

**M E T A M O R F O S A**  
*Journal of Biological Sciences*

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Pemberian Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) Menurunkan Kadar Malondialdehid (MDA) Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan dengan Aktivitas Fisik Berlebih**

**Supplementation of Red Bean (*Phaseolus vulgaris* L) Extract Decreased Malondialdehyde (MDA) Levels of Stressly Induced Activity of Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*)**

**Gina Septivani\*, Wimpie Pangkahila, Indraguna Pinatih**

*Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana*

\* Email: [dr.ginaseptivani@gmail.com](mailto:dr.ginaseptivani@gmail.com)

**INTISARI**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L) menurunkan kadar malondialdehid darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan aktivitas fisik berlebih. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni yang menggunakan *pre-test post-test control group design*. Tikus dipilih secara random kemudian dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan/P0), kontrol positif (diberikan aktivitas fisik berlebih dan aquades 2ml/P1), dan perlakuan (diberikan ekstrak kacang merah 650 mg/200gBB dan aktivitas fisik berlebih/P2). Tikus direnangkan selama 45 menit setiap hari untuk memperoleh kondisi stress oksidatif. Data dianalisa dengan uji beda *one way anova*. Hasil penelitian menunjukkan kadar MDA *pretest* pada kelompok P0, P1 dan P2 secara berturut-turut adalah 69,70±0,52 mmol/L; 70,12±0,54 mmol/L dan 69,59±0,51 mmol/L. Kadar MDA *post test* pada masing-masing kelompok adalah 69,66±0,27 mmol/L; 90,08±0,20 mmol/L dan 62,85±0,50 mmol/L. Terdapat perbedaan rerata kadar MDA *posttest* yang signifikan antar kelompok ( $p < 0,01$ ). Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L) mampu menurunkan kadar malondialdehid darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan aktivitas fisik berlebih.

*Kata Kunci: Ekstrak kacang merah, tikus, aktivitas fisik berlebih, MDA, stress oksidatif*

**ABSTRACT**

This study aims to prove that supplementation of red bean extract (*Phaseolus vulgaris* L) decreased malondialdehyde (MDA) levels of stressly induced activity of male wistar rats (*Rattus norvegicus*). This research was an experimental with *pre-test post-test control group design*. The rats were randomly divides into 3 groups: negatif control group (P0), positive control group (treated with overtraining and aquades 2ml/P1), and treatment group (treated with supplementation of red bean extract 650 mg/200 g body weight and overtraining/P2). The rats were swam for 45 minutes everyday. Data were analysed by one way anova test. The study showed that MDA level *pretest* of the each group was 69,70±0,52 mmol/L; 70,12±0,54 mmol/L and 69,59±0,51 mmol/L respectively. MDA level *posttest* of the each group was 69,66±0,27 mmol/L; 90,08±0,20 mmol/L and 62,85±0,50 mmol/L respectively. From the result of this study, it can be concluded that supplementation of red bean extract (*Phaseolus vulgaris* L) decreased malondialdehyde (MDA) levels of stressly induced activity of male wistar rats (*Rattus norvegicus*).

*Keywords: red bean (Phaseolus vulgaris L) extract, rats, overtraining, MDA, stress oxidative.*

## PENDAHULUAN

Penuaan merupakan bagian dari kehidupan yang tidak dapat dihindari. Penuaan menjadi sebuah paradigma yang menakutkan bagi manusia karena menjadi tua membuat hidupnya tidak berdaya dan mudah diserang berbagai penyakit. Penuaan disebabkan oleh berbagai faktor, tetapi secara garis besarnya faktor tersebut dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Beberapa faktor internal adalah radikal bebas, hormon yang berkurang, proses glikosilasi, metilasi, apoptosis, sistem kekebalan tubuh yang menurun, dan gen. Faktor eksternal yang utama adalah gaya hidup tidak sehat, diet tidak sehat, kebiasaan yang salah, polusi lingkungan, stres, dan kemiskinan (Pangkahila, 2007). Selain faktor tersebut, faktor yang tidak kalah penting yang menyebabkan penuaan adalah aktivitas fisik yang dilakukan secara berlebihan.

Aktivitas fisik berlebihan yang dilakukan akan menimbulkan stres oksidatif sehingga dapat meningkatkan konsumsi oksigen sampai 100-200 kali lipat karena terjadi peningkatan metabolisme di dalam tubuh. Peningkatan penggunaan oksigen terutama oleh otot-otot yang berkontraksi, menyebabkan terjadinya peningkatan kebocoran elektron dari mitokondria yang akan menjadi senyawa oksigen reaktif (Clarkson, 2000). Semakin berat aktivitas fisik yang dilakukan, semakin banyak pula oksigen yang diperlukan untuk metabolisme. Terjadinya peningkatan metabolisme tubuh, peningkatan inflamasi dan penggunaan oksigen terutama oleh otot-otot yang berkontraksi, sehingga terjadi peningkatan kebocoran elektron bebas oleh mitokondria, yang akan menjadi Reactive Oxygen Species atau ROS (Sauza, 2007). MDA merupakan salah satu *Biomarker* yang baik dan banyak digunakan untuk kondisi stress oksidatif dan peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

Stress oksidatif yang disebabkan aktivitas fisik berlebihan menyebabkan perlunya peningkatan konsumsi antioksidan untuk melindungi tubuh. Antioksidan berfungsi melindungi biomolekul terhadap stress oksidatif sehingga dapat menurunkan risiko penyakit

kardiovaskular, kanker dan menghambat proses penuaan (Utami *et al.*, 2009)

Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) merupakan sumber antioksidan yang mudah dibudidayakan di Indonesia dengan harga yang relatif murah. Kacang merah mengandung serat serta flavonoid (proantosianidin dan isoflavon) (Maruyama *et al.*, 2008). Proantosianidin berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat pembentukan malonaldehid dan aktivitas lipase (Maruyama *et al.*, 2008)

Berdasarkan studi literatur penelitian, belum banyak peneliti yang meneliti tentang manfaat kacang merah sebagai antioksidan khususnya dalam menurunkan kadar MDA. Maka dari itu, peneliti ingin mengetahui fungsi ekstrak kacang merah sebagai antioksidan dalam menurunkan kadar Malondialdehyde (MDA) pada darah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberikan aktivitas fisik berlebihan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni yang menggunakan *pre-test post-test control group design* yang dilakukan pada 21 ekor tikus jantan berumur 4 bulan, dengan berat badan 180-200 gram.

Tikus dipilih secara random kemudian dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan/P0), kontrol positif (diberikan aktivitas fisik berlebihan dan aquades 2ml/P1), dan perlakuan (diberikan ekstrak kacang merah 650 mg/200gBB dan aktivitas fisik berlebihan/P2). Untuk mencapai aktivitas fisik berlebihan dan kondisi stress oksidatif, maka tikus direnangkan selama 45 menit setiap hari.

### Pemeriksaan fitokimia kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L)

Biji Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) diperoleh dari Pasar Tradisional di Denpasar, kemudian diekstrak di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Cara pembuatan ekstrak kacang merah sebagai berikut : kacang merah dicuci bersih, kemudian di keringanginkan, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga kacang

merah berbentuk bubuk kemudian ditimbang untuk mengetahui kadar airnya.

Kacang merah yang telah berbentuk bubuk dimaserasi dengan diletakkan pada tabung erlemeyer dan direndam dalam larutan etanol 96% selama 2x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas whatman. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali sampai pelarut berwarna bening pada suhu kamar kemudian disaring dan dipisahkan dari ampas.

Hasil maserasi sampel dievaporasi pada suhu 45<sup>0</sup>c dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Proses penguapan ini dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental berbentuk gel. Ekstrak kental berbentuk gel tersebut kemudian dilarutkan dengan menggunakan CMC Na 0,5%.

Pengujian fitokomia menggunakan metode spektrofotometri, dimana 0.1 gram sampel diekstrak dengan 5 ml etanol 50%, kemudian dihomogenkan dan disentrifus 3000rpm selama 15 menit sehingga menghasilkan supernatan dan disaring sehingga menghasilkan filtrat. Filtrat diencerkan sampai volume 5ml (0.1g/5ml), kemudian dipipet 0,5ml filtrat ditambah 0,5ml etanol 50% dan ditempatkan pada tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan 1,0 ml AICI<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O 2%, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Setelah proses inkubasi nilai absorbansi dibaca λ 415nm. Sampel kemudian diabsorbansi lalu dihitung nilai x (konsentrasi) y (absorbansi) dengan persamaan regresi linier  $y = ax + b$  sehingga didapat nilai kandungan flavonoid sebesar 1188,29 mg/100g QE.

### Perlakuan pada hewan coba

Perlakuan pada hewan coba selama proses penelitian adalah sebagai berikut:

- Sebanyak 21 ekor tikus jantan berumur 4 bulan, dengan berat badan 180-200 gram dipilih sebagai sampel penelitian. Tikus didapatkan dari *Laboratory Animal Unit* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Tikus diadaptasi selama 1 minggu dengan pemberian pakan standar secara *ad libitum*.
- Pada hari kedelapan dilakukan pemeriksaan kadar MDA *pretest* dengan mengambil

darah *medial canthus sinus orbitus* kurang lebih sebanyak 1 ml pada semua kelompok.

- Tikus kemudian dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan/P0), kontrol positif (diberikan aktivitas fisik berlebih dan aquades 2ml/P1), dan perlakuan (diberikan ekstrak kacang merah 650 mg/200gBB dan aktivitas fisik berlebih/P2).
- Pada hari ke-9, perlakuan dimulai sebagai berikut: Kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang tidak diberikan perlakuan apapun. Kelompok kedua diberikan perlakuan aquabidest sekali sehari dan tikus direnangkan 1 kali pada pagi hari selama 45 menit, kemudian dikeringkan ± 15 menit, perlakuan selama 14 hari. Kelompok ketiga diberi perlakuan ekstrak Kacang Merah dengan dosis 650mg/200 gBB tikus setiap pagi hari direnangkan selama 45 menit. Setelah direnangkan, tikus tersebut dikeringkan ± 15 menit, perlakuan selama 14 hari. Pemberian ekstrak kacang merah menggunakan sonde lambung.
- Hari ke 22 semua tikus diambil darah sebanyak 1 ml, melalui *medial canthus sinus orbitalis*, untuk diperiksa kadar MDA *post test*.
- Perbedaan rerata kadar MDA antar kelompok dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova*. Perbedaan kadar MDA *pretest* dan *posttest* pada masing-masing kelompok perlakuan menggunakan *paired t test*.

### Pemeriksaan kadar MDA

Sampel darah diambil dari tikus pada hari ke 8 dan hari ke 22. Darah diambil dari *medial canthus sinus orbitus* kurang lebih sebanyak 1 ml, dimasukkan ke tabung yang mengandung EDTA 1mg/ml darah, kemudian disentrifus 4000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARSC yaitu mengukur konsentrasi *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*. (Capeyron et al, 2002). Selisih rata-rata kadar MDA antara kelompok kontrol dengan perlakuan dibandingkan dan dilakukan uji statistik.

## HASIL

Analisis fitokimia pada kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L) menggunakan metode spektrofotometri pada UPT Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, hasil fitokimia menunjukkan bahwa kandungan yang terdapat pada biji kacang merah adalah Vitamin C 799,35 mg/100g, Flavonoid 1188,29 mg/100g QE, Fenol 1147,08 mg/100g GAE, Tanin 158,43 mg/100g TAE, Antioksidan 944,54 mg/L GAEAC. Berdasarkan hal ini maka biji kacang merah memiliki potensi sebagai antioksidan. Kadar MDA *pretest* dan *posttest* pada masing-masing kelompok disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kadar MDA Pretest dan Posttest pada Masing-Masing Kelompok

Kelompok	Kadar MDA (mmol/L)			
	Mean	SD	Min	Max
<b>Pretest</b>				
P0	69,70	0,52	69,11	70,47
P1	70,13	0,54	69,59	70,78
P2	69,59	0,51	68,64	70,20
<b>Posttest</b>				
P0	69,66	0,27	69,39	70,12
P1	90,08	0,20	89,72	90,33
P2	62,85	0,50	62,13	63,53

Berdasarkan Tabel 1 dapat disimpulkan bahwa rerata kadar MDA *pretest* pada kelompok P0 adalah  $69,70 \pm 0,52$  mmol/L dan *posttest* sebesar  $69,66 \pm 0,27$  mmol/L. Analisis kemaknaan dengan *paired t test* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan kadar MDA *pretest* dan *posttest* yang signifikan pada kelompok P0 ( $p=0,866$ ). Pada kelompok P1 yang diberikan aktivitas fisik berlebih dan aquadest terjadi peningkatan kadar MDA dari  $70,13 \pm 0,54$  mmol/L pada saat *pretest* menjadi  $90,08 \pm 0,20$  mmol/L pada saat *posttest*. Perbedaan ini signifikan secara statistik dengan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ). Pada kelompok P2, yang diberikan aktivitas fisik berlebih dan ekstrak kacang merah 650 mg/200 g BB terjadi penurunan kadar MDA dari  $69,59 \pm 0,51$  mmol/L menjadi  $62,85 \pm 0,50$  mmol/L. Penurunan ini signifikan secara statistik dengan nilai  $p=0,001$  ( $<0,05$ ).

Analisis kadar MDA *pretest* dengan *One Way Anova* menunjukkan nilai  $p=0,158$  ( $>0,05$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan rerata kadar MDA *pretest* antar kelompok P2. Pada kelompok *posttest* analisis kemaknaan dengan menggunakan *One Way Anova* menunjukkan nilai  $p=0,001$  ( $<0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan rerata kadar MDA *posttest* antar kelompok P2. Perbedaan tersebut terjadi antara kelompok P2 dengan P0 dan kelompok P2 dengan P1 dengan nilai  $p=0,001$  ( $<0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis statistik ditemukan bahwa aktivitas fisik berlebih meningkatkan kadar MDA secara signifikan. Dalam penelitian ini, kadar MDA meningkat sebesar 28,44% pada kelompok kontrol positif (P1). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa aktivitas fisik berlebih menyebabkan tubuh dalam kondisi stress oksidatif. Aktivitas fisik berlebih meningkatkan stres oksidatif, karena terjadi peningkatan konsumsi O<sub>2</sub> oleh aktivitas otot skeletal. Meskipun O<sub>2</sub> sangat dibutuhkan ternyata juga bersifat toksik yang memicu peningkatan Senyawa Oksigen Reaktif (SOR). Aktivitas fisik berlebih dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada protein dan lipid pada miosit. Senyawa oksidan memodulasi sejumlah mekanisme signal sel dan mengatur ekspresi beberapa gen pada sel eukariot, perubahan transkripsi, dan merusak stabilitas mRNA (Power dan Jackson, 2010).

Pada kondisi aktivitas fisik berlebih akan terbentuk MDA yang merupakan hasil dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat dari akhir reaksi tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Lipid hidroperoksida dapat terurai dan dikatalisis oleh logam transisi menghasilkan senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bersifat sitotoksik. Pemecahan ikatan karbon selama peroksidasi lipid menyebabkan pembentukan alkanal seperti MDA (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Untuk mengurangi efek radikal bebas pada aktivitas fisik berlebih, maka harus diimbangi dengan konsumsi antioksidan yang cukup untuk menghambat terjadinya kondisi stress oksidatif. Dalam penelitian ini, ekstrak kacang merah mampu menurunkan kadar MDA pada aktivitas fisik berlebih.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol negatif, ternyata berbeda nyata jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Kelompok yang diberikan ekstrak kacang merah sebanyak 650 mg/200 g BB menyebabkan penurunan kadar MDA sebesar 9% jika dibandingkan dengan kadar MDA pretest dan 30,22% jika dibandingkan dengan kadar MDA posttest pada kelompok kontrol positif.

Ekstrak kacang merah mengandung flavonoid (proantosianidin dan isoflavon). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa flavonoid dan sumber polifenol lainnya secara signifikan berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan total tubuh (Winarsi, 2007). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksil dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Banjarnahor & Artani, 2014). Penggunaan antioksidan alami saat ini dipilih karena dianggap lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintesis, karena antioksidan alami berasal dari ekstrak tanaman.

Flavonoid adalah suatu antioksidan alam dan mempunyai aktivitas biologis, antara lain sebagai antioksidan yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroxil. Flavonoid memiliki kemampuan menambah efek dari susunan pemusnah endogen tersebut. Flavonoid bisa mengganggu sistem produksi radikal bebas atau bisa juga dengan meningkatkan fungsi antioksidan endogen (Spormann, *et al.*, 2008). Flavonoid bisa mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan beberapa cara : 1. Dengan mengurangi radikal bebas

secara langsung. Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. 2. Flavonoid menstabilkan senyawa oksigen reaktif dengan bereaksi dengan susunan reaktif dari radikal tersebut 3. Beberapa flavonoid tertentu dapat mengurangi aktivasi komplemen, sehingga menurunkan adesi sel inflamasi ke endothelium, menyebabkan berkurangnya respon inflamasi 4. Mmenstimulasi enzim yang berfungsi untuk memproduksi antioksidan internal. 5. Menekan enzim yang berfungsi dalam pembentukan senyawa radikal bebas (Procházková *et al.*, 2011).

Menurut Venkateswaran & Pari (2002) pemberian ekstrak *Phaseolus vulgaris* sebanyak 200mg/Kg BB selama 45 hari mampu menurunkan kandungan *thiobarbituric acid reactive* dan hidroperoksida. Ekstrak juga menyebabkan peningkatan yang signifikan terhadap penurunan glutation, superoksida dismutase, katalase, glutation peroksidase dan glutation-S-transferase di dalam hati dan ginjal yang diinduksi diabetes dengan streptozotocin. Hal ini membuktikan bahwa kandungan flavonoid kacang merah mampu meningkatkan enzim yang berfungsi untuk merangsang pembentukan antioksidan enzimatis.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kacang merah peroral dengan dosis 650 mg/200g BB tikus/hari secara oral dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang diberikan aktivitas fisik berlebih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ayala, A., Munoz, M.F., Arguelles, S. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. pp.31
- Banjarnahor, S.D.S., Artanti, N. 2014. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 23(4)
- Capeyron, C. Julie., B. Eric., P. Jean., MR. Piere., L.L. Claude, D. Benard, 2002, A

- diet cholesterol and deficient in vivo induces lipid peroxidation but does not enhance antioxidant enzyme expression in rat liver, *J. Nutr. Biochem.* 13:296-301
- Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Edition. Oxford University Press. New York.
- Maruyama, C., Araki, R., Kawamura, M., Kondo, N, Kigawa, M., Awai, Y., Takanami, Y. 2008 *Azuki Bean Juice Lowers Serum Triglyceride Concentration in healthy young Women*. *J. Clin Biochem Nutr.* 43(1):19-24.
- Pangkahila, W. 2007. *Anti-Aging Medicine, Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup*. Jakarta: Kompas
- Power, S.K., Jackson, M.J. 2010. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev.* 88(4):1243-1276
- Procházková, D., Bousová, I., Wilhelmová, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 82(4):513-523.
- Sauza, T.P., Oliveira, P.R., Pereira, B. 2007. Physical Exercise and Oxidative Stress, effect on intense physical exercise on urinary chemiluminescence and plasmatic malondialdehyde. *Rev Bras Med Esporte* 11:200-210
- Sporman, T., Suh, J.H., Cox, B., Rocha, AE., Morrow, JD., Shigeno, ET., dan Hagen, TM. 2008. Anthocyanin/Polyphenolic-Rich Fruit Juice Reduces Oxidative Cell Damage in an Intervention Study with Patients on Hemodialysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 17(12):3372-3380
- Utami, T.S., Arbianti, R., Hermansyah, H., Reza, A., Rini. 2009. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpup (Dilleniaindica) dari berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji Anova. Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia-STNKI 2009.* p.1-4
- Vankateswaran, S., Pari, L. 2002. Antioxidant Effect of Phaseolus vulgaris in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Asia Pasific Journal of Clinical Nutrition.* 11(3):206-209
- Winarsi. 2007. Antioksidan Alam & Radikal Bebas, potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Hal 18-19.