

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL 2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) OLEH EKSTRAK METANOL PAPRIKA MERAH (*Capsicum annuum*, L.)

ACTIVITY OF 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL RADICAL SCAVENGING (DPPH) BY METHANOLIC EXTRACT OF RED PAPRIKA (*Capsicum annuum*, L.)

Warsi, Any Guntarti

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Email : warsisuryatmoko@yahoo.co.id

ABSTRAK

Paprika merah (*Capsicum annum* L.) banyak mengandung β -karoten (provitamin A), likopen, vitamin E serta vitamin C telah diuji aktivitasnya sebagai penangkap radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Sampel diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh dilakukan analisis aktivitas antioksidannya secara kualitatif dengan larutan DPPH 0,4 mM dan reagen ferri tiosianat. Identifikasi terhadap senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak metanol paprika merah ditetapkan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Dari hasil analisis diperoleh nilai IC_{50} paprika merah sebesar $0,299 \pm 4,98 \times 10^{-3}$ mg/mL. Aktivitas paprika merah sebagai penangkap radikal DPPH kurang poten dibandingkan dengan β -karoten (IC_{50} $0,066 \pm 3,24 \times 10^{-3}$ mg/mL).

Kata kunci : antioksidan, paprika merah, *Capsicum annuum*, DPPH

ABSTRACT

Red paprika (Capsicum annum L.) fruit containing β -carotene, lycopene, vitamin E and vitamin C, has been evaluated for its capability to scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The sample was extracted with maceration using methanol. The crude extract was analyzed for its antioxidant activity with 0.4 mM DPPH and ferric thiocyanate reagent qualitatively. Identification of compounds that potential as an antioxidant done with UV-Vis spectrophotometer. The DPPH radical scavenging activity of methanolic extract of red paprika was determined by spectrophotometric at wavelength of 517 nm. The result of this

analysis obtained IC_{50} value of red paprika was 0.2992 ± 0.00498 mg/mL. The activity of red paprika as DPPH radical scavenger was less potent than of β -carotene.

Keywords : antioxidant, red paprika, *Capsicum annuum*, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas ialah atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan; karena jumlah elektron ganjil, maka tidak semua elektron dapat berpasangan. Suatu radikal bebas tidak bermuatan positif atau negatif, namun spesi semacam ini sangat reaktif, karena adanya elektron yang tidak berpasangan tersebut. Suatu radikal bebas biasanya dijumpai sebagai zat antara yang tidak dapat diisolasi dalam usia pendek dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS), yang meliputi : radikal hidroksi, radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, oksigen, radikal nitrit oksida, radikal hipoklorida dan lipid peroksida. Radikal bebas tersebut dapat menyerang sel tubuh dan menyebabkan kehilangan struktur dan fungsinya (Percival, 1998).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menstabilkan atau mendeaktivasi radikal bebas sebelum menyerang sel (Percival, 1998). Suatu senyawa dikatakan memiliki sifat antioksidan apabila mampu mendonasikan satu atau lebih elektron kepada senyawa prooksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil (Winarsi, 2005).

Antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan, serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Tubuh memerlukan antioksidan untuk melindungi sel dari serangan spesies oksigen reaktif. Antioksidan dapat berupa enzim antioksidan (antioksidan primer), diantaranya ialah: superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase dan glutation reduktase. Antioksidan ini berperan sebagai pertahanan dari serangan

stres oksidatif. Enzim SOD, dalam sistem antioksidan ini, akan mengkatalisis reaksi dismutasi radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 . Enzim glutathion peroksidase dan glutathion reduktase akan mengubah senyawa oksidator H_2O_2 menjadi H_2O (Dalimartha dan Soediby, 1999). Antioksidan primer juga dapat berupa logam yang terikat protein, diantaranya yaitu: ferritin, laktoferrin, albumin serta seruloplasmin yang mengikat ion besi dan ion tembaga. Antioksidan tersebut mampu mengkatalisis reaksi oksidasi (Percival, 1998).

Namun demikian dengan antioksidan primer saja tidak cukup kuat untuk menetralkan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh, sehingga diperlukan asupan senyawa antioksidan dari luar (antioksidan sekunder). Antioksidan sekunder tersebut akan merangsang respon ion tubuh sehingga mampu menghancurkan radikal bebas, mempertahankan kelenturan pembuluh darah, mempertahankan besarnya jaringan otak, dan mencegah kanker (Dalimartha dan Mooryati, 1999).

Penelitian tentang aktivitas antioksidan dari buah telah banyak dilakukan. Regina., dkk. (2008) telah melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan likopen yang terkandung dalam ekstrak metanol buah tomat dengan metode penangkap radikal DPPH. Hasil penelitian tersebut dilaporkan bahwa ekstrak metanol buah tomat mempunyai daya antioksidan kuat. Penelitian lain dilakukan oleh Warsi dan Guntarti (2013), yang telah meneliti daya antioksidan paprika hijau. Penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa paprika hijau mempunyai potensi antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $0,340 \pm 1,41 \times 10^{-2}$ mg/mL. DPPH digunakan sebagai model radikal bebas, karena senyawa tersebut stabil. DPPH merupakan senyawa yang mengandung gugus dengan elektron tidak berpasangan (Sharma dan Bhat, 2009).

Buah paprika mengandung banyak senyawa antioksidan dan vitamin C. Kandungan vitamin C sebesar 150–250 mg/100 g. Kandungan vitamin C dari paprika merah dua kali lebih banyak daripada paprika hijau. Buah paprika juga mengandung vitamin A, K, B6, asam folat dan zat besi (Anonim, 2015). Hasil penelitian, paprika merah mengandung 34 karotenoid. Kandungan karotenoid total dalam paprika merah sebesar 1,3 g/100 bahan kering, terdiri-dari: 37 %

kapsantin, 8 % zeasantin, 7 % kukurbitasantin, 3,2 % kapsorubin dan 9 % β -karoten (Deli *et al.*, 2001). Kapsantin dan kapsorubin tersebut aktif sebagai antioksidan yang diukur dengan metode penangkap radikal linoleat (Matsufuji *et al.*, 1998).

Aktivitas antioksidan paprika merah telah banyak diteliti, diantaranya oleh Tundis *et al.* (2013) yang telah menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol paprika merah dengan metode penangkapan radikal DPPH dan *β -carotene bleaching test*. Penelitian lain telah menguji aktivitas antioksidan buah paprika merah dengan metode penangkapan radikal superoksida (Materska *et al.*, 2015). Kim *et al.* (2016) telah menguji aktivitas antioksidan ekstrak aseton paprika merah dengan metode reduksi *reactive oxygen species* (ROS) intraseluler pada sel WB-F344.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah paprika merah dengan metode penangkapan radikal DPPH. Metanol merupakan pelarut yang semi polar, sehingga diharapkan semua senyawa dapat tersari secara sempurna, baik yang bersifat polar maupun non polar.

METODE PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah paprika (*Capsicum annum* L.) varietas merah. Buah paprika diperoleh dari supermarket 'Indogrosir' Jalan Magelang, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Buah yang digunakan untuk penelitian yaitu buah yang sudah tua. Bahan-bahan lain yang digunakan ialah: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (E Merck, Darmstadt, Jerman), metanol (E Merck), β -karoten (Sigma-Aldrich, Milano, Italy), aquadest, natrium sulfat anhidrat (E Merck), ferri klorida (E Merck) serta ammonium tiosianat (E Merck). Semua bahan kimia dan pelarut yang digunakan berderajat pro analis.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : spektrofotometer UV-Vis (Pharmaspec 1700, SHIMADZU), rotary evaporator, ultrasonifikasi, vortex, timbangan analitik, mikropipet, blender, vial, tabung reaksi, aluminium foil dan cawan penguap

Jalannya Penelitian

Buah paprika merah diambil 3 biji; dihilangkan dari tangkai dan bijinya, dicuci sampai bersih, dikeringkan tapak–tapak airnya, kemudian diblender. Buah yang sudah halus ditimbang 200 gram dan dimaserasi dengan 200 mL metanol. Campuran diaduk selama 2 jam, kemudian didiamkan selama 4 hari dalam wadah tertutup rapat, tiap hari pelarutnya diganti. Filtrat dikumpulkan dan dikeringkan dengan ditambahkan 8 g natrium sulfat anhidrat. Selanjutnya, filtrat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*, ekstrak yang diperoleh ditimbang.

Skrining senyawa antioksidan secara kualitatif

1. Analisis dilakukan dengan pereaksi DPPH, sebanyak 0,6 mL larutan DPPH 0,4 mM direaksikan dengan 2,5 mL larutan sampel 0,1 %. Daya antioksidan ditandai dengan berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH. Larutan β -karoten digunakan sebagai pembanding dan 0,6 mL larutan DPPH 0,4 mM dalam 2 mL metanol sebagai kontrol negatif.
2. Analisis berikutnya dengan reagen ferri tiosianat, sebanyak 0,1 mL larutan FeCl_3 0,5 % ditambahkan 0,5 mL larutan NH_4SCN 1 % direaksikan dengan 2 mL sampel 0,1 %. Daya antioksidan ditandai dengan berkurangnya intensitas warna merah dari larutan ferri tiosianat. Larutan β -karoten digunakan sebagai pembanding. Sebagai kontrol negatif digunakan 0,6 mL larutan ferri tiosianat dalam 2 mL metanol.
3. Identifikasi terhadap senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dilakukan dengan spektrofotometer UV–Vis. Ekstrak paprika merah dibuat konsentrasi 1 mg/mL dalam metanol. Larutan β -karoten 0,09 mg/mL dalam metanol digunakan sebagai pembanding. Larutan di-*scan* pada λ 200–550 nm. Panjang gelombang serapan maksimum kemudian dibandingkan dengan standar.

Uji aktivitas penangkapan radikal DPPH

1. Penyiapan larutan DPPH

Ditimbang sebanyak 9,8 mg DPPH, dilarutkannya dalam metanol hingga volumenya 25,0 mL. Larutan diambil 10 mL dan ditambahkan metanol hingga

volumenya 25,0 mL; sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,4 mM (Molyneux, 2004).

2. Penentuan aktivitas antioksidan

Ekstrak paprika merah dibuat larutan dalam metanol dengan konsentrasi 0,08; 0,16; 0,24; 0,32; 0,40; 0,48; dan 0,56 mg/ mL. Masing–masing konsentrasi larutan tersebut dipipet sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan 0,6 mL larutan DPPH 0,4 mM. Campuran dihomogenkan dan didiamkan ditempat gelap selama 90 menit. Serapan larutan sampel diukur dengan spektrofotometer UV–Vis pada λ maksimum 515,6 nm. Larutan β –karoten digunakan sebagai pembanding, dengan konsentrasi 0,01; 0,02; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09 dan 0,11 mg/ mL. Blangko dalam penelitian ini ialah masing–masing seri larutan sampel dan standar diambil 2,5 mL kemudian ditambahkan 0,6 mL metanol p.a.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dengan besarnya % inhibisi terhadap DPPH seperti terlihat pada persamaan 1. Selanjutnya, dibuat persamaan regresi linear hubungan konsentrasi sampel versus % inhibisi, yaitu $y = bx + a$. Data yang diperoleh kemudian dibuat grafik hubungan konsentrasi sampel versus % inhibisi. Persamaan tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} (*inhibition Concentration 50 %*), dengan memasukkan angka 50 ke sumbu y pada persamaan yang telah diperoleh. IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin besar potensi senyawa tersebut sebagai penangkap radikal DPPH.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Nilai IC_{50} yang diperoleh kemudian dilakukan analisis secara statistika menggunakan SPSS 12. Analisis yang pertama ialah uji Kolmogorov–Smirnov serta uji Levene, berturut–turut untuk mengetahui normalitas dan homogenitasnya. Selanjutnya, data dianalisis dengan uji Mann Whitney.

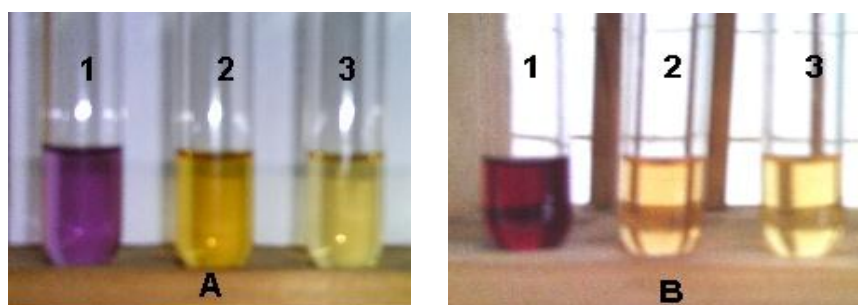
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi terhadap senyawa aktif antioksidan dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1 : 1. Metanol merupakan pelarut semi polar, sehingga diharapkan semua senyawa yang terkandung dalam buah paprika merah dapat tersari secara sempurna, baik yang bersifat polar maupun non polar. Adapun rendemen hasil ekstraksi buah paprika segar tersaji pada Tabel I.

Tabel I. Rendemen hasil ekstraksi paprika merah

Berat Simplisia Basah (g)	Hasil Ekstrak (g)	Rendemen (%)
200	15,85	7,93

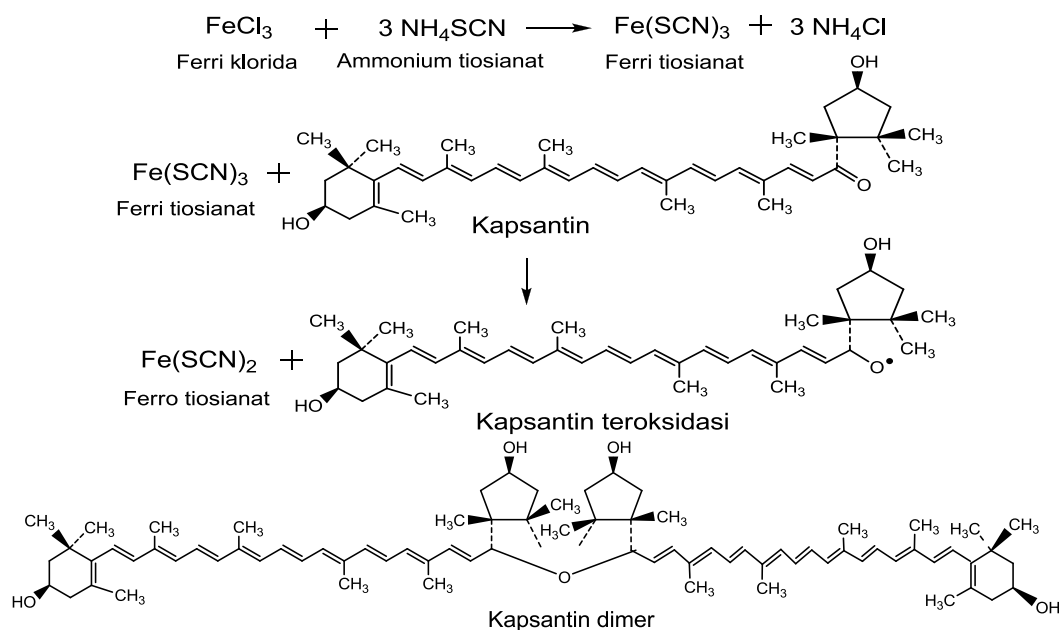
Analisis terhadap senyawa antioksidan dilakukan dengan pereaksi DPPH 0,4 mM. Hasil analisis dengan larutan DPPH diperoleh hasil bahwa ekstrak metanol paprika merah mempunyai daya antioksidan, ditandai dengan hilangnya warna ungu dari larutan (Gambar 1A).



Gambar 1. Hasil skrining senyawa antioksidan dengan DPPH (A), reagen ferri tiosianat (B): 1. kontrol negatif, 2. β -karoten, 3. paprika merah

Analisis senyawa antioksidan berikutnya ialah dengan pereaksi ferri-tiosianat. Hasil analisis dengan larutan ferri-tiosianat dihasilkan bahwa kompleks ferri-tiosianat direduksi oleh sampel. Daya reduksi ini dapat diketahui dari hilangnya warna merah gelap dari kompleks ferri-tiosianat (Gambar 1B). Senyawa kompleks ferri-tiosianat dihasilkan dari reaksi antara ferri klorida dengan ammonium tiosianat. Mekanisme reaksi pada pengujian ini dapat digambarkan mengikuti pola mekanisme daya reduksi N-asetil-L-sistein terhadap

Fe^{3+} (Kukoc-Modun dan Radić, 2011). Karotenoid (kapsantin), dalam mekanisme ini, mereduksi Fe^{3+} dari kompleks ferri tiosianat menjadi Fe^{2+} yaitu kompleks ferro tiosianat. Kapsantin sebagai reduktor mengalami oksidasi, kemudian membentuk dimer. Reaksi selengkapnya sebagaimana yang tersaji pada Gambar 2.

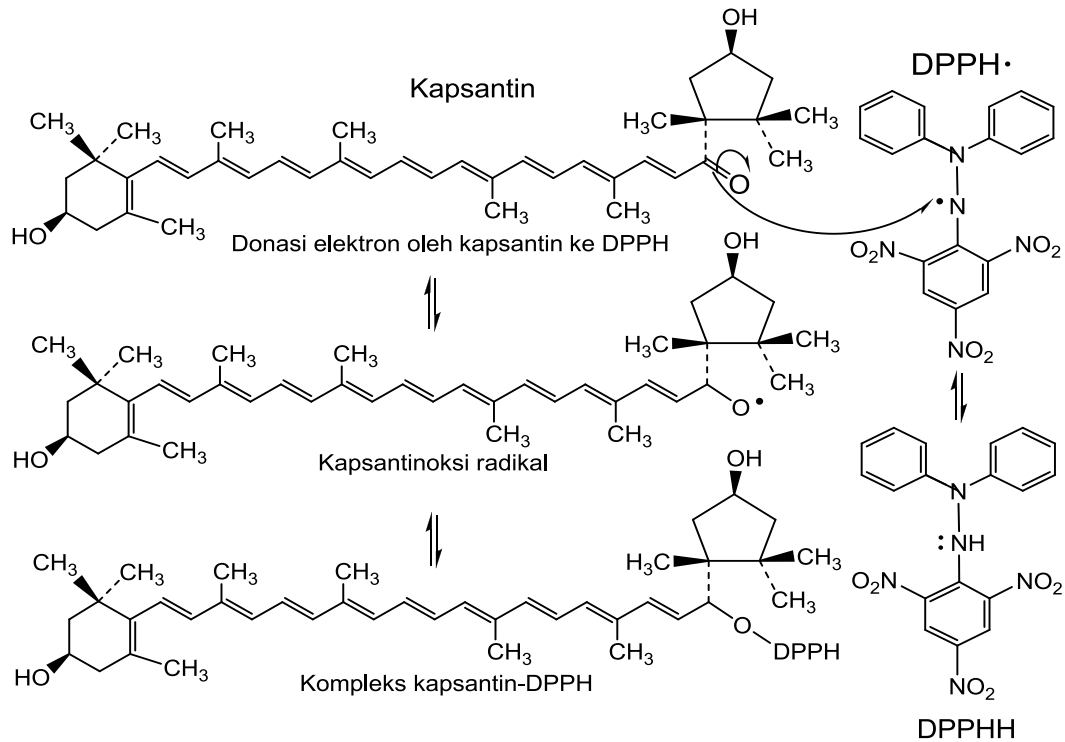


Gambar 2. Reaksi reduksi ferri tiosianat oleh kapsantin (Kukoc-Modun dan Radić, 2011)

Identifikasi terhadap senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak paprika merah juga dilakukan dengan pengukuran spektranya dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran sampel terdapat satu puncak yang mirip dengan standar (λ maksimum paprika merah 445,60 nm; β -karoten 450,00 nm). Hal ini membuktikan bahwa salah satu kandungan senyawa yang terdapat pada buah paprika merah yang berperan sebagai antioksidan adalah karotenoid.

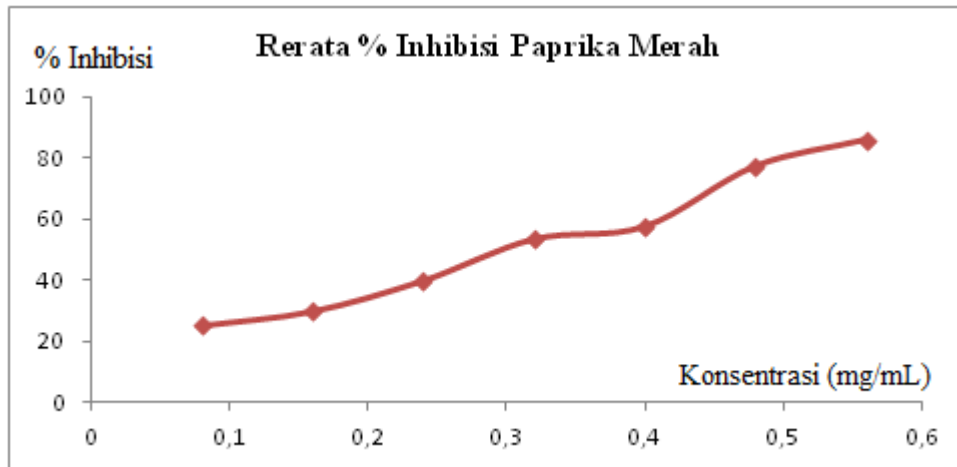
Buah paprika merah mengandung banyak senyawa karotenoid, diantaranya ialah kapsantin dan β -karoten. Struktur karotenoid yang bertanggungjawab terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas ialah gugus keto terkonjugasi dan rantai poliena (Matsufuji, 1998). Mekanisme senyawa karotenoid (kapsantin) sebagai penangkap radikal DPPH dapat digambarkan mengikuti pola mekanisme vitamin E sebagai antioksidan (Yamauchi, 1997), yaitu mendonorkan elektron ke radikal tersebut. DPPH berubah menjadi DPPHH yang stabil. Selanjutnya,

terbentuk kompleks karotenoid–DPPH di akhir reaksi. Suatu antioksidan ketika bereaksi dengan DPPH, setelah mendonorkan elektron, dapat berada dalam bentuk struktur kinoid, apabila senyawa tersebut mengandung gugus hidroksi fenolik. Selain itu, antioksidan dapat juga membentuk dimer (Bondet *et al.*, 1997). Reaksi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3.

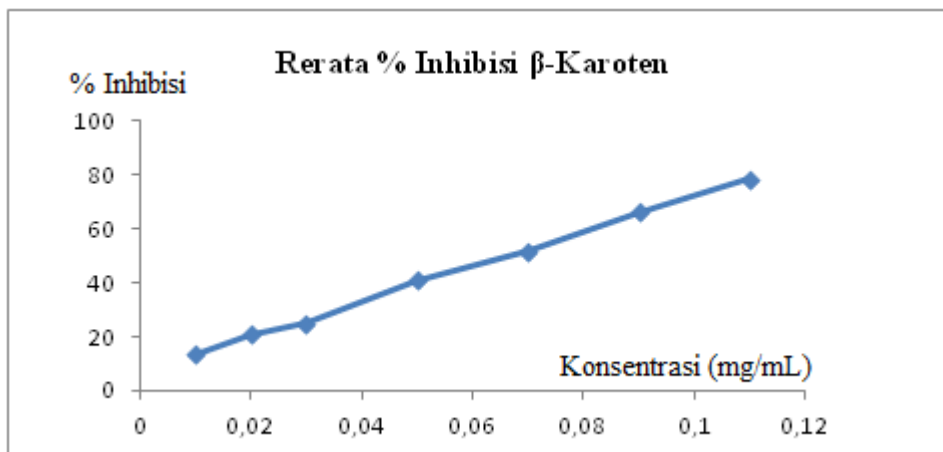


Gambar 3. Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh kapsantin (Yamauchi, 1997)

Hasil pengukuran aktivitas penangkapan radikal DPPH tersaji dalam bentuk grafik hubungan konsentrasi versus % inhibisi dari sampel dan standar β -karoten, berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5. Besarnya aktivitas penangkapan radikal DPPH dinyatakan dalam parameter IC_{50} . Hasil perhitungan nilai IC_{50} ekstrak metanol paprika merah dan β -karoten disajikan pada Tabel II. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak metanol paprika merah kurang poten dibandingkan dengan β -karoten, yang merupakan senyawa yang sudah diketahui sebagai antioksidan



Gambar 4. Grafik hubungan konsentrasi versus rerata % inhibisi paprika merah



Gambar 5. Grafik hubungan konsentrasi versus rerata % inhibisi β-karoten

Tabel II. Nilai IC_{50} ekstrak metanol paprika merah dan β-karoten

Sampel	IC_{50} (mg/mL)				Rata-rata ± SD	CV (%)
	1	2	3	4		
Paprika Merah	0,3065	0,2983	0,2965	0,2956	0,2992 ± 0,00498	1,66
β-karoten	0,0620	0,0681	0,0692	0,0651	0,0661 ± 0,00324	4,90

Nilai IC₅₀ antara ekstrak metanol paprika merah dengan β-karoten terdapat perbedaan yang signifikan ($p = 0,029$). Hasil penelitian memberikan informasi bahwa paprika merah sangat baik dikonsumsi sehari-hari karena berpotensi sebagai antioksidan. Adanya hasil ini diharapkan dapat menetralkan radikal bebas.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol paprika merah mempunyai aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC₅₀ sebesar $0,299 \pm 4,98 \times 10^{-3}$ mg/mL. Aktivitas ekstrak metanol paprika merah sebagai penangkap radikal kurang poten dibandingkan dengan β-karoten.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2015, Paprika, Asosiasi Petani Paprika (ASPERIKA), Diakses tanggal 12 Oktober 2015, <https://id.wikipedia.org/wiki/Paprika>.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., and Berset, C., 1997, Kinetics and Mechanism of Antioxidant Activity Using The DPPH· Free Radical Method, *Lebens.-Wiss.u.Technol.*, **30** : 609–615.
- Dalimartha, S. dan Soedibyo, M., BR.A., 1999, *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Suplemen*, Trubus Agriwidya, Semarang : 1-8.
- Deli, J., Molnár, P., Matus, Z., and Tóth, G., 2001, Carotenoid Composition in The Fruits of Red Paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiformerubrum*) During Ripening; Biosynthesis of Carotenoids in Red Paprika, *J. Agric. Food Chem.*, **49** (3) : 1517–1523.
- Fessenden, R. J., Fessenden, J. S., 1997, *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A. H., Jilid 1, Cetakan ke-4, Erlangga, Jakarta : 223–224.
- Hernani dan Rahardjo M., 2005, "Tanaman Berkhasiat Antioksidan", dalam *Penebar Swadaya Wisma Hijau*, 9–15.
- Kim, J.S., Lee, W.M., Rhee, H.C. and Kim, S., 2016, Red Paprika (*Capsicum annuum* L.) and Its Main Carotenoids, Capsanthin and β-Carotene, Prevent Hydrogen Peroxide-induced Inhibition of Gap-junction Intercellular Communication, *Chemico-Biological Interactions*, **254** : 146–155.
- Kukoc-Modun, L. and Radić, N., 2011, Spectrophotometric Determination of

- N-Acetyl-L-Cysteine and N-(2-Mercaptopropionyl)-Glycine in Pharmaceutical Preparations, *Research Article, International Journal of Analytical Chemistry*, **2011**, Article ID 140756, 6 Pages.
- Materska, M., Konopacka, M., Rogoliński, J. and Śłosarek, K., 2015, Antioxidant Activity and Protective Effects Against Oxidative Damage of Human Cells Induced by X-Radiation of Phenolic Glycosides Isolated from Pepper Fruits *Capsicum annuum* L., *Food Chemistry*, **168** : 546–553.
- Matsufuji, H., Nakamura, H., Chino, M. and Takeda, M., 1998, Antioxidant Actifity of Capsanthin and The Fatty Acid Esters In Paprika (*Capsicum annuum*), *J. Agric. Food Chem.*, **46** : 3468–3472.
- Molyneux, P., 2004, The use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrilhidrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Actifity, dalam *J. Sci. Technol.*, **26** (2) : 211–219.
- Pervical, M., 1996, Antioxidant, *Clinical Nutrition Insights*, NUT031 1/96 Rev. 10/98.
- Regina, A., Yovita, L., dan Maimunah, 2008, “Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total, dan Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L)”, dalam *Jurnal Sains dan Teknologi*, **13** (1).
- Sharma, O.P., and Bhat, T.K., 2009, DPPH Antioxidant Assay Revisited, *Food Chemistry*, **113** : 1202–1205.
- Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., Menichini, F., and Loizzo, M. R., 2013, Antioxidant and Hypoglycaemic Activities and Their Relationship to Phytochemicals in *Capsicum annuum* Cultivars During Fruit Development, *LWT-Food Sience and Technology*, **53** : 370–377.
- Warsi dan Guntarti, A., 2013, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Paprika Hijau (*Capsicum annuum* L.), *PharmaCiana*, Jurnal Ilmiah Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, **3** (1).
- Winarsi, Hery, 2005, *Isoflavon Berbagai Sumber, Sifat dan Manfaatnya Pada Penyakit Degeneratif*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta : 36–43.
- Yamauchi, R., 1997, Vitamin E: Mecanism of Its Antioxidant Activity, Review, *Food Sience and Technology International Tokyo*, **3** (4) :301–309