

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN, BUAH DAN BIJI PARE (*Momordica charantina* L)

Riana Septiningsih, Sutanto, Dwi Indriani *Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan Email: rianaseptiningsih@yahoo.com*

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah pertumbuhan kanker. Salah satu tanaman yang diduga dapat mengobati kanker adalah pare (*Momordica charantina* L). Masyarakat telah menggunakan pare sebagai makanan sehari-hari dan juga telah lama dipercaya sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol buah, daun, dan biji pare. Buah, daun dan biji pare diekstraksi dengan etanol 70% dan dipekatkan hingga didapatkan ekstrak kental. Pengujian aktifitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dan vitamin C sebagai kontrolnya. Hasil pengujian antioksidan pada vitamin C didapatkan nilai IC_{50} sebesar 2,844 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian aktifitas antioksidan dari ekstrak etanol buah, daun, dan biji pare menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut tidak memiliki aktifitas sebagai antioksidan. Suatu senyawa dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila nilai $IC_{50} < 100$ ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, Pare (*Momordica charantina* L), DPPH.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Momordica charantina* L. LEAVE, FRUIT AND SEED ETHANOL EXTRACTS

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit and prevent the growth of cancer. One plant that can treat cancer is suspected bitter melon (*Momordica charantina* L). People have used bitter melon as a daily food and also has long been trusted as a traditional medicine to treat various diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanolic extract of fruits, leaves, and seeds of bitter melon. Fruits, leaves, and seeds of bitter melon is extracted in ethanol at 70% and the extract obtained was concentrated to a more viscous. Use of antioxidant activity in this study using the immersion method against free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), and vitamin C as a controls. Results of testing the antioxidant vitamin C obtained IC_{50} value amounted to 2,884 $\mu\text{g/mL}$. Results of testing the antioxidant activity of ethanol extracts fruits, leaves, and seeds of bitter melon extract showed that the three of it did not have antioxidant activity. A compound said to be active as an antioxidant if values of $IC_{50} < 100$ ppm.

Key Words : Antioxydant. *Momordica charantina* L. DPPH

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit dimana terjadi pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, cepat, dan tidak terkendali. Bila pertumbuhan ini tidak cepat dihentikan dan diobati maka sel kanker akan berkembang terus (Dalimartha, 2002). Salah satu pemicu terjadinya kanker adalah radikal bebas yang menimbulkan reaksi berantai dan menyebabkan kerusakan hingga kematian sel. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah pertumbuhan kanker. Antioksidan dapat diperoleh dari tumbuhan, antioksidan yang diperoleh dari tumbuhan yaitu asam fenolat, flavonoid, kumarin, tokoferol, alkaloid, terpenoid, dan tanin yang banyak tersebar pada bagian-bagian tanaman (Cahyadi, 2009). Adanya senyawa antioksidan dalam tanaman membuat tanaman memiliki potensi sebagai obat anti kanker. Salah satu tanaman yang diduga dapat mengobati kanker adalah pare (*Momordica charantia* L). Buah pare mudah sekali di temukan dan hampir berada di seluruh Indonesia. Masyarakat telah menggunakan buah pare sebagai makanan sehari-hari dan juga telah lama di percaya sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Kandungan buah pare yang berkhasiat dalam pengobatan adalah saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid, triterpenoid, momordisin, glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirrat, asam palmitat, asam linoleat, dan asam stearat (Sundari, *et al.*, 2007).

Pengujian aktifitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dan vitamin C sebagai kontrolnya. Penentuan aktifitas antioksidan ini digunakan dengan berbagai konsentrasi ekstrak untuk mengetahui nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi senyawa antioksidan yang

diperlukan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50% (Chow *et.al.*, 2003).

METODELOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Simplisia daun, buah, dan biji pare, Spektrofotometer UV-VIS, moisture balance, etanol 70%, metanol, aquabides, vitamin C, HCl 10%, HCl 1%, HCl pekat, amonia encer, kloroform, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, FeCl₃, pereaksi Lieberman Burchard, 1,1-difenil-2-pikhdrazil (DPPH).

Cara Kerja

Penelitian meliputi penyiapan simplisia, uji karakteristik simplisia, penetapan kadar air simplisia, penetapan kadar abu simplisia, uji fitokimia simplisia, pembuatan ekstrak etanol, penetapan kadar air ekstrak, penetapan kadar abu ekstrak, uji fitokimia ekstrak, uji aktivitas antioksidan ekstrak terhadap radikal bebas (DPPH) secara spektrofotometri UV-VIS dengan penentuan nilai IC₅₀.

Penyiapan simplisia: Daun, buah dan biji pare yang telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, dibersihkan dari pengotor, dikeringkan, lalu digiling.

Uji Organoleptik: Uji karakteristik simplisia meliputi uji organoleptik yaitu, bentuk, warna, bau, dan rasa terhadap serbuk simplisia buah, daun, serta biji pare.

Penetapan Kadar Air: Penetapan kadar simplisia dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*.

Penetapan Kadar Abu Simplisia: Lebih kurang 2 gram sampai 3 gram simplisia yang telah digerus dimasukan ke dalam

kurs silikat lalu pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis.

Uji Fitokimia Simplisia: Merupakan uji pendahuluan senyawa apa saja yang terdapat pada suatu tanaman. Uji fitokimia ini berdasarkan identifikasi warna dan endapan yang terbentuk, uji fitokimia yang dilakukan yaitu meliputi alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan flavonoid.

- ✓ Senyawa Alkaloid : Sebanyak 100 mg simplisia ditambahkan 1 ml HCl pekat dan 9 ml H₂O. Campuran dipanaskan di atas penangas air, didinginkan dan disaring kemudian campuran di bagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan pereaksi dragendroff, wagner, dan mayer. Uji positif untuk alkaloid dengan terbentuknya endapan jingga (Dragendroff), endapan putih (Mayer), endapan coklat (Wagner).
- ✓ Senyawa Saponin : Sebanyak 100 mg simplisia lalu diencerkan dengan air, kemudian dikocok kuat selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.
- ✓ Senyawa Tanin: 100 mg simplisia diencerkan dengan air dan larutan tersebut ditambahkan pereaksi FeCl₃. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin.
- ✓ Senyawa Steroid: 100 mg simplisia ditambahkan dietil eter kemudian saring, filtrat ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard (3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄). Terbentuknya warna merah atau cincin hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau triterpenoid.

- ✓ Senyawa Flavonoid: 100 mg simplisia ditambah 100 ml air kemudian dididihkan dan disaring. Kedalam filtrat ditambahkan serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat, ditambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga dalam larutan amilalkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

Pembuatan Ekstrak Etanol: Pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode maserasi yaitu dengan merendam masing-masing serbuk simplisia buah, daun, dan biji pare kedalam etanol 70% dengan perbandingan simplisia : etanol (1:10) sampai tersari atau terekstraksi sempurna yang ditandai dengan warna larutan tidak berubah lagi dan dipekatkan dengan rotary evaporator.

Penetapan Kadar air Ekstrak: Penetapan kadar ekstrak dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*.

Penetapan Kadar Abu Ekstrak: Lebih kurang 2 sampai 3 gram ekstrak, dimasukan ke dalam kurs silikat lalu pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan timbang. Hitung kadar abu yang telah dikeringkan di udara. (penentuan dilakukan duplo).

Uji Fitokimia Ekstrak: Uji ini merupakan uji pendahuluan senyawa apa saja yang terdapat pada suatu tanaman setelah dilakukan ekstraksi. Uji fitokimia ini berdasarkan identifikasi warna dan endapan yang terbentuk, uji fitokimia yang dilakukan yaitu meliputi alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan flavonoid.

- a. Senyawa Alkaloid : Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan 1 ml HCl pekat dan 9 ml H₂O. Campuran dipanaskan di atas penangas air, didinginkan dan

- di saring kemudian campuran di bagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan pereaksi dragendroff, wagner, dan mayer. Uji positif untuk alkaloid dengan terbentuknya endapan jingga (Dragendroff), endapan putih (Mayer), endapan coklat (Wagner).
- Senyawa Saponin : Sebanyak 100 mg ekstrak lalu diencerkan dengan air, kemudian dikocok kuat selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.
 - Senyawa Tanin : 100 mg ekstrak diencerkan dengan air dan larutan tersebut ditambahkan pereaksi FeCl_3 . Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin.
 - Senyawa Steroid: 100 mg ekstrak ditambahkan dietil eter kemudian saring, filtrat ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard (3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4). Terbentuknya warna merah atau cincin hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau triterpenoid.
 - Senyawa Flavonoid: 100 mg ekstrak di tambah 100 ml air kemudian dididihkan dan disaring. Kedalam filtrat ditambahkan serbuk magnesium dan 1ml HCl pekat ditambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga dalam larutan amilalkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.
- Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak:*
Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kental daun, buah dan biji pare terhadap radikal bebas (DPPH) dan vitamin C sebagai kontrolnya.
- Pembuatan Larutan DPPH 1mM: Ditimbang seksama 19,716 mg DPPH (BM 394,32) dilarutkan dalam metanol sampai 50 ml dalam botol gelap.
 - Penentuan Panjang Gelombang Maksimum: 1 ml larutan DPPH 1 mM ditambahkan metanol dalam labu ukur 5 ml dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C . Serapannya diukur pada panjang gelombang 480 nm sampai dengan 560 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.
 - Penentuan Waktu Inkubasi Optimum: 1 ml larutan DPPH 1 mM ditambahkan metanol dalam labu ukur 5 ml sampai tanda batas dan dihomogenkan. Serapan diukur dengan panjang gelombang maksimum pada menit ke 10, 20, 30, 40, 50, dan 60, lalu ditentukan waktu optimum (waktu inkubasi yang memberikan serapan cukup stabil).
 - Persiapan Larutan Blanko: 1 ml larutan DPPH 1 mM ke dalam labu takar 5 ml, lalu tambahkan metanol p.a dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum.
 - Pembuatan Deret Standar Vitamin C (Kontrol Positif): 50 mg vitamin C dilarutkan dalam metanol didalam labu ukur sampai 50 ml, diperoleh konsentrasi 1000 ppm (larutan induk). Dibuat deret konsentrasi larutan standar vitamin C dengan konsentrasi 0 ppm, 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, dan 12 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml ditambahkan 1 ml DPPH dan metanol p.a sampai tanda tera. Dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C .
 - Persiapan Larutan Uji: Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dilarutkan dengan metanol sampai tanda tera dan didapatkan larutan uji 1000 ppm (larutan induk).

Dibuat seri konsentrasi 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 30 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, ditambahkan 1 ml DPPH 1 mM dan metanol p.a sampai tanda tera, dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu 37°C.

- g. Uji Antioksidan dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH): Larutan vitamin C, larutan blanko, dan larutan uji yang telah diinkubasi diukur serapannya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang yang telah ditentukan.
- h. Perhitungan Nilai % IC₅₀: IC₅₀ diperoleh dari perpotongan garis antara 50% inhibisi dengan sumbu konsentrasi, dengan persamaan non linear $y = ax^2 + bx + c$ dan nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus
$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$
 dimana y = 50 dan x = menunjukkan IC₅₀. IC₅₀ adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil(DPPH).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji karakteristik simplisia secara organoleptik, buah pare berwarna putih kecoklatan, berbau khas dan rasanya pahit. Daun pare berwarna hijau berbau lemah dan rasanya pahit, sedangkan biji pare berwarna kuning kecoklatan berbau khas dan rasanya pahit. Kadar air pada buah sebesar 8,74%, sedangkan kadar air simplisia daun pare sebesar 8,86% dan biji pare adalah sebesar 9,27%. Hasil ini menunjukkan kandungan air yang kecil membuat jamur serta mikroorganisme sulit tumbuh sehingga simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Nilai kadar abu yang diperoleh untuk simplisia buah adalah sebesar 10,856%, nilai kadar abu pada daun sebesar 25,965% dan kadar abu pada biji sebesar 4,297%. Besarnya kadar abu yang didapat

menunjukkan besarnya kandungan anorganik atau zat pengotor pada simplisia.

Hasil pengujian fitokimia pada simplisia buah pare memberikan hasil positif terhadap senyawa alkaloid, saponin, steroid, flavonoid, dan negatif terhadap tanin. Pengujian fitokimia simplisia daun memberikan hasil positif terhadap senyawa alkaloid, saponin, steroid, tanin, dan negatif terhadap flavonoid. Pengujian fitokimia simplisia biji pare memberikan hasil positif terhadap alkaloid, saponin, steroid, dan negatif terhadap tanin dan flavonoid.

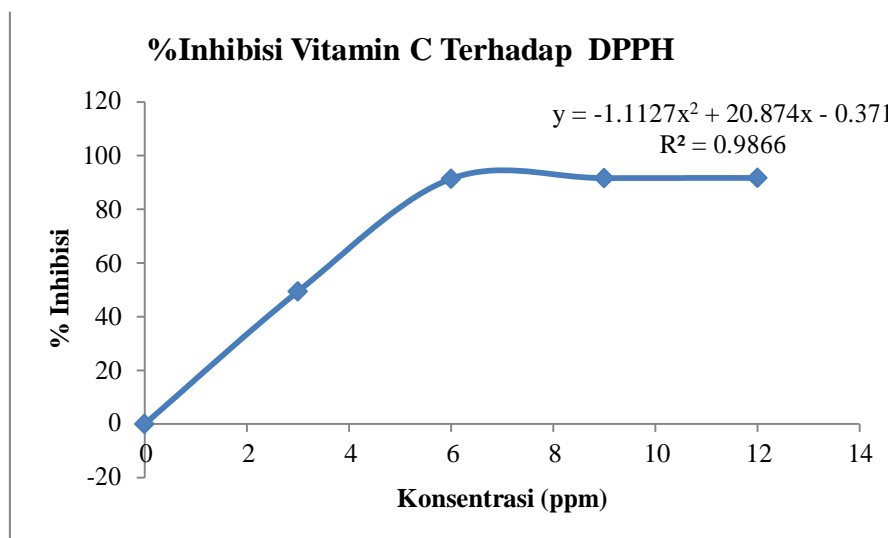
Ekstrak kental buah pare yang didapat berwarna kuning kecoklatan sebesar 63,8 g, ekstrak kental daun pare berwarna hijau kehitaman sebesar 29,6 g, untuk ekstrak kental biji pare berwarna kecoklatan sebesar 49,2 g. Kadar air ekstrak buah pare didapatkan nilai 3,01%, nilai kadar air pada ekstrak daun pare adalah 7,14% dan nilai kadar air pada ekstrak biji pare sebesar 3,36%. Penentuan kadar abu berguna untuk memberikan gambaran kandungan mineral. Nilai kadar abu ekstrak buah pare adalah 10,552%, sedangkan pada ekstrak daun pare adalah sebesar 15,749%, dan ekstrak biji pare adalah sebesar 9,398%. Hasil ini dapat diartikan bahwa pada ekstrak buah, dan daun pare mengandung bahan anorganik atau pengotor dengan jumlah yang cukup besar. Penentuan uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak buah, daun, dan biji pare. Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak, pada ekstrak buah tidak ditemukan adanya tanin, pada uji fitokimia ekstrak daun tidak ditemukan tanin dan flavonoid, sedangkan uji fitokimia ekstrak biji diketahui tidak adanya senyawa tanin, flavonoid dan steroid. Adanya beberapa perubahan kandungan hasil uji fitokimia simplisia dengan ekstrak mungkin dikarenakan

kandungan senyawa tersebut tidak besar dan senyawa tersebut tidak tertarik secara sempurna oleh pelarut sehingga pada uji fitokimia ekstrak senyawa-senyawa tersebut tidak ditemukan pada ekstrak buah, daun, dan biji pare.

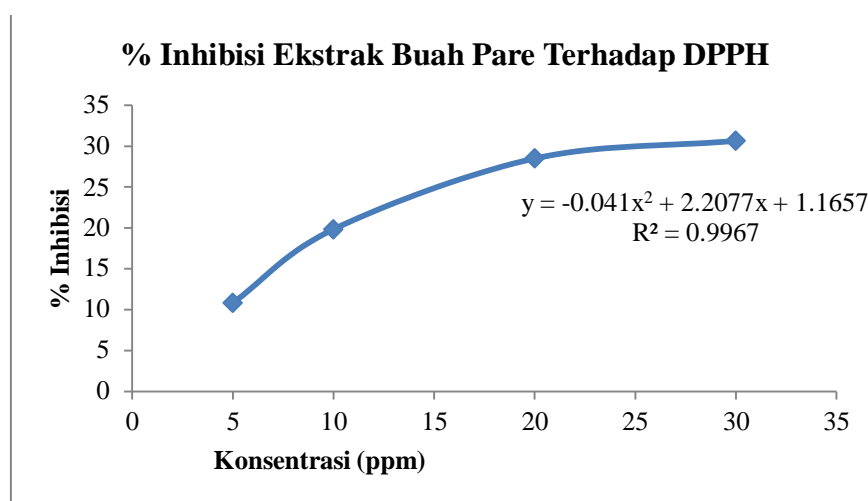
Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol buah, daun, dan biji pare bertujuan untuk mengetahui aktif tidaknya ekstrak etanol buah, daun dan biji pare sebagai antioksidan yang berperan untuk melindungi tubuh dari radikal bebas. Penentuan panjang gelombang dilakukan untuk mengetahui nilai panjang gelombang yang memiliki serapan maksimum sedangkan waktu inkubasi optimum merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi reaksi pada DPPH sebagai larutan blanko. Hasil pengujian nilai serapan untuk DPPH cukup stabil pada panjang gelombang 514 nm dan waktu 40 menit.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan penentuan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi senyawa antioksidan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50%. Harga IC_{50} digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan metode peredaman radikal bebas dimana radikal bebas akan beraksi dengan ekstrak tanaman yang mengandung antioksidan yang dapat ditentukan secara spektrofotometri cahaya tampak berdasarkan perubahan warna yang terjadi. Prinsipnya adalah pengukuran

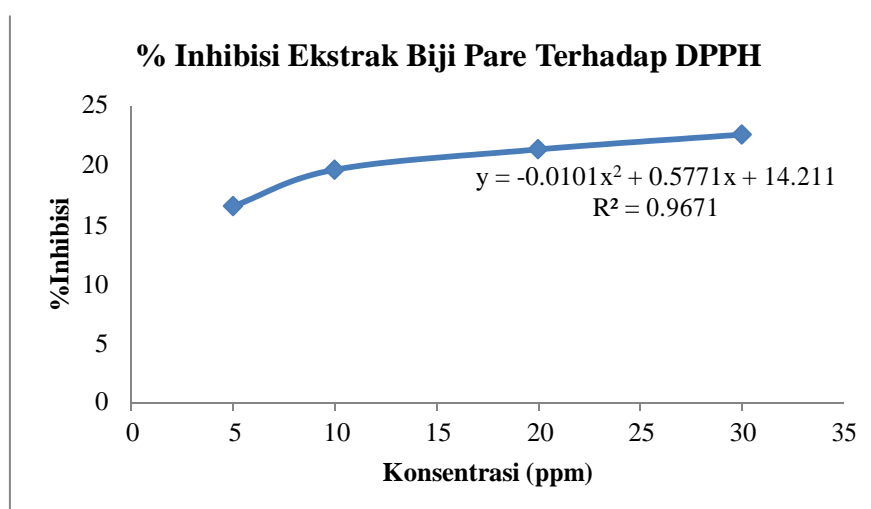
besarnya serapan perubahan warna DPPH (% hambatan) dari warna ungu menjadi kuning yang menunjukkan bahwa radikal bebas bereaksi dengan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman melalui pemberian hidrogen dari antioksidan menjadi bentuk yang lebih stabil. Untuk menentukan nilai IC_{50} diperoleh dari perpotongan garis antara 50% daya hambat (inhibisi) dengan sumbu konsentrasi, dengan persamaan non linear $y = ax^2 + bx + c$ dimana $y = 50$ dan $x =$ menunjukkan IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} vitamin C adalah 2,844 $\mu\text{g/mL}$ dan 17,706 $\mu\text{g/mL}$, dan menunjukkan bahwa vitamin C aktif sebagai antioksidan. Berdasarkan grafik yang didapat dari hasil persamaan garis antara % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah, daun maupun biji pare tidak memiliki aktivitas sebagai antioksidan, karena dari persamaan garis yang terlihat pada grafik untuk mencapai %inhibisi senilai 50% konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan sebesar >100 ppm. Suatu senyawa dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila nilai $IC_{50} < 100$ ppm. Hasil ini sesuai dengan hasil uji fitokimia yang didapat pada ekstrak buah, daun, dan biji pare, yaitu tidak ditemukannya senyawa tanin dan flavonoid yang merupakan senyawa antioksidan.



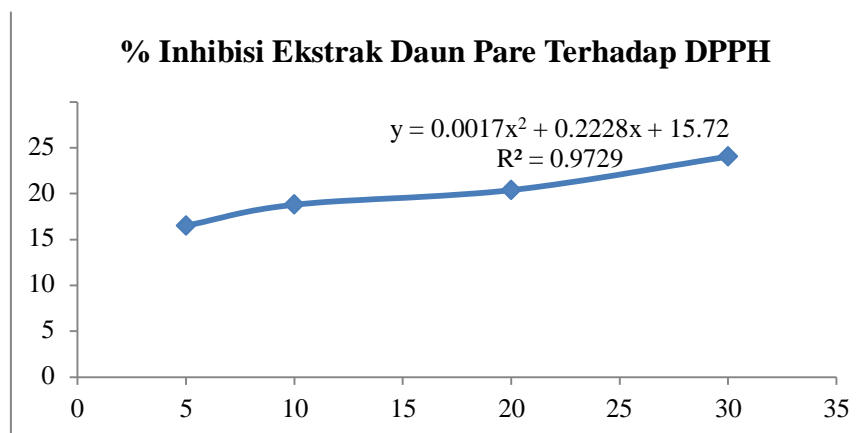
Gambar 1. Grafik % Inhibisi Vitamin C Terhadap DPPH



Gambar 2. Grafik % Inhibisi Ekstrak Buah Pare Terhadap DPPH



Gambar 3. Grafik % Inhibisi Ekstrak Biji Pare Terhadap DPPH



Gambar 4. Grafik % Inhibisi Ekstrak Daun Pare Terhadap DPPH

SIMPULAN

Ekstrak etanol buah, daun dan biji pare (*Momordica charantina* L) tidak aktif sebagai antioksidan karena memiliki nilai $IC_{50} > 100$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV. Penerjemah Farida Ibrahim. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Cahyadi, R. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica charantina L) Terhadap Larva Artemia Salina leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/8089>
- Chow, S.T., Chao, W.W., Chung, Y.C. 2003. Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanolic Red Bean Extract (*Phaseolus raditus* L. Var Aurea). *Journal of Food science*. 68 (1): 21-25.
- Dalimartha, Setiawan. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Dep Kes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1979. *Farmakope Indonesia edisi III*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1995. *Informasi Simplisia Asing*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1977. *Tanaman Obat Indonesia*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- _____. 1985. *Sediaan Galenik*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- Halliwell, B., J.M.C. Guteridge. 1991. *Free Radical in Biology and Medicine*. Claderon Pres. Oxford
- Hernani, M. Rahardjo. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta

- Kumulaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami*. Trubus Agrisarana. Surabaya
- Molyneux, philip. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl-1-phenicryl-1 hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxydany Activity*. Songklanakarin J.Sci. Techno. Vol. 26(2):211-219.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwel. 2003. *Biokimia Harper*. Ed 25. Penerjemah Andry Hartono. EGC. Jakarta.
- Schuler, P.1990. *Natural Antioxidant Exploited Commercially*. Food Antioxydant Elsevier Applied Science. London. Hal: 91-95.
- Subarnas, A. 2001. *Komponen Aktif Antioksidan dalam Bahan Alam*. Makalah disajikan dalam Seminar dan Lokakarya Pemahaman Konsep Radikal Bebas dan Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kesehatan Menuju Indonesia Sehat 2010. Pusat Penelitian Universitas Padjajaran. Bandung.
- Sundari S, Daya. Kosasih Padmawijaya. Komar Ruslan. 2007. *Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Daging Buah Pare*. Sekolah Farmasi Institut Teknik Bandung. Bandung. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>
- Widjaya, A. 1996. *Radikal Bebas dan parameter Status Antioksidan*. Forum Diagnosticum. 4: 1-6.
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakatra
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Pottensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Zakaria, F.R, B. Irawan, S.M. Pramudya, dan Sanjaya. 1996. *Peranan Zat-zat Gizi dalam Sistem Kekebalan Tubuh. Dalam: Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 7(3):75-81.