

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*)

1. Definisi



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 1 Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*)

Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) merupakan tumbuhan perdu yang termasuk ke dalam famili Acanthaceae. Daun Ungu dikenal secara tradisional di Indonesia sebagai tanaman obat dan telah digunakan dalam pengobatan rakyat untuk berbagai keluhan seperti wasir, luka, bisul, dan gangguan pencernaan (Makkiyah dkk., 2021). Secara botani, *G. pictum* adalah tanaman berkayu dengan daun berwarna ungu atau ungu-hijau, mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid, alkaloid, dan glikosida (Makkiyah dkk., 2021). Kandungan ini menjadikan

daun ungu sebagai sumber senyawa bioaktif dengan potensi farmakologis termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, analgesik, dan kemungkinan aktivitas antidiabetik atau sitotoksik (Priyanto *dkk.*, 2024a). Dalam kerangka ilmiah modern, *G. pictum* tidak hanya dipandang sebagai obat tradisional, tetapi juga sebagai kandidat bahan alam untuk pengembangan terapi farmasi. Misalnya, sebuah review terbaru menyimpulkan bahwa ekstrak daun ungu memiliki potensi terapeutik sebagai antioksidan, antibakteri, dan antikanker (Priyanto *dkk.*, 2024a).

Dengan demikian, Daun Ungu dapat didefinisikan sebagai: sebuah tumbuhan perdu dari famili *Acanthaceae*, dengan kandungan senyawa fitokimia beragam flavonoid, tanin, saponin, sterol, alkaloid, dan glikosida yang telah dipelajari secara empiris dan ilmiah karena potensi aktivitas biologisnya, terutama dalam aspek antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, analgesik, serta sifat farmakologis lainnya.

2. Klasifikasi

Berdasarkan Pharmaceutical Properties and Phytochemical Profile of Extract Derived from Purple *Leaf Graptophyllum pictum* (L.) Griff, klasifikasi taksonomi tanaman Daun Ungu yaitu:

- a. *Kingdom: Plantae*
- b. *Divisi: Magnoliophyta (Angiospermae / tumbuhan berbunga)*
- c. *Kelas: Magnoliopsida (dikotil)*
- d. *Ordo: Lamiales*
- e. *Famili: Acanthaceae*
- f. *Genus: Graptophyllum*
- g. *Spesies: Graptophyllum pictum (L.) (Dalimartha, 1999)*

3. Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Ungu

Daun ungu (*Graptophyllum pictum*) terdapat komponen senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan glikosida yang memiliki berbagai keuntungan bagi kesehatan. Flavonoid yang ada di dalamnya berfungsi sebagai antioksidan yang mampu melawan radikal bebas, sehingga melindungi tubuh dari kerusakan sel (Sartika dan Raden Bayu Indradi, 2021). Tanin, selain berfungsi sebagai antioksidan, juga memiliki sifat antiinflamasi yang membantu mengurangi peradangan (Sartika dan Raden Bayu Indradi, 2021). Saponin dalam daun ungu dipercaya memiliki efek antibakteri dan antiinflamasi, yang mendukung pengobatan berbagai penyakit (Cahyanda dkk., 2025).

Selain itu, alkaloid yang terkandung dalam daun ungu berfungsi menghambat produksi prostaglandin, yang berperan dalam proses inflamasi. Senyawa glikosida yang ada di dalamnya juga turut meningkatkan aktivitas terapeutik tanaman ini. Ekstrak daun ungu digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit, seperti inflamasi, radang sendi, bisul, dan penyakit kulit lainnya (Sartika & Indradi, 2021).

Penelitian menunjukkan bahwa daun ungu memiliki aktivitas farmakologis yang luas, termasuk antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri, dan kandungan senyawa bioaktifnya yang tinggi memungkinkannya untuk digunakan sebagai obat alami. (Cahyanda dkk., 2025).

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penting untuk memisahkan senyawa bioaktif dari sumber alami, seperti tumbuhan, dengan menggunakan pelarut yang tepat agar dapat menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas biologis. Menurut (Eprariana, Maulidia *dkk.*, 2025), ekstraksi bertujuan untuk melarutkan senyawa yang diinginkan dari bagian tanaman yang tidak larut, sehingga senyawa aktif dapat dipisahkan dan digunakan untuk aplikasi farmakologis. (Triyanti *dkk.*, 2025) juga menekankan bahwa ekstraksi melibatkan pemisahan simplisia, yaitu bahan tanaman yang telah dikeringkan, dari senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Metode ekstraksi umumnya dibedakan menurut ada tidaknya proses pemanasan. Tipe ekstraksi dari bahan alami yang sering dilakukan, yaitu:

1. Maserasi: Maserasi merupakan proses pengambilan yang dilakukan dengan cara merendam simplisia (bagian tanaman yang digunakan) dalam pelarut pada suhu kamar selama periode waktu tertentu. Proses ini memanfaatkan perbedaan konsentrasi antara senyawa aktif di dalam sel tanaman dan pelarut, yang menyebabkan senyawa aktif larut ke dalam pelarut. Menurut Triyanti *dkk.*, (2025) menjelaskan bahwa metode ini sangat sederhana dan digunakan untuk mengekstrak senyawa dari kulit buah naga, dengan rendemen ekstrak mencapai 16,29%. Namun, meskipun mudah, metode maserasi memiliki kelemahan, yaitu membutuhkan waktu yang lama dan menggunakan pelarut dalam jumlah banyak.
2. Perkolasi: Perkolasi merupakan metode ekstraksi di mana pelarut dialirkan secara perlahan melalui bahan tanaman untuk melarutkan senyawa aktif. Metode ini dilakukan pada suhu kamar dan lebih efisien dalam penggunaan pelarut

dibandingkan dengan maserasi. Proses ini biasanya digunakan untuk senyawa yang lebih tahan terhadap pelarut dan suhu (Triyanti *dkk.*, 2025).

3. Sokletasi: Sokletasi adalah metode ekstraksi yang melibatkan pemanasan berulang pada pelarut untuk mengekstrak senyawa aktif dari bahan tanaman. (Eprariana, Maulidia *dkk.*, 2025) menyatakan bahwa sokletasi lebih efisien untuk ekstraksi senyawa yang tahan terhadap suhu tinggi. Meskipun memberikan hasil yang lebih cepat dan efisien, sokletasi juga berisiko merusak senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi, sehingga harus digunakan dengan hati-hati untuk menghindari degradasi senyawa bioaktif (Triyanti *dkk.*, 2025).
4. Sonikasi: Sonikasi adalah modifikasi dari metode maserasi yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Gelombang ultrasonik menghasilkan tekanan mekanik pada sel, yang merusak dinding sel dan mempercepat pelepasan senyawa aktif ke dalam pelarut. (Tutik, Putri dan Lisnawati, 2022) menunjukkan bahwa metode ini lebih efisien dan dapat menghasilkan ekstrak yang lebih cepat dibandingkan maserasi, namun harus diperhatikan bahwa sonikasi dapat merusak struktur senyawa aktif jika tidak diatur dengan benar.
5. Ekstraksi Berbantuan Gelombang Mikro (MAE): MAE memanfaatkan gelombang mikro untuk memanaskan pelarut dengan cara yang konsisten, yang akan mempercepat ekstraksi dan meningkatkan hasil yang diperoleh. Menurut Eprariana, Maulidia *dkk.*, (2025) mengungkapkan bahwa MAE sangat efisien dalam mengekstrak senyawa bioaktif dalam waktu singkat, dengan penggunaan pelarut yang lebih sedikit dan efisiensi yang lebih tinggi. Namun, metode ini

membutuhkan peralatan khusus dan pelarut yang sesuai untuk mencapai hasil yang optimal (Triyanti *dkk.*, 2025).

6. Ekstraksi Berbantuan Ultrasonik (UAE): UAE menggunakan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan difusi pelarut ke dalam matriks tanaman dan meningkatkan pelepasan senyawa aktif (Eprariana, Maulidia *dkk.*, 2025) (2025) menunjukkan bahwa UAE menghasilkan ekstrak dengan senyawa bioaktif yang lebih banyak dalam waktu singkat, dengan suhu rendah yang membuatnya ideal untuk senyawa yang sensitif terhadap panas.

C. Pelarut

Dalam proses ekstraksi, pemilihan pelarut sangat bergantung pada sifat kelarutan senyawa yang ingin diekstraksi. Variasi jenis pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang diperoleh dari bahan tanaman. Oleh karena itu, pemilihan pelarut yang tepat sangat penting untuk mencapai hasil ekstraksi sampel yang paling efisien dan maksimal. Menurut (Listiawati, Nastiti dan Audina, 2022) Prinsip dasar ekstraksi adalah *like dissolves like*, yang berarti bahwa senyawa akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki sifat kelarutan yang serupa. Senyawa polar cenderung lebih mudah larut dalam pelarut polar, sementara senyawa nonpolar cenderung lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar. Oleh karena itu, saat memilih pelarut, hal-hal seperti selektivitas, ketersediaan, stabilitas, kemudahan penguapan, dan efisiensi biaya harus dipertimbangkan.

Pelarut umum yang digunakan dalam ekstraksi meliputi metanol, kloroform, air, dan etanol. Etanol, dengan tingkat polaritas yang cukup tinggi, sering digunakan

dalam ekstraksi senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid, dan polifenol dari berbagai bahan tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Pote dkk. (2024) menunjukkan bahwa etanol 70% dan 96% memiliki peran yang signifikan dalam ekstraksi senyawa aktif dari bahan tanaman, dengan perbedaan konsentrasi yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Pemilihan etanol 70% atau 96% didasarkan pada prinsip kelarutan pelarut dengan senyawa yang memiliki sifat serupa, di mana etanol 70% lebih cenderung mengekstrak senyawa yang lebih polar, sedangkan etanol 96% lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa yang lebih sedikit polar.

Berdasarkan penelitian (Pote dkk., 2024) ekstrak etanol 70% dari kulit batang Lino (*Grewia koordersiana* Burret) menghasilkan $IC_{50} = 10,55$ ppm, sementara ekstrak etanol 96% menghasilkan IC_{50} yang lebih tinggi, yaitu 10,99 ppm, menunjukkan bahwa etanol 70% lebih optimal dalam mengekstrak senyawa aktif dengan efek antioksidan yang lebih kuat. Sebaliknya, ekstrak etanol 96% pada ekstrak etil asetat (EA) menunjukkan IC_{50} yang lebih tinggi, yaitu 44,79 ppm, serta ekstrak n-heksan (EH) dengan IC_{50} yang jauh lebih tinggi yaitu 1627,12 ppm, yang mengindikasikan bahwa penggunaan pelarut dengan konsentrasi lebih tinggi seperti etanol 96% dapat mempengaruhi selektivitas ekstraksi senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan yang lebih lemah pada beberapa ekstrak tanaman. Hal serupa juga ditemukan dalam penelitian (Susiloningrum dan Sari, 2021) yang menunjukkan bahwa ekstraksi rimpang temu mangga dengan etanol 96% menghasilkan IC_{50} yang lebih rendah (75,06 ppm) dibandingkan dengan etanol 70% (88,51 ppm), yang berarti etanol 96% lebih efektif dalam mengekstrak senyawa aktif pada rimpang temu mangga. Dari kedua penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi etanol

mempengaruhi kelarutan senyawa flavonoid, di mana peningkatan kadar etanol dapat menurunkan kepolaran pelarut, yang pada gilirannya mempengaruhi selektivitas ekstraksi senyawa aktif, baik yang lebih polar maupun yang kurang polar.

D. Skrining Fitokimia

Metode analisis kualitatif yang dikenal sebagai skrining fitokimia digunakan untuk menemukan metabolit sekunder dalam sampel tanaman. Metode ini sangat membantu dalam mengeksplorasi bioaktif tanaman, yang dapat digunakan sebagai bahan baku untuk obat alami. Penelitian fitokimia dapat memberikan gambaran tentang struktur kimia, proses pembentukan, dan fungsi biologis senyawa. Hal ini juga mencakup isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai jenis tanaman yang memiliki potensi pengobatan (Novriyanti, Putri, & Rijai, 2022).

Skrining fitokimia biasanya menggunakan berbagai pereaksi kimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang ada dalam tanaman. Proses ini tidak hanya cepat dan efisien, tetapi juga memungkinkan peneliti untuk membedakan tanaman yang mengandung senyawa bioaktif tertentu dari tanaman yang tidak memilikinya. Oleh karena itu, skrining fitokimia sangat berguna dalam memberikan informasi dasar tentang senyawa yang ada dalam tanaman yang sedang diuji (Ali *dkk.*, 2022).

Pada daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.), skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa utama yang memberikan kontribusi terhadap aktivitas biologisnya, seperti antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi. Beberapa senyawa fitokimia utama yang ditemukan dalam daun ungu antara lain adalah

alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Penjelasan lebih lanjut mengenai setiap jenis senyawa tersebut dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Senyawa alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang banyak ditemukan dalam berbagai tanaman dan memiliki efek biologis yang kuat. Alkaloid dapat memberikan efek analgesik, antimikroba, antikanker, dan antihipertensi. Pada daun ungu, alkaloid ditemukan melalui uji Mayer dan Wagner, meskipun hasil uji ini menunjukkan hasil negatif pada tanaman tersebut. Meski demikian, alkaloid tetap dianggap penting dalam pengobatan tradisional untuk menangani penyakit infeksi dan gangguan saraf (Ali *dkk.*, 2022).

2. Senyawa flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang tergolong dalam kelompok fenolik dan terkenal karena kemampuannya yang kuat dalam bertindak sebagai antioksidan. Senyawa ini bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas, yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh. Di samping itu, flavonoid juga memiliki peran dalam menghambat aktivitas enzim yang berkontribusi pada proses peradangan, seperti siklooksigenase dan lipooksigenase. Penelitian yang dilakukan pada ekstrak daun ungu menunjukkan bahwa flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat akumulasi sel darah putih di area peradangan (Ali *dkk.*, 2022).

3. Senyawa fenol

Fenol merupakan senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin benzena. Senyawa ini dikenal memiliki kemampuan antioksidan yang sangat tinggi, yang berperan dalam melindungi tubuh dari kerusakan yang

disebabkan oleh radikal bebas. Fenol juga dikenal memiliki sifat antimikroba dan antiviral. Dalam penelitian yang dilakukan pada daun ungu, senyawa fenol ditemukan melalui uji dengan Pb asetat dan iodine yang menghasilkan perubahan warna yang menandakan adanya senyawa fenol (Saepudin *dkk.*, 2024).

4. Senyawa saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang memiliki efek antimikroba dan antidiabetes. Saponin bekerja dengan cara mengubah membran sel dan meningkatkan permeabilitasnya, sehingga mempermudah pengenalan dan perlawanan terhadap patogen. Saponin juga berfungsi sebagai antiinflamasi yang penting dalam pengobatan penyakit radang. Penelitian pada daun ungu menunjukkan adanya saponin melalui uji busa, yang menunjukkan pembentukan busa yang stabil (Ali *dkk.*, 2022).

5. Senyawa tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang dapat mengikat protein dan memiliki sifat antimikroba serta hemostatik. Tanin bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri, jamur, dan virus serta mempercepat penyembuhan luka. Pengujian dengan FeCl₃ menunjukkan adanya senyawa tanin pada daun ungu, yang memberikan karakteristik warna hijau hingga biru, menandakan keberadaan tanin. Tanin juga dikenal dapat mengatasi gangguan pencernaan dan radang (Ali *dkk.*, 2022).

6. Senyawa steroid/triterpenoid

Steroid dan triterpenoid merupakan senyawa yang dikenal memiliki efek antiinflamasi yang kuat. Senyawa ini bekerja dengan mengurangi peradangan dalam tubuh dan dapat membantu mengatasi masalah kulit serta gangguan pernapasan. Pada ekstrak daun ungu, senyawa ini terdeteksi melalui uji Liebermann-Burchard, yang

menunjukkan adanya reaksi positif, menandakan keberadaan steroid dan triterpenoid (Ali *dkk.*, 2022).

E. Antioksidan dan Pengujian Aktivitas Antioksidan

1. Definisi antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas, yang dapat mengurangi dampak merusak radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lipid. Jenis radikal bebas ini terbentuk dari proses metabolisme asam urat; radikal bebas pembentuk menjadi akut akibat suatu proses yang mengoksidasi asam urat dan lingkungan bebas. Terdapat dalam polusi, radiasi, pola makan yang buruk dll. Radikal bebas tanpa dikendalikan dapat menimbulkan kerusakan di tingkat seluler, menciptakan kondisi yang lebih ideal untuk munculnya penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker dan lain-lain. (Pratiwi *dkk.*, 2023).

Secara struktural, antioksidan bekerja dengan cara menyumbangkan elektron kepada radikal bebas tanpa merusak fungsinya, sehingga dapat menghentikan reaksi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas. Zat ini penting bagi tubuh untuk menjaga keseimbangan oksidatif dan melindungi tubuh dari kerusakan akibat stres oksidatif. Untuk itu, tubuh memanfaatkan senyawa antioksidan, baik yang bersifat enzimatik seperti superoksida dismutase, katalase, dan peroksiredoksin, maupun yang bersifat non-enzimatik seperti glutathione, vitamin A, C, E, serta β -karoten, yang banyak terdapat pada sayuran, buah-buahan, biji-bijian, dan kacang-kacangan. (Pratiwi *dkk.*, 2023).

2. Mekanisme antioksidan

Mekanisme utama kerja antioksidan terjadi melalui dua cara, yaitu transfer atom hidrogen (hydrogen atom transfer) dan transfer elektron (electron transfer). Dalam organisme hidup, antioksidan memiliki peran vital dalam melindungi berbagai biomolekul, seperti protein, asam nukleat, lemak tak jenuh ganda, dan karbohidrat, dari kerusakan yang disebabkan oleh reaksi oksidasi. Perlindungan ini penting untuk menjaga stabilitas struktur dan fungsi sel agar tetap berfungsi secara optimal. Berdasarkan fungsinya, mekanisme kerja antioksidan dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer berperan dalam mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan cara menghambat reaksi oksidasi berantai pada tahap propagasi serta menstabilkan molekul reaktif. Biasanya, antioksidan jenis ini berupa enzim endogen yang berfungsi sebagai pertahanan pertama tubuh dalam menghadapi stres oksidatif.

Beberapa enzim yang tergolong dalam kelompok antioksidan primer meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx). Enzim-enzim ini berfungsi secara sinergis untuk menetralkan spesies oksigen reaktif. Penjelasan lebih rinci mengenai mekanisme dan fungsi masing-masing enzim akan dibahas pada subbab selanjutnya.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder berperan dalam menghentikan reaksi oksidasi lanjutan dengan cara menangkap radikal bebas yang telah terbentuk. Kelompok antioksidan ini

umumnya terdiri atas senyawa non-enzimatik, terutama vitamin dan senyawa bioaktif tertentu.

Senyawa yang termasuk antioksidan sekunder antara lain β -karoten, vitamin C, dan vitamin E. Vitamin C berperan dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif, membantu proses regenerasi jaringan, serta mendukung pembentukan kolagen. Sementara itu, vitamin E berfungsi melindungi membran sel dari peroksidasi lipid, menekan proses peradangan, dan memperkuat sistem pertahanan tubuh. Kedua vitamin tersebut bekerja secara saling melengkapi dalam sistem antioksidan.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier sering disebut sebagai repair enzymes karena berperan dalam memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan ini tidak secara langsung menetralkan radikal bebas, melainkan memperbaiki biomolekul yang telah mengalami kerusakan akibat stres oksidatif.

Enzim yang tergolong sebagai antioksidan tersier meliputi metionin sulfosida reduktase, enzim perbaikan DNA, protease, transferase, serta lipase. Enzim-enzim tersebut berperan penting dalam proses pemulihan struktur sel dan pemeliharaan fungsi biologis sel.

3. Sumber antioksidan

Menurut (Nurkhasanah, Bachri dan Yuliani, 2023) ada dua kelompok antioksidan, menurut sumbernya:

a. Antioksidan Eksogen

Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh melalui konsumsi makanan. Senyawa ini berperan dalam membantu menjaga

keseimbangan sistem pertahanan tubuh terhadap paparan oksidan, terutama pada kondisi meningkatnya produksi radikal bebas.

Sumber utama antioksidan eksogen dapat ditemukan dalam buah dan sayuran berwarna yang mengandung karotenoid dan antosianin, serta berbagai rempah-rempah seperti jahe, temulawak, dan kunyit yang kaya akan senyawa bioaktif, termasuk kurkumin dan zingiberene. Antioksidan eksogen banyak diteliti dalam konteks pencegahan aterosklerosis karena kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid pada LDL.

Selain buah, sayuran, dan rempah-rempah, berbagai tanaman obat juga diketahui mengandung antioksidan eksogen. Salah satunya adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.), yang termasuk dalam sumber antioksidan eksogen berkat kandungan senyawa metabolit sekundernya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun ungu mengandung flavonoid, senyawa fenolik, tanin, dan alkaloid, yang memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi. Kandungan flavonoid dan fenolik pada daun ungu berperan penting dalam menetralkan spesies oksigen reaktif, sehingga dapat melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif.

Contoh lain tanaman yang mengandung antioksidan eksogen adalah *Hibiscus sabdariffa* L. (rosella). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rosella memiliki efek perlindungan terhadap hati dari kerusakan yang disebabkan oleh paparan parasetamol, karbon tetraklorida, dan streptozotocin. Selain itu, pemberian ekstrak rosella dilaporkan mampu menurunkan kadar enzim hati, seperti SGPT, SGOT, dan ALP, setelah paparan DMBA.

b. Antioksidan Endogen

Antioksidan endogen adalah antioksidan yang secara alami diproduksi oleh tubuh manusia. Kelompok ini meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPx), dan katalase (CAT), serta antioksidan non-enzim seperti glutathione.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim antioksidan endogen dapat meningkat sebagai respons terhadap meningkatnya spesies oksigen reaktif. Hal ini merupakan mekanisme adaptif tubuh untuk mengurangi dampak radikal bebas. Namun, pada kondisi tertentu seperti proses penuaan, stres, atau penyakit, kapasitas antioksidan endogen dapat menurun sehingga diperlukan dukungan dari antioksidan eksogen yang berasal dari bahan pangan maupun tanaman obat.

4. Metode Uji Aktivitas Antioksidan

a. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Metode DPPH, yang merupakan singkatan dari 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, adalah salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan secara *in vitro*. Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk berinteraksi dengan radikal bebas DPPH melalui mekanisme transfer atom hidrogen atau elektron. Ketika senyawa antioksidan tersebut berikatan dengan radikal bebas DPPH, radikal bebas tersebut akan mengalami perubahan menjadi bentuk yang lebih stabil dan nonreaktif. Proses ini memungkinkan penurunan intensitas warna ungu yang khas dari DPPH, yang dapat diukur untuk menentukan sejauh mana senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan.

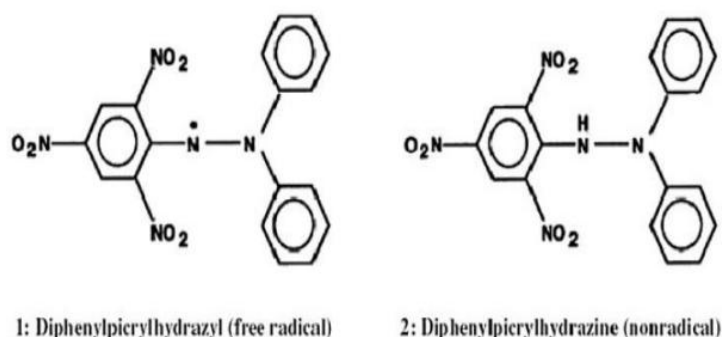
Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH memiliki beberapa keuntungan, di antaranya stabilitas radikal DPPH yang tinggi, ketahanannya terhadap

pembentukan dimer karena delokalisasi elektron bebas di seluruh molekul, serta ketidaktergantungan pada substrat tambahan. Keunggulan-keunggulan ini membuat metode DPPH lebih sederhana, praktis, dan memungkinkan waktu analisis yang relatif lebih cepat (Mudjiran & Karneli, 2024). Selain itu, metode ini bersifat serbaguna karena dapat diaplikasikan pada berbagai jenis sampel, termasuk sampel cair maupun padat, serta tidak terbatas pada jenis senyawa antioksidan tertentu (Mariani, Rahman dan Supriadi, 2018).

Prinsip dasar dari metode DPPH adalah mengukur kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menangkap radikal bebas DPPH secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Radikal DPPH adalah radikal stabil yang memiliki warna ungu tua dan menyerap cahaya secara maksimum pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Ketika larutan DPPH berinteraksi dengan senyawa antioksidan, atom hidrogen dari senyawa antioksidan tersebut akan berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan pada radikal DPPH. Proses ini menyebabkan terbentuknya senyawa non-radikal yang disebut diphenylpicrylhydrazine, yang memiliki warna kuning. Perubahan warna ini dapat diukur untuk menentukan tingkat aktivitas antioksidan senyawa yang diuji, dengan semakin besar perubahan warna, semakin kuat aktivitas antioksidannya. (Sakka dan Muin, 2023).

Perubahan warna dari ungu menjadi kuning pada larutan DPPH mengindikasikan adanya penurunan jumlah radikal bebas akibat aktivitas senyawa antioksidan. Penurunan absorbansi pada larutan DPPH menunjukkan jumlah atom hidrogen atau elektron yang berhasil ditangkap oleh senyawa antioksidan yang diuji. Proses ini terjadi karena senyawa antioksidan mampu mengikat radikal bebas DPPH dan

mengubahnya menjadi senyawa non-radikal yang tidak reaktif. Oleh karena itu, semakin besar penurunan nilai absorbansi yang tercatat selama pengujian, semakin besar pula kemampuan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh sampel yang diuji. Dengan kata lain, penurunan absorbansi secara langsung mencerminkan tingkat efektivitas senyawa tersebut dalam mengurangi radikal bebas, yang menjadi indikasi penting dari kekuatan antioksidannya (Rumyaan *dkk.*, 2022).



Sumber: (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019)

Gambar 2 Mekanisme DPPH Terhadap Aktivitas Antioksidan

b. IC₅₀ (Inhibition Concentration)

Parameter yang sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah nilai Inhibition Concentration (IC₅₀). IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang diperlukan untuk mengurangi aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50% atau untuk menghilangkan setengah sifat radikal DPPH. Senyawa dengan aktivitas antioksidan yang tinggi biasanya memiliki nilai IC₅₀ yang rendah, karena hanya membutuhkan konsentrasi yang relatif kecil untuk mencapai tingkat penghambatan tersebut (Rumyaan *dkk.*, 2022).

Berdasarkan nilai IC₅₀, potensi aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat dikelompokkan ke dalam beberapa kategori yang menggambarkan tingkat

efektivitasnya. Senyawa dianggap memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} -nya lebih kecil dari 50 ppm, yang berarti hanya dibutuhkan konsentrasi yang sangat rendah untuk mengurangi aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%. Sedangkan, senyawa dengan nilai IC_{50} antara 50 hingga 100 ppm dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, menunjukkan bahwa senyawa tersebut masih membutuhkan konsentrasi yang relatif rendah namun sudah dapat memberikan penghambatan yang signifikan terhadap radikal bebas. Jika nilai IC_{50} berada dalam rentang 100 hingga 150 ppm, senyawa tersebut termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang, yang berarti senyawa ini memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang lebih kuat untuk mencapai penghambatan yang sama. Terakhir, apabila nilai IC_{50} berada di kisaran 151 hingga 200 ppm, senyawa tersebut digolongkan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, karena dibutuhkan konsentrasi yang cukup besar untuk memberikan efek penghambatan terhadap radikal bebas. Klasifikasi ini membantu dalam memahami seberapa efektif suatu senyawa berfungsi sebagai antioksidan berdasarkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mencapai penghambatan radikal bebas tertentu. (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019).

Semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh, semakin tinggi pula efektivitas antioksidan dari suatu ekstrak atau senyawa. Ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat menghambat radikal bebas dalam jumlah yang signifikan meskipun pada konsentrasi yang lebih rendah, sehingga memiliki potensi antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa yang memiliki nilai IC_{50} lebih tinggi. (Souhoka dkk., 2019).

Tabel 1. Kategori Nilai IC₅₀ terhadap Aktivitas Antioksidan

Nilai IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah
>200	Sangat lemah

Sumber: (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019)

c. AAI (*Antioxidant Activity Indeks*)

Antioxidant Activity Indeks merupakan parameter yang digunakan untuk menstandarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan berbasis metode DPPH. Nilai AAI berfungsi sebagai indikator kuantitatif untuk mengelompokkan tingkat kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa atau sediaan, sehingga memudahkan perbandingan antar sampel yang diuji dengan kondisi pengujian yang berbeda.

Nilai AAI diperoleh dari perbandingan antara konsentrasi radikal DPPH yang digunakan dengan nilai IC₅₀ sampel uji. Melalui pendekatan ini, potensi antioksidan dapat dinilai secara lebih objektif dan terstandarisasi. Semakin besar nilai AAI yang dihasilkan, maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas.

Berdasarkan klasifikasi yang dikemukakan oleh Sawiji & La (2021) aktivitas antioksidan dapat dibedakan ke dalam beberapa tingkat. Sampel dengan nilai AAI lebih dari 2,0 ppm dianggap memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Jika nilai AAI berada dalam rentang 1,0–2,0 ppm, sampel tersebut dikategorikan memiliki

aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan dianggap sedang apabila nilai AAI berada antara 0,5–1,0 ppm. Sementara itu, apabila nilai AAI yang diperoleh kurang dari 0,5 ppm, maka aktivitas antioksidan sampel tersebut diklasifikasikan sebagai lemah.

Tabel 2. Kategori Nilai AAI terhadap Aktivitas Antioksidan

Nilai AAI (ppm)	Kategori
>2,0	Sangat kuat
1,0-2,0	Kuat
0,5 - 1,0	Sedang
<0,5	Lemah

Sumber:(Sawiji dan La, 2021)