksi lebih lanjut menggunakan methanol atau etanol sebanyak 30 ml. 2 ml ekstrak methanol/etanol yang diperoleh dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0,5 HCl pekat dan 3-4 pita logam Mg. Adanya flavonoid dengan warna merah, orange dan hijau tergantung pada struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Kristianti *et l*., 2008)

**Uji Tanin.** Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dipanaskan di atas tangas air, kemudian disaring. Filtrate ditambahkan larutan besi (III) klorida 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan terjadinya endapan berwarna hijau (Kristianti *et l*., 2008).

**Uji Saponin.** Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Bila positif akan keluar busa/buih yang mantap selama 10 menit, setinggi 1 cm-10 cm. Jika ditambahkan 1 asam klorida 2 N, buih tidak hilang (MMI IV)

**Uji Steroid dan terpenoid.** Sampel diekstrak dengan pelarut n-heksana atau petroleum eter (kurang lebih 2 ml), kemudian disaring. Ekstrak yang diperoleh diambil sedikit dan dikeringkan diatas papan spot test, kemudian disaring. Ditambahkan 3 tetes anhidrida asetat ( Ac2O ) dan kemudian satu tetes asam sulfat pekat (H2SO4 pekat). Adanya senyawa golongan terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan adanya senyawa golongan steoroid ditandai dengan munculnya warna biru (Kristianti *et l*., 2008).

**Penentuan aktivitas antioksidan**

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode Molyneux (2004) dengan modifikasi. Dipipet 4 ml larutan DPPH 40 ppm ditambah dengan 1 ml masing – masing larutan uji ekstrak dan fraksi dengan 5 varian konsentrasi. Campuran didiamkan selama 30 menit yang telah diperoleh. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH 516 nm. Sebagai pembanding digunakan vitamin C dengan perlakukan yang sama dengan larutan uji.

Persen peredaman dihitung menggunakan rumus:

$\frac{Absorbansi kontrol-Absorbansi sampel}{Absorbansi kontrol}$ *x* 100%

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan y = bx + a dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (µg/ml) dan y adalah persentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC50) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

## Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode sokhletasi. Berdasarkan Mokoginta (2013) ekstraksi dengan metode sokhletasi memiliki rendemen yang tinggi akibat adanya pemanasan dan juga aktvitas penangkal radikal bebas yang tinggi dibandingkan dengan metode maserasi serta perkolasi.

Hasil ekstrak yang diperoleh yaitu ekstrak pekat berwarna kemerahan. Hasil ekstrak pekat kemudian difraksinasi dengan etanol-air,n-heksan, dan etil asetat. Hasil ekstrak dan fraksi dihitung rendemennya. Hasil perhitungan rendemen sebagai berikut:

Tabel 1. Data rendemen ekstrak dan fraksi biji buah pinang yaki

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Nama ekstrak/fraksi | Bobot (g) | Rendemen (%) |
| Ekstrak etanol 96% | 17,11 | 17,11 |
| Fraksi n-heksan | 1,42 | 10,82 |
| Fraksi etil asetat | 2,38 | 18,16 |
| Fraksi etanol-air | 6,93 | 52,78 |

Fraksi etil asetat menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan fraksi lainnya karena sifatnya yang semipolar menyebabkan senyawa yang sifatnya polar lebih terkonsentrasi pada fraksi tersebut.

## Skrining fitokimia

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder. Suatu ekstrak dari bahan alam terdiri atas berbagai macam metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologinya. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan metabolit sekunder (Harborne, 1987).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Serbuk, Ekstrak Etanol, serta Fraksi N-heksan, Etil Asetat, dan Fraksi Air Biji Buah Pinang Yaki.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Pereaksi | Sampel | Standar (warna) | Deteksi |
| S | E | N | EA | A |
| 1 | HCl + serbuk Mg | + | + | - | + | + | Perubahan warna | Flavonoid |
| 2 | Dragendorff | - | - | - | - | - | Endapan merah-jingga | Alkaloid |
| 3 | Mayer | - | - | - | - | - | Endapan putih kekuningan | Alkaloid |
| 4 | Wagner | - | - | - | - | - | Endapan cokelat | Alkaloid |
| 5 | Air panas+asam klorida 1 N | + | + | + | + | + | Terbentuk busa/buih | Saponin |
| 6 | Asam asetat anhidrat+H2SO4 pekat |  | - | + | - | - | Warna hijau | Steroid |
| 7 | Asam asetat anhidrat+H2SO4 pekat |  | + | - | + | + | Warna merah – cokelat | Terpenoid |
| 8 | Besi (III) klorida 1% | + | + | + | + | + | Endapan hijau kehitaman-biru hitam | Tanin |

Keretangan : (S) serbuk, (E) ektrak etanol, (N) fraksi n-heksan, (EA) fraksi etil asetat, (A) fraksi air.

**Uji Aktivitas Antioksidan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data penurunan absorbansi DPPH pada larutan uji yang dapat dihitung peredaman DPPH (% inhibisi). Semakin besar konsentrasi sampel maka semakin besar pula persen peredaman DPPH, seperti yang terlihat pada grafik berikut ini.

Gambar 1. Hubungan konsentrasi dan % peredaman DPPH sampel

Berdasarkan dengan Molyneux (2003) aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi biji buah pinang yaki dinyatakan dengan IC50 sebagai parameter karena menunjukkan nilai konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Menurut Ariyanto (2006) tingkat kekuatan antioksidan adalah sangat kuat (IC50 < 50 µg/ml), kuat (IC50 50-100 µg/ml), sedang (IC50 101-150 µg/ml), lemah (IC50 > 150 µg/ml).

Tabel 3. Nilai IC50 ekstrak dan fraksi biji buah pinang yaki

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Sampel | Persamaan Regresi | IC50 (µg/ml) |
| Vitamin C | y= 0,6317x + 27,177R2= 0,9996 | 36,13 |
| Fraksi etil asetat | y= 0,1337x + 44,301R2= 0,9949 | 42,62 |
| Fraksi air | y= 0,1052x + 40,343R2= 0,9877 | 91,77 |
| Ekstrak etanol | y= 0,0772x + 42,786 R2= 0,9808 | 93,44 |
| Fraksi n-heksan | y= 0,1269x – 6,7996R2= 0,9768 | 447,59 |

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat dimiliki oleh fraksi etil asetat. Bila keempat sampel tersebut dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C, vitamin C memiliki nilai IC50 yang paling kecil diantara keempat sampel tersebut.

Fraksi etil asetat memiliki IC50 44,65µg/ml sehingga tergolong antioksidan kuat. Dari data skrining fitokimia fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin. Sedangkan fraksi n-heksan positif terhadap saponin, tanin, dan steroid. Perbedaan kandungan senyawa pada kedua fraksi tersebut mempengaruh aktivitas antioksidan dan nilai IC50. Flavonoid dan terpenoid memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Heim, 2002;Grassmann, 2005). Tidak adanya kandungan flavonoid dan tepenoid sebagai sumber antioksidan kuat pada fraksi n-heksan sehingga mempengaruhi nilai IC50.

Aktivitas antioksidan sangat tergantung pada kehadiran gugus hidroksil dan juga jumlah serta konfigurasi gugus OH yang ada pada suatu molekul (Heim, 2002). Selain itu juga tergantung pada donasi atom hidrogen. Senyawa golongan terpenoid bekerja dengan cara donasi atom hidrogen sehingga menghambat terjadinya *lipid peroxidation* (LPO) yang berpotensi sebagai radikal bebas (Grassmann, 2005). Selain itu, adanya gugus hidroksil pada senyawa fenol dan flavonoid juga menimbulkan terjadinya aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan oleh atom oksigen pada gugus hidroksil mempunyai pasangan elektron bebas yang cukup untuk menghambat reaktifitas atom reaktif penyusun radikal bebas (Egwaikhide dan Gimba, 2007).

Semakin banyak gugus hidroksil dari suatu senyawa antioksidan akan menaikkan aktivitasnya sebagai antioksidan (Andrawulan, 1996). Senyawa golongan fenolik dan flavonoid memiliki lebih dari satu gugus hidroksil (polihidroksil) sehingga sangat baik dalam menetralkan suatu radikal bebas.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Ekstrak etanol biji buah pinang yaki beserta fraksinya memiliki aktivitas antioksidan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dan fraksi n-heksan terendah. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi etanol-air biji buah pinang yaki memiliki aktivitas antioksidan dengan IC50 berturut-turut 94,52 µg/ml, 445,72 µg/ml, 44,65 µg/ml, 91,4 µg/ml.

# DAFTAR PUSTAKA

Andrawulan, N., Wijaya H., Cahyono. 1996. ktivitas Antioksidan Dari Daun Sirih (Piper betle L.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol. 7(1):29-30.

Ariyanto, R. 2006. *Uji Aktivitas antioksidan, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Kloroform dan Fraksi Air Ekstrak Metanolik Pegagan (Centella asiatica* L. Urban). Skripsitidak diterbitkan. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Capelli, Bob & Gerald Cysewski. 2007. Natural Astaxanthin:King of The Carotenoids. Cyanotech: Cyanotech Corporation.

Egwaikhide, P.A & C.E. Gimba. 2007. Analysis of the Phytochemical Content and Antimicrobial Avtivity of *Plectranthus glandulosis* whole Plant. *Middle-East Journal of Scientific Research* Vol. 2 (3-4):135-138

Heim, K.E., *et al*.,. 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationship. *Journal of Nutrional Biochemistry* Vol. 13:572-584

Grassmann, Johanna. 2005. Terpenoid As Plant Antioxidant. *Vitamin and Hormones* Vol 72.

Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Terjemahan oleh Padmawinata, K., Soediro, I. Bandung: ITB Press.

Iorio, E.L. 2007. The Measurement of Oxidative Stress. International Observatory of Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidant Systems. Special supplement to Bulletin.

Ismail, Jefriyanto., Max RJ Runtuwene., & Feti Fatimah. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca Vestiaria Giseke)*. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol. 12 (2): 84-88

Kristianti, Alfinda Novi, *et al*. 2008. *Buku Ajar: Fitokimia*. Surabaya: Airlangga Univercity Press.

Lukmanto. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Kenari (canarium indicum L.)*. Skripsi tidak diterbitkan. Jember: Universitas Jember

Miryanti, *et al*. 2011. Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis. Bandung:Universitas Katolik Parahyangan.

Mokoginta, Eka Pratiwi, *et al*. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (Areca vestiaria Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 2 (24): 109-113.

Molyneux, P. 2003. The Use Of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* Vol. 26 (2): 211-219.

Pham-Huy, L.A., He, H., & Pham Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science.* Vol. 4 (2): 89-99

Pietta, P.G. 2000. Flavonoids and Antioxidant. *J. Nat. Prod.* Vol 63: 1035-1042.

Ridho, Ery Al. 2013. *Uji Aktivitas Antioksida Ekstrak Metanol Buah Bakum (Cayratia trifolia) dengan Metode DPPH.* Skripsi diterbitkan. Pontianak:Universitas Tanjungpura.

Sarker, D., Latif Z., Gray, I., & Alexander. 2006. *Natural Product Isolation.* New Jersey: Humana Press.

Sasikumar, J.M. 2009. Antioxidant Activity and HPTLC Analysis of *Pandanus odoratissimus* L. Root. *European Journal of Biological Sciences*.Vol 1 (2): 17-22.

Sasikumar, J.M. 2009. In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Extracs of *Berberis tinctoria* Lesch. Root and Root Bark. *Journal of Herbal and Toxicology* Vol.3 (2):53-58.

Simbala, Herry Emma Inonta. 2006. *Keanekaragaman Floristik dan Pemanfaatannya sebagai Tumbuhan Obat di Kawasan Konservasi II Taman Nasional Bogani Nani Wartabone (Kabupaten Bolaang Mongondow Sulawesi Utara)*. Disertasi tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Tiwari, P., *et al*.,. 2011. Pythochemical Screening and Extraction: A Review. *Int. Pharma. Sci* Vol. 1: 1-9

Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisus.