

Sintesis Senyawa Flavonoid- α -Glikosida secara Reaksi Transglikosilasi Enzimatis dan Aktivitasnya sebagai Antioksidan

Synthesis of flavonoid- α -glycoside through transglycosylation by enzyme and its activities as antioxidant

RINI HANDAYANI[✉], JOKO SULISTYO

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911

Diterima: 11 Desember 2007. Disetujui: 30 Januari 2008.

ABSTRACT

Flavonoid- α -glycoside was synthesized using enzyme of CGT-ase (EC.2.4.1.19) which was isolated from cultivated of *Aspergillus oryzae*. CGT-ase enzyme has optimum capability at the temperature of 40°C, pH 7 yielded 1.87 unit/mL while at pH 6 was 1.11 unit/mL. The pretest of CGT-ase transfer activity was carried out using resorcinol as an acceptor and commercial starch solution as the glucosyl donor. Subsequently, acceptor was replaced by crude extract of ginger, and wheat starch as donor. The other product of hydrolysis was separated by column chromatography, monitored by TLC which was showed a single spot. The R_f value was compared with the R_f value of arbutin standard, the R_f values were about the same which were 0.85 for product and 0.87 for arbutin standard. The sugar total of product synthesis was determined by the Dubois method, which was 628.0 ppm. The value is equivalent to 0.032% of the original starch. The antioxidant activity was analyzed by β -carotene method discoloration. The result showed that the strong antioxidant activities were in the following order: BHT>product>arbutin>crude extract of ginger.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Aspergillus oryzae*, CGT-ase, flavonoid- α -glycoside.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat menginaktivkan radikal bebas, molekul tidak stabil yang dihasilkan oleh berbagai jenis proses kimia normal tubuh atau oleh radiasi matahari, asap rokok dan pengaruh-pengaruh lingkungan lainnya. Dewasa ini penambahan antioksidan sintetis pada berbagai produk kosmetik, farmasi maupun makanan merupakan cara paling efektif untuk mencegah oksidasi lemak pada produk, tetapi penggunaan antioksidan sintetis oleh masyarakat semakin berkurang, karena beberapa penelitian membuktikan adanya efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia (Osawa *et al.*, 1992). Antioksidan yang memberi efek negatif umumnya adalah *butyated hidroxy anisole* (BHA), *butyated hidroxy toluene* (BHT) dan *propyle galate* (PG) sehingga dilakukan usaha untuk mencari antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan yang dianggap lebih baik dari antioksidan sintetis, khususnya apabila ditinjau dari segi kesehatan.

Antioksidan alami terdapat dalam bagian daun, buah, akar, batang dan biji dari tumbuh-tumbuhan obat. Bagian tersebut umumnya mengandung senyawa fenol dan polifenol (Pratt, 1992). Polifenol dan turunannya telah lama dikenal memiliki aktivitas antibakteri, antiproliferasi, antioksidan dan antitumor (Ahn *et al.*, 1991; Ioku *et al.*, 1992; Funayama *et al.*, 1994). Sebagai antioksidan

polifenol berperan sebagai penangkap radikal bebas penyebab peroksidasi lipid yang dapat menimbulkan kerusakan pada bahan makanan, selain itu menurut Sulistyio dkk. (1998) senyawa antioksidan berfungsi mencegah kerusakan sel dan DNA akibat adanya senyawa radikal bebas.

Senyawa flavonoid yang merupakan salah satu golongan dari polifenol sampai saat ini belum dimanfaatkan secara optimal dan masih digunakan secara terbatas. Hal ini dikarenakan senyawa flavonoid tidak stabil terhadap perubahan pengaruh oksidasi, cahaya, dan perubahan kimia, sehingga apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun bahkan hilang dan kelarutannya rendah. Kestabilan dan kelarutan dapat ditingkatkan dengan cara mengubah senyawa flavonoid menjadi bentuk glikosida melalui reaksi kimia maupun enzimatis dengan bantuan enzim transferase (Kometami *et al.*, 1990).

Sintesis senyawa flavonoid- α -glikosida secara kimia, selain tidak ekonomis juga tidak mudah karena akan menghasilkan produk campuran dengan konfigurasi α dan β -glikosida (Funayama *et al.*, 1994). Sebaliknya sintesis senyawa glikosida melalui pemanfaatan reaksi transfer enzimatis dewasa ini telah menarik perhatian para ilmuwan (Kuriyawa *et al.*, 1995). Oleh karena itu, sintesis flavonoid- α -glikosida melalui reaksi transfer enzimatis menjadi pilihan untuk memperoleh senyawa yang relatif stabil dan memiliki kelarutan tinggi, Sulistyio *et al.* (1998) mempublikasikan bahwa enzim CGT-ase dapat dimanfaatkan dalam reaksi transglikosilasi dengan memakai senyawa flavonoid sebagai akseptor. Tujuan penelitian ini adalah untuk men-

✉ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km.46 Cibinong 16911
Tel. +62-21-8765066. Fax. +62-21-8765063/62
e-mail: handayanirini@yahoo.co.uk

sintesis senyawa flavonoid- α -glikosida secara enzimatis menggunakan CGT-ase dari *Aspergillus oryzae* serta menguji aktivitas produk hasil reaksi transfer, sebagai antioksidan alternatif.

BAHAN DAN METODE

Biakan yang digunakan. Biakan yang digunakan yaitu *Candida rugosa* (Cr), *Monascus* (G3), *Aspergillus oryzae* (K₁A), *Rhizopus oryzae* (RT₁), dan *Bacillus subtilis* (J₁₁1) adalah isolat dari koleksi Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong-Bogor.

Ekstraksi enzim CGT-ase. Ekstraksi enzim CGT-ase dari biakan bakteri dan kapang diperbanyak pada media agar (PDA) dan diinkubasi pada suhu 27°C selama 5 hari. Setelah itu biakan disuspensikan dengan 5 mL akuades steril. Selanjutnya suspensi biakan diinokulasikan menurut metode Mori *et al.* (1994).

Pengujian aktivitas enzim CGT-ase dan aktivitas transglikosilasi. Pengujian aktivitas enzim CGT-ase dilakukan menurut metode Funayama *et al.* (1993). Masing-masing contoh diukur aktivitasnya dengan spektrofotometer Perkin Elmer pada serapan λ 660 nm. Pengujian aktivitas transglikosilasi dilakukan menurut metode Sulistyo *et al.* (1998).

Sintesis flavonoid- α -glikosida oleh enzim CGT-ase.

Flavonoid- α -glikosida disintesis dalam campuran yang mengandung 5% tepung terigu, 5% ekstrak kasar jahe, 100 mL buffer fosfat 0,05 M pH 6,0 dan 50 mL enzim CGT-ase, serta 50 mL 1-heksanol dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 24 jam. Produk transfer yang dihasilkan dipekatkan dengan cara dievaporasi sampai volume 20 mL.

Produk transfer. Kolom kromatografi diisi dengan matrik Okta Desil Silika (ODS) yang telah dilarutkan dalam metanol (1:5) kemudian disetarakan dengan metanol sebanyak tiga kali *bed volume*. Sampel yang telah dipekatkan dimasukkan ke dalam kolom yang berisi matrik dan disetarakan kembali dengan akuades yang mengandung asam format 1% dan metanol bertingkat 0-90%. Hasil elusi difraksinasi menggunakan pengumpul fraksi dan dianalisis dengan KLT. Fraksi yang menunjukkan spot tunggal serta nilai R_f sama dengan standar arbutin dikumpulkan untuk diuji aktivitasnya sebagai senyawa antioksidan menurut metode Andarwulan *et al.* (1999) dan dianalisis kandungan gula total pada produk menurut metode Dubois *et al.* (1956).

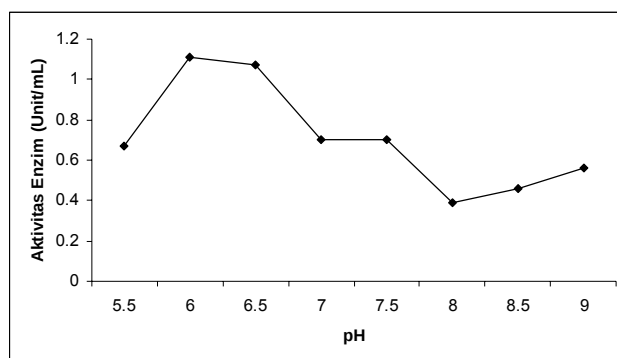
Pengukuran aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan campuran β -karoten dan asam linoleat. Larutan β -karoten disiapkan dengan melarutkan 2,0 mg β -karoten dalam 10 mL kloroform. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL ke dalam Erlenmeyer 100 mL lalu diuapkan sampai kering pada suhu 40°C. Selanjutnya ditambahkan berturut-turut 0,02 mL asam linoleat, 0,184 mL tween 80 dan 50 mL akuades yang sudah diaerasi. Kemudian diaduk menggunakan stirrer sampai terbentuk emulsi. Segera setelah terbentuk emulsi dipipet masing-masing 5 mL emulsi tersebut ke dalam setiap tabung yang sudah diisi dengan antioksidan dengan berbagai konsentrasi. Nilai absorbansi waktu ke-0 dan setiap selang 30 menit setelah diinkubasi pada suhu 50°C dibaca pada λ 470 nm. Nilai aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai faktor protektif (FP) yang dihitung berdasarkan perbandingan nilai absorbansi sampel dengan absorbansi kontrol pada saat 30 menit inkubasi (Andarwulan *et al.*, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

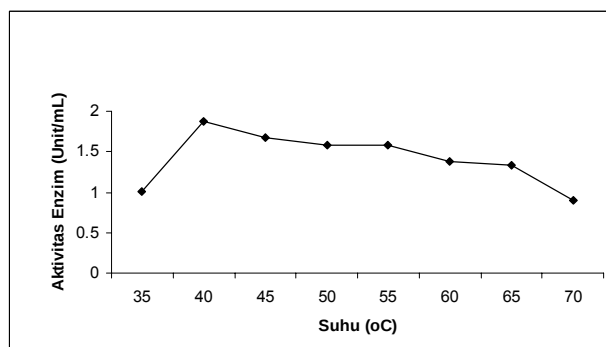
Produksi enzim CGT-ase

Enzim CGT-ase, khususnya dari *A. oryzae* yang merupakan hasil seleksi dari berbagai biakan mikroba, diproduksi menggunakan media yang mengandung 2% pati terlarut komersial sebagai bahan penginduksi. Penambahan pati bertujuan agar enzim yang dihasilkan memiliki aktivitas terhadap substrat pati baik aktivitas hidrolitik maupun transglikosilasi. Enzim yang diperoleh merupakan enzim kasar CGT-ase, karena diduga ada enzim lain yang dihasilkan dengan penginduksi pati ini, seperti α -amilase. Kedua enzim ini dapat dibedakan dengan cara melakukan uji aktivitas transglikosilasi dari ekstrak enzim yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena α -amilase hanya memiliki aktivitas hidrolitik, sedangkan CGT-ase selain memiliki aktivitas hidrolitik dan transglikosilasi, baik intermolekuler yaitu mentransfer gugus glukosil dari donor ke akseptor yang sesuai maupun intramolekuler, mengubah pati menjadi siklodekstrin. Selanjutnya penginduksi maupun substrat diganti dengan mencoba berbagai jenis tepung yang kemampuannya mirip dengan pati komersial.

Pengujian aktivitas enzim CGT-ase dilakukan dengan pati sebagai substrat. Kemampuan menghidrolisis pati diuji dengan menambahkan KI dalam I₂ sehingga terbentuk larutan yang berwarna biru. Intensitas warna biru sebanding dengan konsentrasi pati yang tidak terhidrolisis, sehingga semakin banyak pati yang terhidrolisis, warna biru akan semakin memudar. Hasil uji pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim menunjukkan bahwa CGT-ase dari *A. oryzae* mempunyai kemampuan optimum pada suhu 40°C (1,87 unit/mL) dan pH 6,0 (1,11 unit/mL), dapat diperiksa pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim CGT-ase dari *A. oryzae*.



Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim CGT-ase dari *A. oryzae*.

Aktivitas enzim CGT-ase sangat dipengaruhi oleh pH dan suhu agar aktivitasnya optimal, tetapi enzim ini akan kehilangan aktivitasnya akibat panas. Berdasarkan uji yang dilakukan diperoleh bahwa aktivitasnya akan menurun dengan meningkatnya suhu dan pH. Aktivitas enzim ini tidak akan meningkat lagi setelah pH >9.

Aktivitas transfer

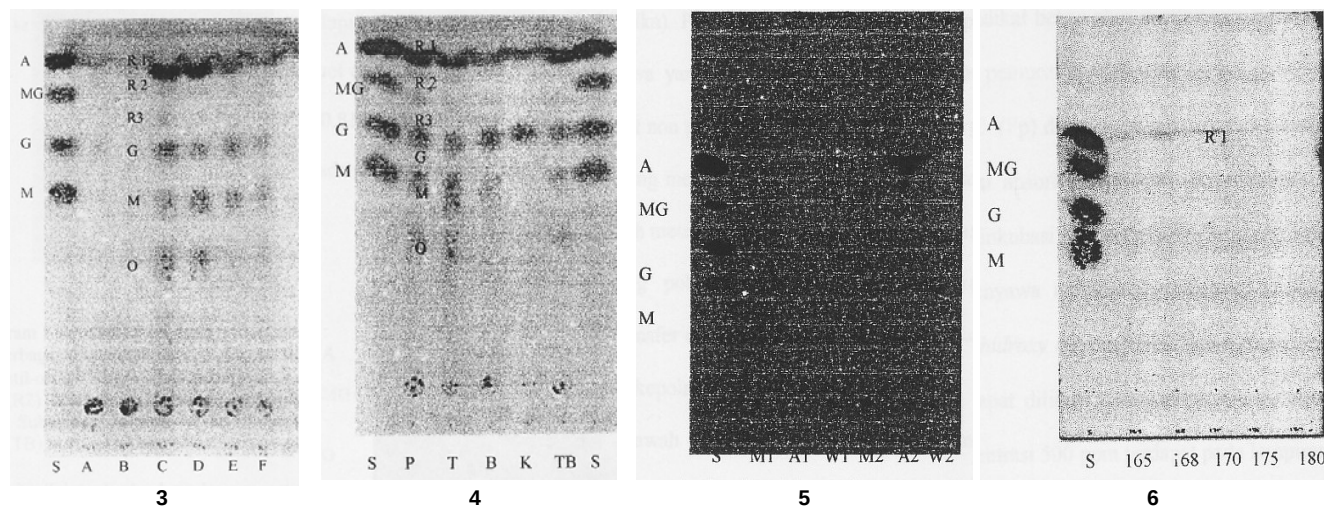
Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas transfer CGT-ase dari berbagai biakan yang dapat mentransfer gugus glukosil pada akseptor resorsinol. Hasil produk resorsinol- α -glikosida yang terbentuk diidentifikasi dengan KLT. Fasa diam yang digunakan dalam KLT adalah silika yang bersifat polar, sedangkan fase geraknya adalah larutan pengembang, terdiri dari propanol dan air dengan perbandingan (85:15). Senyawa non polar akan tertahan dengan nilai R_f rendah. Senyawa yang memiliki banyak gugus hidroksil akan bersifat polar, sehingga nilai R_f -nya akan lebih tinggi. Akseptor yang digunakan berasal dari senyawa fenol karena senyawa ini cenderung larut dalam air dan sering bergabung dengan gula glukosida yang memiliki gugus -OH dan tidak bersifat sebagai substrat enzim yang dapat menghambat aktivitas enzim CGT-ase.

Nilai R_f produk merupakan perbandingan antara jarak spot produk yang terbentuk dibagi jarak pelarut. Hasil dari uji aktivitas transfer untuk seleksi biakan, di antaranya berasal dari biakan *C. rugosa* (Cr), *Monascus* (G3), *A. oryzae* (K₁A), *R. oryzae* (RT₁), dan *B. subtilis* (J₁₁1), diperoleh dua jenis biakan lain yang mempunyai aktivitas transfer, yaitu *Monascus* (G3) dan *A. oryzae* (K₁A). Selanjutnya kedua jenis biakan ini diuji aktivitas transfernya dengan mengganti substrat dengan tepung terigu dan

bekatul gandum serta akseptor resorsinol dan hidrokinon. Langkah selanjutnya adalah mengganti penginduksi dalam media produksi enzim CGT-ase dengan tepung terigu dan bekatul gandum, ternyata biakan dari *A. oryzae* (K₁A) dengan penginduksi tepung terigu memberikan intensitas noda yang tinggi dibandingkan dengan bekatul gandum (Gambar 3.).

Tahap berikutnya adalah mencoba berbagai jenis tepung sebagai substrat yang memiliki kemampuan mirip dengan pati terlarut komersial, jenis-jenis tepung yang digunakan diantaranya adalah: tepung beras, tepung terigu, tepung gandum, dan tepung kanji serta menggunakan akseptor resorsinol, ternyata tepung terigu merupakan jenis tepung terbaik sebagai pengganti pati terlarut komersial (Gambar 4.). Kemudian dari hasil ini, dicoba lagi dengan menggunakan akseptor yang berasal dari ekstrak kasar tumbuh-tumbuhan yaitu dari jenis temu-temuan di antaranya: jahe, kunir putih, temulawak, lengkuas, dan kencur. Ekstrak kasar temu-temuan ini direaksikan dalam sistem campuran reaksi dua lapisan (*double layer*) yaitu lapisan air dan alkohol, fungsi penambahan alkohol adalah untuk melarutkan senyawa yang belum larut dalam air. Alkohol yang digunakan adalah 1-heksanol 25%.

Pada percobaan selanjutnya dilakukan dua jenis komposisi penambahan 1-heksanol yaitu 25 dan 50%. Setelah diinkubasi selama 24 jam, lalu diuji dengan KLT dari masing-masing lapisan yaitu lapisan air, alkohol, dan campuran keduanya, ternyata lapisan alkohol dengan komposisi 1-heksanol 25% memberikan hasil yang baik dengan nilai R_f 0,81 yang mendekati nilai R_f standar arbutin yaitu sebesar 0,82 seperti terlihat pada Gambar 5.



Gambar 3. Kromatogram KLT dari biakan G₃ dan K₁A dengan media penginduksi tepung terigu dan bekatul gandum: standar (S), maltosa (M), glukosa (G), metil- α -glukosida (MG), arbutin (A), oligosakarida (O), resorsinol glukosida (R1), resorsinol glukobiosida (R2), resorsinol glukotriosida (R3), G₃ + tepung terigu (A), G₃ + bekatul gandum (B), K₁A + tepung terigu (C), K₁A + bekatul gandum (D), K₁A bekatul gandum + 5% bkt gandum (E), G₃ bkt gandum + 5% gandum (F).

Gambar 4. Kromatogram KLT dari biakan G₃ dan K₁A dengan media penginduksi tepung terigu dalam berbagai substrat dan akseptor resorsinol: standar (S), maltosa (M), glukosa (G), metil- α -glukosida (MG), arbutin (A), oligosakarida (O), resorsinol glukosida (R1), resorsinol glukobiosida (R2), resorsinol glukotriosida (R3), substrat pati (P), substrat tepung terigu (T), substrat bekatul gandum (B), substrat tepung kanji (K), substrat tepung beras (TB).

Gambar 5. Kromatogram hasil uji reaksi transfer menggunakan donor tepung terigu dan akseptor ekstrak jahe: standar (S), maltosa (M), glukosa (G), metil- α -glukosida (MG), arbutin (A), flavonoid- α -glikosida (R1), flavonoid- α -glikobiosida (R2), 1-heksanol 50% (M1,A1,W1), 1-heksanol 25% (M2,A2,W2), campuran (M), alkohol (A), air (W).

Gambar 6. Kromatogram hasil pemurnian flavonoid- α -glikosida dengan tehnik kromatografi kolom: standar (S), arbutin (A), metil- α -glukosida (MG), glukosa (G), maltosa (M), flavonoid- α -glikosida (R1). Fraksi nomor 165, 168, 170, 175, dan 180 adalah fraksi yang keluar pada pemisahan dengan metanol 40% dalam asam format 1%.

Sintesis dan pemurnian flavonoid- α -glikosida

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim CGT-ase dari biakan *A. oryzae* (K₁A) dengan donor tepung terigu dan akseptor ekstrak kasar jahe pada sistem reaksi dua lapisan mempunyai aktivitas transfer gugus glukosil yang tinggi. Produk transfer dan produk-produk hasil hidrolisis lainnya dapat dipisahkan dengan melewati campuran produk pada kolom kromatografi yang berisi matriks ODS. Prinsip pemisahan berdasarkan pada perbedaan polaritas dan kelarutan senyawa yang akan dipisahkan, karena matriks ODS sebagai fase stasioner yang bersifat non polar, maka digunakan pelarut organik yang bersifat polar sebagai fase gerak yang mengelusi sampel berdasarkan gradien konsentrasi, pelarut yang digunakan adalah metanol 20, 40, 60, 80% dalam asam format 1%. Senyawa yang polaritasnya tinggi (glukosa) akan keluar lebih awal, sedangkan produk transfer dengan kepolaran rendah akan keluar berikutnya diikuti oleh akseptor dengan kepolaran yang paling rendah.

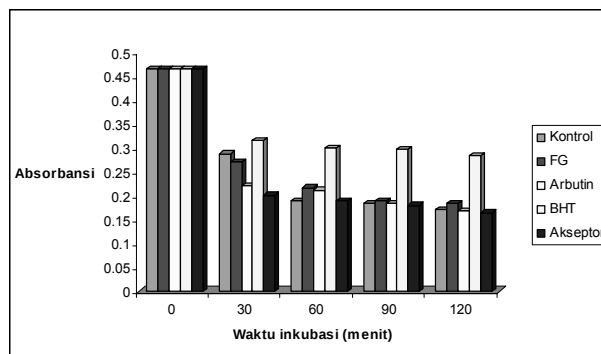
Gambar 6. menunjukkan kromatogram produk transfer hasil pemisahan dengan kromatografi kolom. Spot yang ditunjukkan oleh nomor fraksi 165, 168, dan 170 menunjukkan bahwa produk transfer telah terpisah dengan baik yaitu pada pemisahan dengan metanol 40%, meskipun intensitas noda yang dihasilkan tipis, nilai R_f dari produk transfer 0,85 hampir sama dengan standar arbutin yaitu 0,87. Penentuan konsentrasi produk transfer yang diperoleh dilakukan dengan metode Dubois dengan standar arbutin. Produk yang diperoleh memiliki konsentrasi 628,0 ppm.

Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan sistem campuran β -karoten dan asam linoleat. Waktu pemucatan warna kuning dari β -karoten menunjukkan tinggi rendahnya aktivitas antioksidan. Semakin lama waktu yang diperlukan untuk pemucatan maka kualitas antioksidan semakin baik. Waktu pemucatan kontrol adalah yang tidak ditambahkan antioksidan. Asam linoleat digunakan sebagai substrat penghasil radikal bebas yang akan menyerang β -karoten dan menyebabkan terjadinya pemucatan warna. Apabila suatu senyawa mempunyai aktivitas sebagai penangkap radikal bebas, maka senyawa tersebut melindungi β -karoten dari serangan radikal bebas, sehingga waktu pemucatan akan lebih lama. Tween 80 dalam uji ini berfungsi sebagai pengemulsi. Faktor protektif (Fp) dinyatakan sebagai aktivitas antioksidan. Fp diperoleh dari perbandingan nilai absorbansi sampel dibandingkan nilai absorbansi kontrol pada 30 menit waktu inkubasi. Nilai Fp pada konsentrasi 500 ppm dilakukan terhadap senyawa flavonoid- α -glikosida hasil sintesis, akseptor (jahe), arbutin, dan BHT sebagai senyawa antioksidan sintetis.

Dengan berjalannya waktu inkubasi maka nilai absorbansi akan menurun. Hal ini menunjukkan kemampuannya sebagai antioksidan akan berkurang dan nilai faktor protektifnya semakin kecil. Flavonoid- α -glikosida sebagai senyawa antioksidan alternatif menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dari akseptor (jahe), maupun polifenol komersial yaitu arbutin, meskipun aktivitasnya lebih rendah dari BHT (antioksidan komersial) tetapi sebagai senyawa alamiah flavonoid- α -glikosida memiliki aspek keamanan yang lebih baik terhadap kesehatan manusia dan lingkungan. Senyawa BHT, sebagai bahan sintetik yang sering digunakan sebagai antioksidan, memiliki nilai protektif paling tinggi dibandingkan flavonoid-

α -glikosida, akseptor, dan arbutin (nilai protektif tidak diuji secara statistik) (Gambar 7).



Gambar 7. Perbandingan absorbansi terhadap waktu inkubasi pada konsentrasi antioksidan 500 ppm.

KESIMPULAN

Enzim CGT-ase dari *Aspergillus oryzae* (K₁A) dapat bekerja optimal pada suhu 40°C dan pH 7 yaitu 1,87 unit/mL dan pada pH 6 1,11 unit/mL. Enzim CGT-ase dari *A. oryzae* (K₁A) dapat digunakan untuk mensintesis senyawa flavonoid- α -glikosida dengan donor tepung terigu dan akseptor ekstrak kasar jahe. Hasil pengujian aktivitas antioksidan produk diperoleh nilai faktor protektif (Fp) pada konsentrasi 500 ppm adalah BHT>flavonoid- α -glikosida >arbutin>ekstrak kasar jahe.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, Y.J., T. Kawamura, M. Kim, T. Kawamoto, and T. Mitsuoka. 1994. Tea polyphenols as inhibitors of *Clostridium* sp. *Agricultural and Biological Chemistry* 55 (5): 425-426.
- Andarwulan, N., D. Fardiaz, G.A. Wattimena and K. Shetty. 1999. Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (8):3158-3163.
- Dubois, M., K. Giles and J.K. Hamilton. 1956. Colorimetric method for determination of sugar. *Analytical Chemistry* 28: 356-359.
- Funayama, M., H. Arakawa, R. Yamamoto, T. Nishino, T. Shin and S. Murao. 1994. A new microorganism producing a glucosyl transfer enzyme to polyphenols. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 58 (5): 817-821.
- Ioku, K., J. Terao and N. Nakatani. 1992. Antioxidative activity of arbutin in a solution and liposome suspension. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 56 (10): 168-1659.
- Kometani, T., Y. Terada, T. Nishimura, T. Nakae, H. Takii and Okada. 1996. Acceptor specificity of cyclodextrin glucanotransferase from an alkalophilic *Bacillus* species and synthesis of glycosyl rhamnose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60 (7): 1176-1178.
- Kuriyawa, K., K. Tsuchiya and T. Murni. 1995. Some properties on transglycosylation activity as sesame β -glucosidase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 59: 1142-1143.
- Mori, S., S. Hirose, T. Oya and S. Kitahata. 1995. Purification and properties of cyclodextrin glucanotransferase from *Brevibacterium* sp. No. 9605. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 58 (11): 1968-1972.
- Osawa, T., Katsuzaki, H. Hagiwara, and T. Shibamoto. 1992. A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1135.
- Pratt, D.E. 1992. Natural antioxidant from plant. In: Lee, C.Y. (ed). *Phenolic Compounds in Food and their Effect on Health II, Antioxidants and Cancer Prevention*. Washington D.C.: American Chemical Society.
- Sulistyo, J., Y.S. Soeka dan A.K Karim. 1998. Sintesis polifenol- α -glikosida oleh CGT-ase secara reaksi transglikosilasi. *Jurnal Biologi Indonesia* 2 (3): 156-161.