



## Isolasi dan Uji Antioksidan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada Minyak Goreng Curah

Anis Widayani<sup>✉</sup>, Edy Cahyono, dan Harjono

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang  
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

### Info Artikel

Diterima Juni 2018

Disetujui September 2018

Dipublikasikan November 2018

#### Keywords:

*Piper crocatum* Ruiz & Pav.  
antioksidan  
minyak goreng curah

### Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada minyak goreng curah. BHT digunakan sebagai pembanding. Minyak atsiri daun sirih merah dianalisis GC-MS untuk mengetahui komponen penyusun minyak. Hasil uji aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah termasuk antioksidan sedang dengan nilai  $IC_{50}$  136,947  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah dalam minyak goreng curah ditunjukkan dengan data persen inhibisi dan kualitas minyak goreng curah ditunjukkan dengan data angka asm lemak bebas.

### Abstract

The purpose of this research is to determine the antioxidant activity of red betel volatile oil (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) in bulk cooking oil. BHT is used as a comparison. Red betel volatile oil is analyzed by GC-MS to know the oil constituent component. The results of antioxidant activity of red betel volatile oil showed that the red beta gold oil including medium antioxidant with  $IC_{50}$  value 136.947  $\mu\text{g/mL}$ . The antioxidant activity of the red betel leaf oil in bulk cooking oil is directed to the inhibition% data and the quality of bulk cooking oil with the addition of red betel leaf oil intended with free fatty acid data.

© 2018 Universitas Negeri Semarang

<sup>✉</sup>Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: Aniswidayani1@gmail.com

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

## Pendahuluan

Minyak goreng di Indonesia sudah semakin mahal sehingga masyarakat dari kalangan menengah ke bawah memilih minyak goreng curah yang diproduksi secara konvensional dengan kualitas yang di bawah standar mutu SNI 01-3741-2013 (Nainggolan *et al.*, 2016). Produsen minyak goreng biasa menambahkan antioksidan agar minyak lebih tahan terhadap reaksi oksidasi seperti BHA, BHT atau TBHQ yang merupakan antioksidan sintesis yang tentunya dapat memberikan efek samping bagi kesehatan.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi korelasi antara senyawa fenolik dan aktivitas antioksidannya. Studi pada tanaman lokal seperti kunyit (*Curcuma domestica*), daun pandan (*Pandanus odoratus*), asam gelugur (*Garcinia atrovirens*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), pegaga (*Centella asiatica*), jahe (*Zingiber officinale*), singkong (*Manihot esculenta*), kesum (*Polygonum minus*), selom (*Oenothera javanica*), dan daun sirih (*Piper betel*), juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik (Huda *et al.*, 2009). Penelitian yang berkaitan dengan aktivitas daun sirih telah dilakukan, diantaranya adalah Pangesti *et al.* (2017) mengenai daya antibakteri ekstrak dan minyak *Piper betel* L terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, dari hasil penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa minyak sirih hijau memiliki potensi lebih besar sebagai daya hambat dibanding ekstrak daun sirih hijau. Rizkita *et al.* (2017) juga meneliti mengenai isolasi dan uji antibakteri minyak daun sirih hijau dan merah terhadap *Streptococcus mutans*. Hasilnya baik minyak sirih hijau maupun minyak sirih merah memiliki daya antibakteri.

Tomagola *et al.* (2016). menyatakan bahwa antioksidan alam umumnya berasal dari rempah-rempah, tanaman herba, buah-buahan, sayur-sayuran dan biji-bijian. Salah satu tanaman herba di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai antioksidan alami yaitu daun sirih. Tanaman herba yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.).

Penambahan antioksidan alami pada minyak goreng curah sudah banyak dilakukan. Minyak atsiri daun sirih merah berpotensi sebagai antioksidan pada minyak goreng curah karena adanya senyawa linalol. Linalol merupakan salah satu senyawa minyak atsiri yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Naderi *et al.*, 2004). Utami *et al.* (2017) berhasil mengisolasi daun sirih merah menjadi minyak atsiri dengan total komponen ada 13 salah satunya linalol (8,27%). Parwata *et al.* (2009) membuktikan bahwa minyak atsiri daun sirih dapat meredam radikal bebas pada difenilpicril hidrazil (DPPH) sebesar 89,13%.

Penelitian Tonahi *et al.*, (2014) menyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 47,45 ppm sedangkan Alfaraabi *et al.* (2010) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 85,82%. Pada penelitian ini dilakukan isolasi minyak atsiri daun sirih merah kemudian diuji aktivitas antioksidan dan diukur aktivitas antioksidan pada minyak goreng curah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen minyak atsiri daun sirih merah, komponen minyak atsiri daun sirih merah serta mengetahui aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah pada minyak goreng curah. Selain itu hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi minyak atsiri daun sirih merah sebagai antioksidan pada minyak goreng curah.

## Metode

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat distilasi uap dan air, seperangkat alat pendingin balik, GC-MS-QP2010S SHIMADZU, kolom Rtxi 5MS dengan panjang 30 meter, gas pembawa helium bertekanan 13,0 kPa, laju alir helium 79,3 mL/menit, dan program temperatur kolom 50°C hingga 300°C, serta Spektrofotometer SHIMADZU UV1280. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang berasal dari Sumowono, minyak goreng curah, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), vitamin C, asam asetat glasial, kloroform, aquades, kalium hidroksida, metanol, indikator fenolftalein, dan BHT dengan *grade pro analyst* buatan Merck.

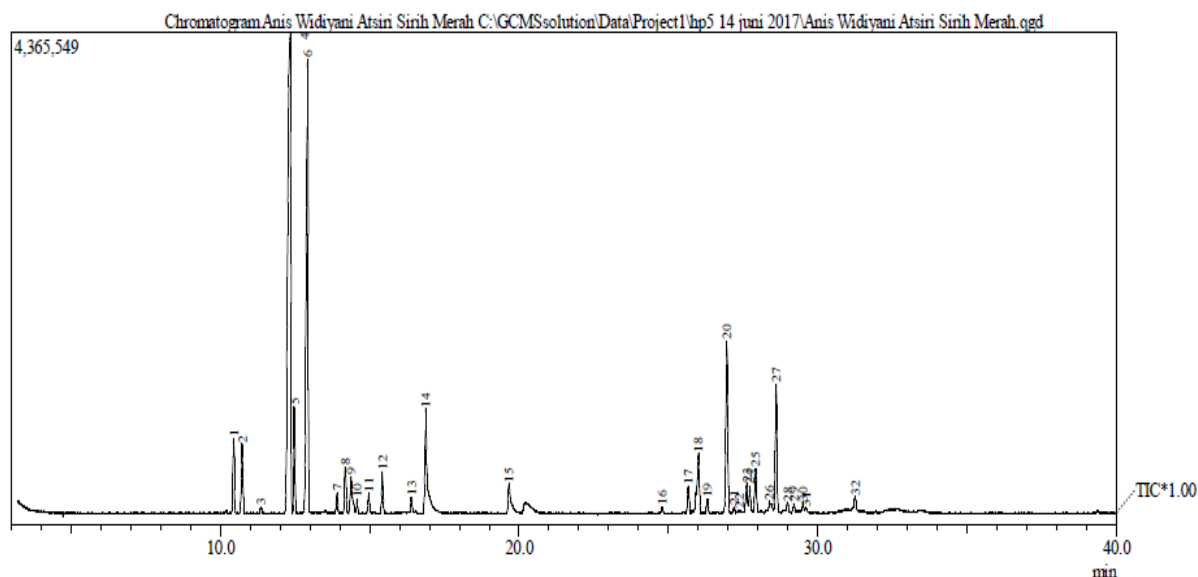
Prosedur penelitian meliputi 4 tahapan yaitu isolasi minyak atsiri daun sirih merah, identifikasi komponen minyak atsiri, uji aktivitas antioksidan minyak atsiri dan uji aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah pada minyak goreng curah serta kualitas minyak goreng curah. Isolasi minyak atsiri daun sirih merah dilakukan dengan metode distilasi uap air. Daun sirih merah sebanyak 6,5 kg dipotong-potong kemudian dimasukkan ke dalam ketel distilasi yang telah terisi air sampai tanda batas. Air dialirkan ke kondensator dan dijaga agar air terus mengalir. Minyak atsiri dan air yang terbentuk ditampung di dalam corong pisah. Distilat yang diperoleh ditambahkan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat sampai jenuh untuk menghilangkan kandungan air kemudian dipisahkan. Minyak atsiri yang diperoleh dianalisis dengan GC-MS untuk identifikasi komponen-komponen kimia yang terkandung.

Uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode Wollinger *et al.* (2015) dengan menggunakan DPPH. Pengujian dilakukan dengan variasi konsentrasi minyak atsiri daun sirih merah 20, 40, 60, 80 dan 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Romdonah *et al.*, 2017). Sebanyak 0,05 ml sampel dilarutkan dalam 3,95 ml larutan DPPH. Larutan diinkubasi pada tempat gelap selama 60 menit kemudian diukur pada panjang gelombang 518 nm dengan spektrofotometer shimadzu UV-1800. Larutan blanko yang digunakan adalah metanol *pro analys.* Untuk kontrol positif digunakan vitamin C sebagai pembanding dan diuji dengan cara yang sama dengan pengujian sampel.

Minyak atsiri daun sirih merah hasil distilasi uap air dibuat variasi konsentrasi 0,2; 0,4 dan 0,8% kemudian ditambahkan ke dalam minyak goreng curah dan sebagai pembanding juga ditambahkan BHT 0,02% ke dalam minyak goreng curah kemudian diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan diuji angka asam lemak bebas dengan metode titrasi asam-basa dengan variasi waktu 0, 7, 14, 21 (hari).

### Hasil dan Pembahasan

Minyak atsiri yang diperoleh dari penelitian ini berupa cairan berwarna kuning bening dan bau khas daun sirih merah. Sebanyak 6,5 kg daun sirih merah yang disuling menggunakan distilasi uap dan air menghasilkan minyak atsiri sebanyak 14 mL. Rendemen minyak atsiri daun sirih merah yang diperoleh sebesar 0,21% dengan massa jenis 0,69 g/mL. Selanjutnya minyak atsiri dianalisis dengan GC-MS untuk mengidentifikasi komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun sirih merah. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui komponen-komponen minyak sirih merah dengan melihat database dan membandingkan massa spektra masing-masing komponen yang teridentifikasi dengan literatur. Kromatogram GC-MS pengukuran minyak asiri sirih merah diperoleh 32 puncak kromatogram seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kromatogram GC-MS hasil isolasi minyak sirih merah

Gambar 1 menunjukkan adanya beberapa puncak kromatogram yang memiliki puncak tertinggi. Semakin tinggi puncak suatu kromatogram maka % area komponen kimia semakin besar. Identifikasi komponen minyak atsiri daun sirih merah pada penelitian ini dilakukan dengan analisis spektra massa yang didasarkan pada "base peak" (puncak dasar) dan SI (*Similarity Index*) dengan perbandingan spektra dari Wiley229.LIB.

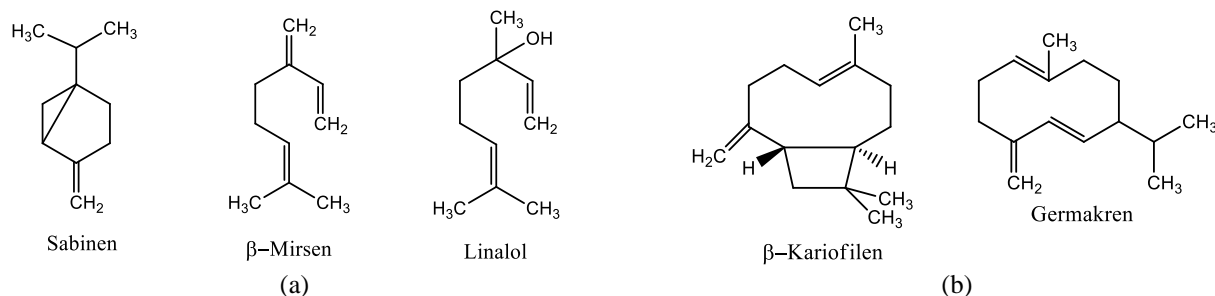
Hasil analisis dari GC-MS terdapat 5 spektra yang mempunyai nilai SI  $\geq 90$  dan mempunyai "base peak" serta spektra massanya sesuai dengan data pembanding. Spektra massa GC-MS dari 5 komponen yang dianalisis ini merupakan komponen terbesar yang terkandung dalam minyak atsiri daun sirih merah hasil distilasi uap air yang dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Komponen dan pola fragmentasi minyak sirih merah hasil distilasi uap air

No puncak	Waktu retensi	% Area	Pola fragmentasi		Perkiraan Senyawa	Rumus molekul
			Sampel	Willey library		
4	12,339	33,35	136, 121, 105, 93*, 77, 65, 53, 41, 29	136, 121, 105, 93*, 77, 69, 43, 41, 27	Sabinena SI : 95	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6	12,922	20,18	136, 121, 107, 93*, 79, 69, 53, 41, 28	136, 121, 107, 93*, 79, 69, 53, 41, 27	β-Mirsena SI : 95	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
14	16,876	5,41	136, 121, 107, 93, 71, 69, 55*, 41, 28	136, 121, 107, 93, 71*, 69, 43, 41, 27, 14	Linalol SI : 93	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
20	26,960	7,07	204, 189, 175, 161, 147, 133, 120, 105, 93, 79, 69, 55, 41*, 28	204, 189, 175, 161, 147, 133, 120, 105, 93, 79, 69, 55, 41*, 27	β-Kariofilen SI: 93	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
27	28,610	4,96	204, 161*, 147, 133, 119, 105, 91, 79, 67, 55, 41, 28	204, 161, 147, 133, 119, 105*, 91, 79, 67, 55, 41, 39	Germakren SI : 90	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

Keterangan \* = *Base Peak* (Puncak Dasar)

Komponen-komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah yang mempunyai persentase terbesar berdasarkan persen area pada Tabel 1 adalah sabinena (33,35%), β-mirsena (20,18%), β-kariofilen (7,07%), linalol (5,41%) dan germakren (4,96%). Hasil analisis GC-MS minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa penyusun utama minyak atsiri adalah golongan monoterpena dan seskuiterpena. Komponen kimia dari minyak atsiri bervariasi tergantung daerah geografi, umur tanaman, iklim lokal, musim dan kondisi eksperimen juga perbedaan genetik bertanggungjawab pada perubahan komponen kimia (Senthilkumar dan Venkatesalu, 2009). Selain itu juga perlakuan panen dan pasca panen dapat mempengaruhi komposisi minyak atsiri (Olonisakin *et al.*, 2006). Struktur lima senyawa yang tergolong monoterpena dan seskuiterpena tersebut digambarkan pada Gambar 2, sebagai berikut:

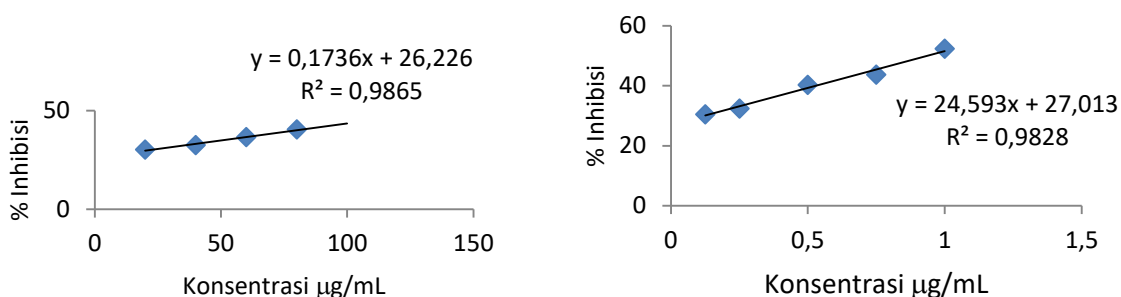


**Gambar 2.** (a). Struktur senyawa monoterpena minyak atsiri daun sirih merah, (b) Struktur senyawa seskuiterpena minyak atsiri daun sirih merah

Minyak atsiri daun sirih merah hasil distilasi uap air diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan delokalisasi elektron yang berlebih. Delokalisasi ini meningkatkan warna violet/ungu dalam metanol. Ketika DPPH dengan senyawa lain yang mendonorkan atom hidrogennya, maka akan terbentuk DPPH nonradikal yang ditandai dengan hilangnya warna violet, berubah menjadi pucat (Prakash *et al.*, 2001). Komponen kimia dari minyak daun sirih merah menunjukkan adanya aktivitas antioksidan tersebut dengan terbentuknya DPPH nonradikal yang menyebabkan warna violet pada pengujian berubah menjadi kuning (warna ungu semakin berkurang/menjadi pucat memerah). Data pengujian minyak atsiri daun sirih merah dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 2.

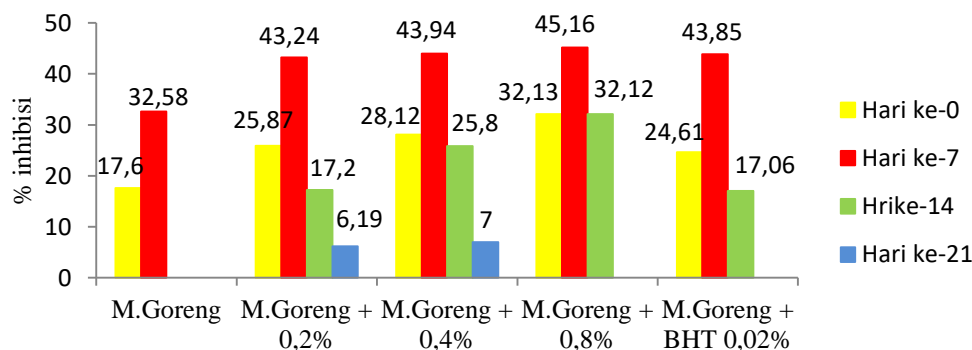
**Tabel 2.** Aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> minyak atsiri daun sirih merah metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Minyak sirih merah	20	30,189	136,947
	40	32,453	
	60	36,660	
	80	40,377	
	100	43,019	
Vitamin C	0,5	30,566	0,934
	1,0	32,452	
	1,5	40,377	
	2,0	43,773	
	2,5	52,453	

**Gambar 3.** Kurva regresi linier minyak atsiri daun sirih merah dan vitamin C

Nilai persen inhibisi yang telah dihitung dari setiap konsentrasi digunakan untuk perhitungan IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> atau Inhibitor Concentration 50% adalah nilai konsentrasi suatu bahan untuk menghambat aktivitas DPPH sebesar 50% (Zou *et al.*, 2004). Persen inhibisi menunjukkan kecenderungan semakin tinggi dengan semakin bertambahnya konsentrasi minyak atsiri daun sirih merah (Goudom *et al.*, 2016). Hasil uji aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya lebih rendah dibanding vitamin C. Hal ini karena minyak atsiri daun sirih merah bukan senyawa murni seperti vitamin C. Vitamin C sebagai kontrol menunjukkan hasil IC<sub>50</sub> sebesar 0,934 µg/mL sedangkan hasil IC<sub>50</sub> minyak sirih merah sebesar 136,947 µg/mL. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> dari minyak sirih merah dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri sirih merah tergolong antioksidan sedang. Hal ini sesuai literatur bahwa antioksidan sedang jika IC<sub>50</sub> bernilai 100-150 ppm (Molyneux, 2004).

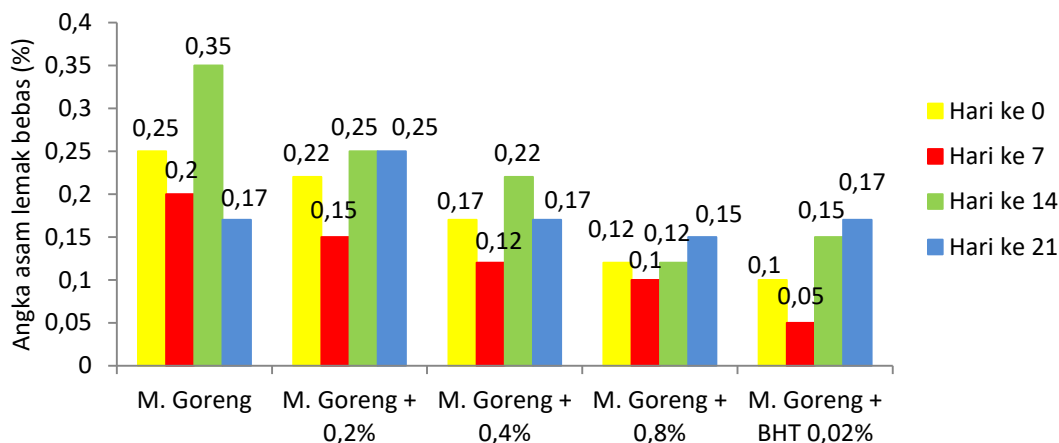
Aktivitas antioksidan juga diukur pada minyak atsiri daun sirih merah dalam minyak goreng curah dengan metode DPPH. Hasil pengujian minyak atsiri dalam minyak goreng curah dapat dilihat pada Gambar 4.

**Gambar 4.** Hubungan % inhibisi terhadap konsentrasi penambahan antioksidan dan lama penyimpanan

Nilai persen inhibisi menunjukkan kecenderungan semakin tinggi dengan bertambahnya konsentrasi minyak atsiri sirih merah. Nilai persen inhibisi kecenderungan mengalami penurunan dengan semakin lamanya penyimpanan. Namun pada hari ke-7 terjadi kenaikan nilai persen inhibisi. Hal ini

dikarenakan pada hari ke-7 tingkat oksidasi minyak goreng maksimum. Ketika hari ke-14 dan ke-21 nilai persen inhibisi kembali turun karena senyawa antioksidan pada minyak atsiri sirih merah dan BHT telah mengalami kerusakan dan sehingga tidak mampu lagi untuk menghambat oksidasi pada minyak goreng curah.

Angka asam lemak bebas minyak goreng curah dengan penambahan minyak atsiri sirih merah dan BHT menunjukkan kecenderungan rendah dengan kenaikan konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan. Hal ini dikarenakan minyak atsiri yang ditambahkan larut dan terdistribusi di dalam minyak goreng curah (Gugule dan Feti, 2010). Nilai angka asam lemak bebas yang diperoleh berkaitan dengan hasil persen inhibisi aktivitas antioksidan dimana pada hari ke-7 mengalami kenaikan dan pada hari ke-14 serta hari ke-21 mengalami penurunan. Hubungan konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan dan lama penyimpanan pada minyak goreng curah terhadap angka asam lemak bebas dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Hubungan konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan dan lama penyimpanan pada minyak goreng curah terhadap angka asam lemak bebas

## Simpulan

Hasil GC-MS minyak sirih merah hasil isolasi mengandung komponen utama berupa sabinena (33,35%),  $\beta$ -mirsena (20,18%),  $\beta$ -kariofilen (7,07%), linalol (5,41%) dan germakren (4,96%). Aktivitas antioksidan minyak sirih merah termasuk antioksidan sedang dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 136,947  $\mu$ g/ml. Aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah dalam minyak goreng ditunjukkan dengan data persen inhibisi dan kualitas minyak goreng curah ditunjukkan dengan data angka asam lemak bebas.

## Daftar Pustaka

- Alfarabi, M., M. Bintang, Suryani, dan M. Safithri. 2010. The Comparative Ability of Antioxidant Activity of Piper crocatum in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(4): 201-204
- Goudoum, A., A.B. Abdou, L.S.T. Ngamo, M.B. Ngassoum, and C.M.F. Mbofung. 2016. Antioxidant activities of Essential Oil of *Bidens pilosa* (Linn. Var. Radita) Used for the Preservation of Food Qualities in North Cameroon. *Food Science & Nutrition*, 4(5): 671-678
- Gugule, S., dan F. Fatimah. 2010. Karakterisasi Virgin Coconut Oil (VCO) Rempah. *Chem. Prog*, 2 : 104.
- Huda, F.N., A.Noriham, A.S. Norrakiah, dan Babji. 2009. Antioxidant Activity of Plants Methanolic Extracts Containing Phenolic Compounds. *African Journal of Biotechnology*, 8(3): 484-489
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radikal Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology*, 26(2): 211-129
- Naderi, G.A., S. Asgary, N. Sarraf-Zadegan, H. Shirvany. 2003. Effect of Some Volatile Oils on the Affinity of Intact and Oxidized Low-Density Lipoproteins for Adrenal Cell Surface Receptors. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 267: 59-66
- Nainggolan, B., N. Susanti, dan A. Junia. 2016. Uji Kelayakan Minyak Goreng Curah dan Kemasan yang digunakan Menggoreng Berulang. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 8(4): 45-57

- Olonisakin, A., M.O. Oladimeji. and L. Labunmi. 2006. Chemical Composition and Antibacterial Active of Steam Distilled Oil of Ashanti Pepper (*Piper guineense*) Fruits (Berries). *Journal of Applied Sciences*, 5(5): 1531-1535
- Pangesti, R.D., E. Cahyono., dan E. Kusumo. 2017. Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak dan Minyak *Piper betle* L. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 6(3): 282-290
- Parwata, I.M.O.A., W.S. Rita., dan R. Yoga. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*, 3(1): 7-13
- Prakash, A., F. Rigelhot and E. Miller. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 19(2)
- Rizkita, A. D., E. Cahyono., dan S. Mursiti. 2017. Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 6(3): 279-286
- Romdonah, F.S., E. Kusumo, dan Supartono. 2017. Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Indonesia Journal of Chemical Science*, 6(1): 1-4
- Senthilkumar, A., and V. Venkatesalu. 2009. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Clausena anisata* (Willd) Hook. f. Ex Benth. *International Journal of Integrative Biology*, 5(2): 116-120
- Tomagola, N., N. Muthiawati, L. Wiyani, dan F. Jaya. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) untuk Mengatasi Ketengikan (*Rancidity*) pada Minyak Goreng. *Journal of Chemical Process Engineering*, 1(2): 7-15
- Tonahi, J.M., S. Nuryanti, dan Suherman. 2014. Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 158-164
- Utami, M. R., I. Batubara., dan L.K. Darusman. 2017. Isolasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*. Benth). *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1): 39-43
- Wollinger, A., E. Perrin, J. Chahboun, V. Jeannot, D. Touraud & W. Kunz. 2015. Antioxidant Activity of Hydro Distillation Water Residues from *Rosmarinus officinalis* L. Leaves Determined by DPPH Assays. *Comptes Rendus Chimie*, : 1-12
- Zou, Y., Lu, Y., and Wei D. 2004. Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *J agric. Food Chem*, 52(16): 5032-5039