

## IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI SIRSAK (*Annona mucicata* Linn.)

(Identification of Chemical Compounds and Antioxidants of Soursop Seed Ethyl Acetate Extract  
(*Annona mucicata* Linn.))

(Submitted : 27 Juni 2019, Accepted : 30 September 2019)

Anindini Winda Amalia\*, Atmira Sariwati

Program Studi D4 Pengobatan Tradisional Tiongkok, Fakultas Ilmu Kesehatan

Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Email\*: [anindini.winda@iik.ac.id](mailto:anindini.winda@iik.ac.id)

### ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang berguna untuk melawan kanker serta radikal bebas. Tanaman dapat menghasilkan antioksidan untuk mengendalikan stres oksidatif. Tanaman sirsak merupakan salah satu tanaman yang diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji sirsak. Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, sedangkan uji antioksidan dilakukan menggunakan metode pengangkapan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dengan asam galat sebagai pembanding. Hasil penelitian memperlihatkan ekstrak etil asetat biji sirsak mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin, sedangkan hasil uji kuantitatif fenolik total dan flavonoid total masing-masing diperoleh hasil  $28,21 \pm 0,03$  mg/g dan  $22,17 \pm 0,05$  mg/g. Hasil pengangkapan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil DPPH ekstrak etil asetat biji sirsak adalah 39,45% pada konsentrasi 500  $\mu$ g/ml. Nilai IC50 untuk ekstrak etil asetat biji sirsak sebesar 638.45 ppm. Hasil ini memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat biji sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah jika dibandingkan asam galat.

**Kata kunci :** ekstrak biji sirsak, identifikasi kimia, antioksidan, etil asetat, DPPH

### ABSTRACT

Antioxidants are substances that are useful for fighting free radicals. Plants can produce antioxidants to control the oxidative stress. Soursop plants are one of the plants that are known to contain antioxidant flavonoids. The purpose of this study was to determine the content of chemical compounds and antioxidant activity of ethyl acetate extract of soursop seeds. Identification of the content of chemical compounds was carried out qualitatively and quantitatively, while the antioxidant test was carried out using the capture method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals with ascorbic acid as a comparison. The results showed that the soursop seeds ethyl acetate extract contained flavonoids, alkaloids, and saponins, while the results of the quantitative total phenolic and total flavonoid tests were  $28.21 \pm 0.03$  mg/g and  $22.17 \pm 0.05$  mg/g respectively. DPPH radical scavenging results of soursop seeds ethyl acetate extract were 39.45% with concentration 500  $\mu$ g/ml. IC50 value for Sour sop seed ethyl acetate extract was 638.45 ppm. These results show that the soursop ethyl acetate extract has a weak antioxidant activity compared to gallic acid.

**Keywords:** soursop seed extract, chemical identification, antioxidants, ethyl acetate, DPPH

### PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan penyebab utama beberapa gangguan kesehatan pada manusia, yang dihasilkan dari ketidakseimbangan antara pembentukan dan netralisasi pro-oksidan yang mengakibatkan stres oksidatif. Radikal bebas menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipid, protein, dan DNA yang pada akhirnya menyebabkan banyak penyakit kronis seperti

kanker, diabetes mellitus, penuaan, dan penyakit degeneratif lainnya pada manusia bersama dengan peroksidasi lipid (Harman, 1998; Maxwell, 1995). Untuk melindungi efek buruk dari radikal bebas, sel manusia menghasilkan enzim seperti superoksida dismutase dan katalase atau senyawa seperti asam askorbat, tokoferol dan glutathion (Niki *et al.*, 1994).

Tanaman kaya antioksidan menjadi perhatian oleh para peneliti untuk pengembangan etnomedisin karena mengandung fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, vitamin, terpenoid dan banyak lagi senyawa fitokimia lain yang bertanggung jawab dalam berbagai aktivitas farmakologi (Rice-Evans *et al.*, 1995). Penelitian saat ini telah membuktikan bahwa konsumsi antioksidan alami telah dikaitkan dengan pengurangan resiko penyakit kanker dan penyakit kronis (Gerper *et al.*, 2002).

*Annona muricata* Linn. banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk kanker di beberapa negara. *Annona muricata* Linn. dikenal dengan nama sirsak yang merupakan famili Annonaceae. Studi sebelumnya telah menunjukkan efek anti-hiperglikemik, anti-hiperlipidemia, anti-malaria, anti-parasit, antibakteri, insektisida, moluskisida, antivirus dan antikanker dari tanaman ini (Gavamukulya *et al.*, 2014).

Tujuan penelitian ini adalah menganalisa kandungan senyawa kimia dan efek antioksidan ekstrak etil asetat biji sirsak yang diperoleh dari Kota Ngawi Jawa Timur.

## METODE PENELITIAN

### Pengumpulan Sampel

Buah sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang sudah tua diambil bijinya dari Desa Ngawi Kota Ngawi Jawa Timur pada Desember 2018.

### Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Biji Sirsak

Biji Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang telah dikeringkan, dibuat serbuk kemudian dilakukan maserasi dengan pelarut etil asetat selama 3 hari, selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator, hingga diperoleh ekstrak etil asetat biji sirsak yang kental.

### Uji Organoleptik

Uji organoleptik menggunakan panca indra untuk dapat mendiskripsikan konsistensi, warna, bau dan rasa ekstrak biji sirsak.

### Analisis Kualitatif

#### Pengujian fitokimia

Uji fitokimia meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan terpenoid. Identifikasi alkaloid ekstrak biji sirsak direaksikan dengan pereaksi meyer, pereaksi wagner dan pereaksi dragendorff. Jika masing-masing pereaksi menghasilkan endapan jingga, berwarna coklat dan berwarna putih menunjukkan adanya alkaloid. Identifikasi flavonoid yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan serbuk magnesium 0,1 mg dan 2 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna merah menunjukkan adanya flavonoid. Identifikasi saponin ekstrak biji sirsak ditambahkan 2-3 tetes

HCl 2N dan dikocok kuat. Jika menghasilkan busa menunjukkan adanya saponin. Identifikasi terpenoid ekstrak biji sirsak dilakukan dengan penambahan 2 ml kloroform dan 2 ml asetat anhidrida lalu didinginkan dan ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Jika terjadi warna hijau atau biru (triterpenoid) dan merah atau ungu (steroid). Terakhir untuk identifikasi tanin ekstrak ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 1% sebanyak 2-3 tetes, jika menghasilkan warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harbone, 1987).

### Analisis Kuantitatif

#### Penetapan Kandungan Fenolik Total

Dibuat larutan stok asam galat 1000 bpj. Dari larutan stok dipipet 30 µl, kemudian ditambahkan Folin-Ciocalteu 7,5% sebanyak 2500 µl, dan NaOH sebanyak 2000 µl dan dicukupkan hingga 5 mL dan diukur serapannya dengan spektrofotometer 400-800 nm, dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya. Dibuat seri konsentrasi asam galat 2, 4, 6, 8, dan 10 bpj kemudian ditambahkan Folin-Ciocalteu 7,5% sebanyak 2500 µl, dan NaOH 1N sebanyak 2000 µl dan dicukupkan hingga 5 mL, kemudian didiamkan selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 765 nm, untuk ekstrak biji sirsak dibuat larutan stok 1000 bpj kemudian dipipet sebanyak 500 µl ke dalam labu terukur 5 mL dan ditambahkan Folin-Ciocalteu 7,5% sebanyak 2500 µl, dan NaOH 1N sebanyak 2000 µl didiamkan selama 30 menit diukur serapan panjang gelombang 765 nm, dilakukan 3 kali replikasi.

#### Penentuan Kandungan Flavonoid Total

Dibuat larutan stok kuarsetin 1000 bpj. Dari larutan stok dipipet 30 µl, kemudian ditambahkan pereaksi AlCl<sub>3</sub> sebanyak 200 µl, dan natrium sitrat sebanyak 100 µl, lalu dicukupkan volumenya hingga 5 ml. Sampel diinkubasi selama 30 menit dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm, selanjutnya ditentukan panjang gelombang maksimumnya. Pembuatan seri konsentrasi asam galat 2, 4, 6, 8, dan 10 bpj kemudian ditambahkan pereaksi AlCl<sub>3</sub> sebanyak 200 µl, dan natrium sitrat sebanyak 100 µl dicukupkan volumenya hingga 5 ml, kemudian didiamkan selama 30 menit. Serapannya diukur pada panjang gelombang 425 nm. Ekstrak biji sirsak dibuat larutan stok 1000 bpj, selanjutnya dipipet sebanyak 3000 µL, ditambah pereaksi AlCl<sub>3</sub> sebanyak 200 µL, dan natrium sitrat sebanyak 100 µl lalu dicukupkan volumenya hingga 5 ml. Kemudian didiamkan selama 30

menit. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 425 nm, dilakukan 3 kali replikasi.

### Pengujian In Vitro, Uji Aktivitas Antioksidan Pengujian dengan Pereaksi DPPH

Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu terukur 5 ml lalu ditambahkan metanol p.a diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, selanjutnya dituangkan ke dalam tabung kuvet dan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan stok asam galat 1000 bpj dibuat menjadi seri konsentrasi 2 bpj, 4 bpj, 6 bpj, 8 bpj, dan 10 bpj dalam labu terukur 5 ml dengan penambahan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan metanol p.a hingga 5 ml. Pengukuran dilakukan dengan cara menginkubasi seri konsentrasi asam galat dalam ruangan gelap selama 30 menit sebelum diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Untuk ekstrak biji sirsak dibuat larutan stok 1000 bpj, kemudian dibuat seri konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, dan 600 bpj dan dilakukan pengukuran seperti pada larutan pembanding asam galat (Molyneux, 2004).

### Penentuan persen aktivitas penghambatan DPPH

Aktivitas antioksidan larutan uji dapat diketahui berdasarkan tingkat kapasitasnya dalam menghambat radikal bebas DPPH melalui hasil serapan (Blois, 1958). Untuk menghitung persen aktivitas penghambatan DPPH digunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan

$A_0$  = serapan DPPH

$A_1$  = serapan sampel

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian organoleptik ekstrak bertujuan sebagai identifikasi awal menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa sebagaimana yang tersaji di Tabel 1.

Tabel 1. Pemeriksaan organoleptik ekstrak etil asetat biji sirsak

No	Keterangan	Hasil
1	Bentuk	Kental
2	Warna	Coklat Tua
3	Rasa	Tidak berasa
4	Bau	Tidak Berbau

Ekstrak berbentuk kental disebabkan karena adanya kandungan air antara 20-25% pada ekstrak (Ditjen POM, 1979). Warna coklat tua pada ekstrak biji sirsak dikarenakan karena biji sirsak mengandung senyawa polifenol. Polifenol teroksidasi oleh oksigen sehingga warna produk menjadi coklat (Rejeki, 2012).

Komponen yang terdapat dalam ekstrak etil asetat biji sirsak dianalisis golongan senyawanya dengan tes uji warna menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk menentukan golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, alkaloid seperti yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis Kualitatif dengan pereaksi kimia

No	Jenis Pengujian	Hasil
1	Flavonoid	Positif
2	Saponin	Positif
3	Tanin	Negatif
4	Terpenoid	Negatif
5	Alkaloid	Positif

Penelitian Ojezele *et al.* (2016), analisis kualitatif ekstrak air dan etanol biji sirsak bernilai positif untuk alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, terpenoid, saponin, dan steroid. Pada tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak biji sirsak menggunakan pelarut etil asetat tidak terdapat senyawa tanin dan terpenoid. Hal ini terjadi karena pelarut yang dipakai berbeda. Tanin merupakan senyawa makromolekul dari golongan polifenol yang bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar (Fengel & Wegner, 1995). Etil asetat termasuk senyawa semi polar, sedangkan etanol termasuk senyawa polar. Tanin merupakan senyawa bersifat polar sehingga dapat larut pada pelarut etanol, namun belum tentu dapat larut pada pelarut semi polar seperti etil asetat.

Flavonoid adalah senyawa fenol paling umum yang terdapat pada tanaman (Balasundram *et al.*, 2006). Flavonoid menunjukkan efek terhadap alergi, stres oksidatif dan inflamasi. Flavonoid dapat berperan juga sebagai antimikroba, antitumor dan antitoksin (Benavente-Garcia & Castillo, 2008). Flavonoid dapat digunakan sebagai pencegahan yang ampuh untuk stres oksidatif (Ojezele *et al.*, 2016). Pada tabel 2 menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak etil asetat biji sirsak.

Steroid, alkaloid, dan saponin dikenal memiliki sifat antiinflamasi, analgesik dan anti-kolestrol (Ojezele *et al.*, 2016). Pada tabel 2 menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan saponin pada ekstrak etil asetat biji sirsak.

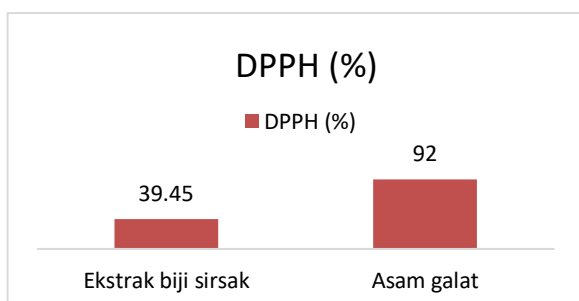
Tabel 3. Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total dan Fenolik Total Ekstrak Biji Sirsak

No	Jenis Pengujian	Hasil (mg/g)
1	Flavonoid Total	22,17±0,05
2	Fenolik Total	28,21±0,03

Sirsak (*Annona muricata* Linn.) memiliki kandungan vitamin C dan polifenol yang tinggi. Fenol dan flavonoid yang terkandung dalam sirsak juga memainkan peran penting sebagai antioksidan karena struktur molekul yang memberikan elektronnya pada molekul radikal bebas. Semakin tinggi tingkat fenol dan senyawa flavonoid, semakin tinggi kapasitas antioksidan yang dimilikinya (Prasetyorini et al., 2014).

Penelitian ini menggunakan kuersetin sebagai larutan standar dalam menentukan kadar senyawa flavonoid totalnya. Penentuan kadar senyawa total fenol menggunakan asam galat sebagai larutan standarnya.

Tabel 3 menunjukkan hasil pengukuran kadar flavonoid total dan fenolik total dari ekstrak etil asetat biji sirsak masing-masing adalah 22,17±0,05 mg/g dan 28,21±0,03 mg/g. Hasil tersebut menunjukkan untuk kadar flavonoid total dan fenolik total dari ekstrak etil asetat biji sirsak tidak cukup tinggi, sehingga kapasitas antioksidan yang dimilikinya tidak terlalu tinggi juga.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dengan pereaksi DPPH

DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) adalah metode yang cepat, sederhana, dan sensitif untuk mengukur kapasitas antioksidan. Hanya memerlukan sedikit sampel dalam pengujiannya. Karakteristik utama dari tes ini adalah untuk mengukur kapasitas antioksidan dengan menganalisis perubahan intensitas warna DPPH. DPPH sebagai radikal bebas memiliki elektron bebas yang memvisualisasikan warna gradasi violet. Warna ungu berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan. Berkurangnya radikal bebas akan mengubah intensitas warna ungu. Perubahan tersebut disebabkan oleh reaksi antara molekul

kristal DPPH dengan hidrogen yang terlepas dari senyawa kimia ekstrak etil asetat biji sirsak. Ikatan itu membentuk 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil dan menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Fathurrachman, 2014).

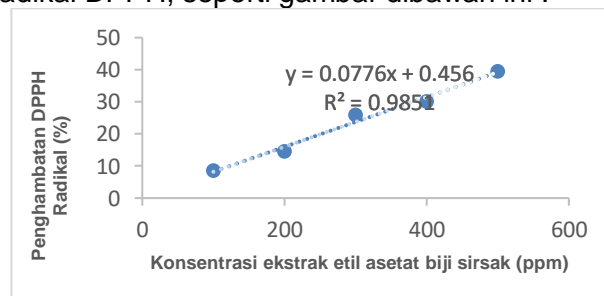
Pada Gambar 1 menunjukkan hasil uji antioksidan ekstrak etil asetat biji sirsak sebesar 39,45% pada konsentrasi 500 µg/mL. Kontrol positif untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH adalah asam galat yang mampu menangkap radikal DPPH sebesar 92%. Penelitian Widyastuti et al. (2017), hasil uji antioksidan ekstrak etanol pada daun dan biji sirsak masing-masing sebanyak 85,67% dan 39,02%. Kapasitas antioksidan pada ekstrak etilasetat biji sirsak lebih rendah daripada daun sirsak karena kandungan metabolit sekunder seperti total fenol yang rendah yaitu 22 mg/g dan dari hasil uji total flavonoid juga rendah hanya sekitar 28 mg/g.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Penghambatan DPPH Radikal ekstrak etil asetat biji sirsak

Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat biji sirsak (ppm)	Penghambatan DPPH Radikal (%)
100	8.5
200	14.51
300	26
400	30.19
500	39.45

Berdasarkan tabel diatas didapatkan data bahwa jika konsentrasi ekstrak dinaikkan maka prosentase penghambatan radikal DPPH juga meningkat. Konsentrasi paling tinggi sebesar 500 ppm mampu menangkap radikal DPPH sebanyak 39.45 %.

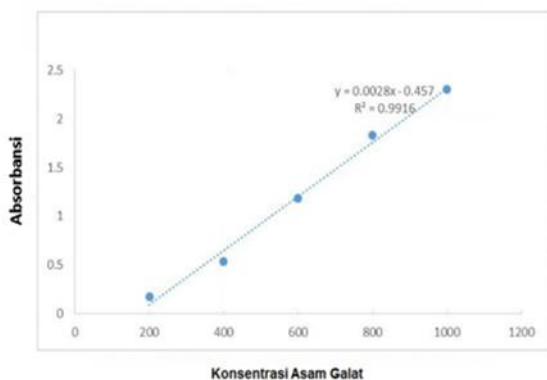
*Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ) yaitu konsentrasi terkecil suatu zat yang dapat menghambat 50 % radikal DPPH (Blois, 1958). Penentuan nilai  $IC_{50}$  yaitu dengan membuat kurva persamaan linear antara konsentrasi ekstrak etil asetat biji sirsak versus prosentase penghambatan radikal DPPH, seperti gambar dibawah ini :



Gambar 2. Kurva konsentrasi ekstrak etil asetat biji sirsak versus prosentase penghambatan radikal DPPH pada panjang gelombang 517 nm.



Berdasarkan gambar diatas didapatkan persamaan regresi  $y = 0.0776x + 0.456$ . dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0.9851, ( $r$ ) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Penentuan nilai  $IC_{50}$  ekstrak biji sirsak dengan memasukkan nilai  $Y$  sebesar 50 (50 % penghambatan radikal DPPH) kedalam persamaan tersebut, sehingga dapat ditentukan nilai  $X$  atau konsentrasi  $IC_{50}$  yaitu sebesar 638.45  $\mu\text{g/ml}$  (ppm).



Gambar 3. Kurva kalibrasi asam galat pada panjang gelombang 517 nm

Berdasarkan gambar kurva kalibrasi asam galat didapatkan persamaan regresi  $y = 0.0028x - 0.457$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0.9916. Asam galat sebagai pembanding merupakan antioksidan kuat karena  $IC_{50}$  nya kurang dari 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredaman radikal bebasnya semakin tinggi (Molyneux, 2004). Secara spesifik, aktivitas senyawa antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/ml}$ , kuat jika  $IC_{50}$  bernilai 50-100  $\mu\text{g/ml}$ , sedang jika  $IC_{50}$  bernilai 100-150  $\mu\text{g/ml}$ , lemah jika  $IC_{50}$  bernilai 150-200  $\mu\text{g/ml}$ , dan sangat lemah jika  $IC_{50}$  bernilai lebih dari 200  $\mu\text{g/ml}$  (Blois, 1958).

Biji sirsak mengandung senyawa alkaloid yaitu acetogenin dan annonaine (Idrus *et al.*, 2012). Senyawa tersebut memiliki karakteristik potensial sebagai antioksidan. Namun, kapasitas antioksidan biji sirsak lebih rendah dari pada daun sirsak karena kesulitan dalam proses ekstraksi. Kesulitan proses ekstraksi disebabkan oleh struktur biji sirsak yang keras dan kasar dengan lapisan luarnya yang tidak mudah pecah (Widyastuti *et al.*, 2017).

## KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat biji sirsak mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid. Ekstrak etil asetat biji sirsak mengandung fenolik total dan flavonoid total masing-masing diperoleh hasil  $28,21 \pm 0,03$  mg/g dan  $22,17 \pm 0,05$  mg/g. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji sirsak adalah 39,45% pada konsentrasi 500  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $IC_{50}$  sebesar 638.45  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil ini memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat biji sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah jika dibandingkan asam galat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Balasundram, N.K., Sundram, & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-product: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.
- Benavente-Garcia, O., & Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15): 6185-6205.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 181: 1191-1200.
- Ditjen POM. (1979). Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fathurrachman, D.A. (2014). The effect of solvent concentration to antioxidant capacity of sourshop (*Annona muricata* Linn.) leaves ethanolic extract with DDPH method. Jakarta: Medical Faculty UIN Syarif Hidayatullah.
- Fengel, D., & Wegner, G. (1995). Kayu: Kimia Ultrastruktur Reaksi - Reaksi. Yogyakarta: UGM Press.
- Gavamukulya, Y., Abou-Ellella, F., Wamunyokoli, F., Ael-Shemy, Hany. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, (7): 355-363.
- Gerber, M., Boutron-Ruault, M-C. Hercberg, S., Riboli, E., Scalbert, A., and Siess, M.H. (2002). Food and cancer: state of the art about the protective effect of fruits and vegetables. *Bulletin du Cancer*, Vol. 89 (3): 293-312.

- Harbone, J.B. (1987). Metode fitokimia: Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: ITB.
- Harman, D. (1998). Aging: phenomena and theories. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 854: 1–7.
- Idrus, R.B., Bialangi, N., Alio, L. (2012) Isolation and characterization of alkaloid compound from soursop (*Annona muricata* Linn.) seeds. Gorontalo: Chemistry Education Science Faculty Universitas Negeri Gorontalo.
- Maxwell, S.R.J. (1995). Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs*, Vol. 49(3): 345–361.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sangkalanakarin Journal Science and Technology*, 26(2): 211-219.
- Niki, E., Shimaski, H., & Mino, M. (1994). Antioxidantism-free radical and biological defense. Tokyo: Gakkai Syuppan Center Japan.
- Ojezele, O.J., Ojezele, M.O., & Adeosun, A.M. (2016). Comparative phytochemistry and antioxidant activities of water and ethanol extract of *Annona muricata* Linn leaf, seed and fruit. *Advances in Biological Research*, 10(4): 230-235.
- Prasetyorini, Moerfiah, S.W., & Rusli, Z. (2014). Antioxidant potency of some parts of soursop *Annona muricata* Linn. *Penel. Gizi Makanan*, 37(2): 137-144.
- Rejeki, D. (2012). Penentuan kualitas pangan dan uji organoleptik. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., and Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, Vol. 22(4): 375–383.
- Widyastuti, D.A., & Rahayu, P. (2017). Antioxidant Capacity Comparison of Ethanolic Extract of Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaves and Seeds as Cancer Prevention Candidate. *Biology Medecine & Natural Product Chemistry*, Vol 6(1):1-4.