



Review Metode Uji Aktivitas Antioksidan dalam Riset Bahan Alam

**Putri Novianur Ramadhani^{1*}, Fathiyatur Rahmah², Nur Luthfia Salim³,
Silvia Rismawati⁴, Nurul Mas'adah⁵, Rina⁶, Zalmiati⁷, Padma Azzahra Ramadhani⁸**
Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin¹⁻⁸

*Email Korespondensi: putrynr123@gmail.com

Diterima: 20-07-2025 | Disetujui: 30-07-2025 | Diterbitkan: 02-08-2025

ABSTRACT

*Prolonged exposure to free radicals can lead to oxidative stress, which contributes to the onset of several degenerative conditions, including cancer, heart diseases, and type 2 diabetes. Antioxidants function by counteracting free radicals through the transfer of electrons or hydrogen atoms. This review intends to examine various approaches for measuring antioxidant activity and to investigate the healing potential of plant extracts. The review of literature was conducted utilizing scientific papers released in recent years, centering on antioxidants. assays addressed comprise DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, and CUPRAC, each having unique benefits and drawbacks regarding sensitivity, specificity, and suitability for different compounds and solvents. The analyzed research suggests that botanical extracts such as *Garcinia hombroniana*, *Xylocarpus granatum*, *Uncaria sclerophylla*, and *Melastoma malabathricum* demonstrate significant antioxidant properties, with IC_{50} values that are similar to or even beneath those of the standard antioxidants like vitamin C and quercetin. These results endorse the possible application of bioactive compounds sourced from plants as natural antioxidants resources for preventing and addressing degenerative diseases*

Keywords: Antioxidants, Free radicals, Antioxidan method, Plant extracts

ABSTRAK

Paparan yang berlebihan terhadap radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif, yang juga berkontribusi pada percepatan timbulnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, masalah jantung, dan diabetes tipe 2. Antioksidan berfungsi dengan menetralkan radikal bebas melalui mekanisme penyerahan elektron atau atom hidrogen. Tujuan dari studi ini adalah untuk menilai berbagai teknik pengujian aktivitas antioksidan serta mengkaji potensi ekstrak tanaman sebagai agen terapeutik. Tinjauan pustaka dilakukan berdasarkan artikel ilmiah. Metode yang dianalisis meliputi DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, dan CUPRAC, yang masing-masing memiliki kelebihan dan batasan dalam hal sensitivitas, spesifisitas, serta kesesuaian terhadap berbagai jenis senyawa dan pelarut. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak dari tumbuhan seperti *Garcinia hombroniana*, *Xylocarpus granatum*, *Uncaria sclerophylla*, dan *Melastoma malabathricum* menampilkan aktivitas antioksidan yang signifikan, dengan nilai IC_{50} yang sebanding atau bahkan lebih unggul dibandingkan kontrol standar seperti vitamin C dan kuersetin. Hasil ini mendukung penggunaan senyawa alami dari tanaman sebagai sumber antioksidan yang menjanjikan dalam pencegahan dan pengobatan penyakit degeneratif.

Katakunci: Antioksidan, Radikal bebas, Metode antoksidan, Ekstrak tumbuhan

Bagaimana Cara Sitasi Artikel ini:

Putri Novianur Ramadhani, Fathiyatur Rahmah, Nur Luthfia Salim, Silvia Rismawati, Nurul Mas'adah, Rina, R., Zalmiati, Z., & Padma Azzahra Ramadhani. (2025). Review Metode Uji Aktivitas Antioksidan dalam Riset Bahan Alam. *Journal of Literature Review*, 1(2), 501-519. <https://doi.org/10.63822/jxxz8r44>

PENDAHULUAN

Radikal bebas merujuk pada senyawa yang memiliki elektron tunggal yang tidak berpasangan, yang membuatnya sangat reaktif dan cenderung tidak stabil. Keberadaan senyawa ini ditubuh dapat memicu kerusakan sel yang dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit, seperti kanker, masalah kardiovaskular, serta penyakit degeneratif lainnya. Ketika tubuh terpapar radikal bebas secara berlebihan, sistem pertahanan alami berupa antioksidan endogen menjadi tidak mampu menetralkannya, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar. Jika jumlah radikal bebas dalam tubuh terlalu tinggi, dapat menyebabkan kerusakan DNA dan menonaktifkan fungsi berbagai enzim penting. Dalam hal ini, antioksidan berperan penting untuk menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron, sehingga menghambat proses oksidasi (Ruskim *et al.*, 2023). Berdasarkan World Health Organization (2022), penyakit yang bukan menular berkontribusi 74% Setiap tahun, lebih dari 17 juta orang di seluruh dunia meninggal akibatnya dan disebabkan oleh penyakit jantung dan kanker. Situasi ini mengarahkan pencarian untuk antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh, terutama yang bersumber dari tanaman, yang dianggap lebih aman dan lebih efektif daripada antioksidan buatan. Metode pengujian yang paling umum digunakan untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan mencakup DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) atau kapasitas penyerapan radikal oksigen, kandungan senyawa fenolik total, ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)), serta CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) atau kapasitas pengurangan antioksidan kuprik merupakan metode untuk mengukur aktivitas antioksidan, which comprehensively reveals the potential of compounds in combating oxidative stress and maintaining biological balance (Aryanti *et al.*, 2021). Namun, penelitian yang membandingkan efektivitas metode-metode tersebut secara menyeluruh berdasarkan jenis senyawa, pelarut, dan Parameter evaluasi yang ada masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi berbagai metode secara mendalam pada pengujian aktivitas antioksidan dan menilai potensi ekstrak tumbuhan dalam mendukung pengobatan penyakit degeneratif, dengan tujuan menetapkan pendekatan metodologis yang paling sesuai dalam penelitian bahan alami.

LANDASAN TEORITIS

Antioksidan merupakan senyawa penting yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas, melindungi sel dari kerusakan, antioksidan memiliki kemampuan untuk menangkal atau menetralkan radikal bebas, yang dapat mencegah kerusakan pada sel normal, protein, dan lemak. Dengan demikian, antioksidan berperan penting dalam mencegah penyakit degeneratif, termasuk gangguan kardiovaskular, karsinogenesis, serta berbagai penyakit lainnya (Kusumawardhani & Pujiastuti, 2025).

Antioksidan berperan sebagai garis pertahanan utama melawan radikal bebas. Meskipun tubuh manusia dilengkapi dengan sistem antioksidan berupa enzim, kadang jumlahnya tidak cukup untuk mengatasi paparan radikal bebas yang berlebihan. Oleh karena itu, suplemen antioksidan diperlukan, yang secara umum dibedakan menjadi dua kategori: alami dan sintetis. Antioksidan alami umumnya lebih aman karena memiliki tingkat racun yang rendah. Di sisi lain, antioksidan buatan sering kali menimbulkan kegelisahan karena berpotensi bersifat karsinogenik, yang berarti dapat menyebabkan kanker (Lestari *et al.*, 2021). Senyawa antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan antara lain berasal dari kelompok polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, beta-karoten, dan katekin (Lestari *et al.*, 2021).

Banyak cara telah dibuat untuk menilai kemampuan antioksidan dari suatu senyawa atau ekstrak

tanaman. Adapun metode DPPH dan ABTS merupakan dua teknik yang sering diterapkan, karena kemudahan dalam pelaksanaannya dan kecepatan responsnya, meskipun terdapat keterbatasan dalam sistem pelarut dan selektivitas terhadap jenis radikal tertentu. Metode FRAP mengukur kemampuan senyawa untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , mencerminkan potensi penangkal radikal bebas dalam proses reduksi oksidatif, while ORAC assesses the ability of compounds to prevent the degradation of target molecules by peroxy radicals. CUPRAC emerges as a superior alternative method because it functions at physiological pH and is capable of detecting the activity of both polar and non-polar compounds.

Penelitian sebelumnya mengungkapkan perbedaan yang signifikan dalam tingkat aktivitas antioksidan tergantung pada teknik yang diterapkan, tipe pelarut ekstraksi, dan spesies tanaman. Sebagai contoh, ekstrak etil asetat dari daun karamuntingMenampilkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} 2,24 μg per mL melalui penggunaan metode ABTS, sementara fraksi dari daun melinjo menunjukkan aktivitas sedang hingga kuat menggunakan metode CUPRAC. Temuan ini menyoroti pentingnya pemilihan metode yang sesuai dalam menginterpretasikan aktivitas farmakologi ekstrak tumbuhan. Oleh sebab itu, penelitian ini diselenggarakan untuk menggali pemahaman yang lebih dalam mengenai keunggulan dan keterbatasan setiap metode, serta bagaimana keterkaitannya dalam eksplorasi bahan alam yang memiliki potensi besar sebagai agen terapeutik untuk penyakit degeneratif.

METODE PENELITIAN

Studi literatur ini menganalisis publikasi akademik dalam lima tahun terakhir yang membahas penilaian aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman. Pemilihan sumber dilakukan berdasarkan kualitas metodologi serta relevansinya dengan topik penelitian. Tinjauan mencakup berbagai teknik pengujian antioksidan, seperti DPPH, FRAP, ABTS, ORAC, dan CUPRAC. Sumber data diperoleh dari jurnal terindeks Scopus, SINTA, PubMed, dan BMC Chemistry, yang mencakup baik penelitian eksperimental maupun artikel tinjauan. Tujuan dari kajian ini untuk menganalisis perbandingan secara mendalam antara berbagai aspek yang relevan. berbagai jenis metode dalam menilai kemampuan antioksidan dari berbagai senyawa bioaktif tanaman yang berperan dalam menghambat proses oksidatif yang berkontribusi terhadap penyakit degeneratif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Metode DPPH			
Spesies	Hasil Percobaan	Prosedur kerja	Referensi
Daun Manggis Hutan (<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre)	Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun manggis hutan memiliki potensi aktivitas yang signifikan.tertinggi mencapai 32,67%, sedangkan fraksi M3 dari ekstrak metanol mencapai 37,42%. Kedua fraksi tersebut menunjukkan potensi aktivitas antioksidanyang relatif sebanding.	Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yang dimodifikasi dari Bobo-García et al.Sebanyak 20 μL sampel dicampur dengan 180 μL larutan DPPH (150 $\mu\text{mol/L}$) dalam mikrolat. Kontrol menggunakan metanol dan DPPH, sedangkan blanko hanya metanol. Setelah dikocok 60 detik, Larutan dibiarkan selama	(Triadisti, 2018)

		40 menit dalam keadaan terlindung dari cahaya dengan suhu 20°C hingga 25°C. Absorbansi ditetapkan pada panjang gelombang 516 nm menggunakan mikroplat reader.	
Biji Buah Nyirih (Bakau) (<i>Xylocarpus Granatum</i>)	Hasil ekstrak etanol biji buah nyirih (<i>Xylocarpus granatum</i>) memiliki potensi sebagai antioksidan dengan aktifitas yang sangat tinggi pada nilai IC50 sebesar 8,27 ppm. Mendekati vitamin C (6.40 ppm).Aktivitas ini didasarkan pada keberadaan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Metode DPPH yang diterapkan cukup mudah dan efisien untuk penilaian awal.	Uji antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan dengan 1 mL ekstrak etanol biji nyirih (2–10 ppm) atau asam askorbat dengan sebanyak 2 mL DPPH 40 ppm dalam etanol 70% dicampurkan dan dibiarkan pada ruangan tertutup selama 30 menit. Setelah itu, nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentase hambatan dihitung, kemudian nilai IC50 ditetapkan untuk mengevaluasi kekuatan aktivitas antioksidan.	(Mutmainna Tamrin <i>et al.</i> , 2024)
Daun, Kulit, Buah dan Biji (<i>Diospyros foxworthyi</i>)	Uji kapasitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa persentase inhibisi sangat tinggi (di bawah 50 µg/mL) untuk semua bagian tanaman <i>D. foxworthyi</i> . Secara keseluruhan, ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada batang dengan nilai IC ₅₀ sebesar 5,32 & 181 g/mL.	Sebanyak 20 µL ekstrak sampel (konsentrasi 2–16 µL/mL) dan quercetin sebagai kontrol positif (konsentrasi 1, 2, 3, 3.5, dan 3.75 & 181 gram per mL) dicampurkan dengan 180 µL larutan DPPH dalam metanol (150 µM) pada mikroplat 96 sumur, kemudian dikocok selama 60 detik untuk homogenisasi. Selanjutnya, larutan dibiarkan dalam keadaan gelap pada suhu 20°C hingga 25°C selama lebih dari 40 menit, lalu dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 515 nm. Penelitian dilaksanakan sebanyak tiga kali (triplo).	(Cleam <i>et al.</i> , 2025)
Daun Gambir (<i>Uncaria sclerophylla</i>) (W.Hunter) Roxb.	Hasil uji aktivitas antioksidan Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun <i>Uncaria sclerophylla</i> memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai EC ₅₀ sebesar 9,94 ± 0,1572 µg/mL. Fraksi terbaik dari ekstrak metanol, yaitu FMet5, memiliki nilai EC ₅₀ sebesar 6,07 ± 0,125 µg/mL. Data ini mengindikasikan bahwa daun <i>U. sclerophylla</i> mengandung senyawa antioksidan dengan potensi yang cukup tinggi.	Metode DPPH is utilized to assess antioxidant activity. Sebanyak 20 µL sampel dicampur dengan 180 µL larutan DPPH 150 µmol/L dalam microwell. Campuran dikocok 1 menit, Larutan dibiarkan dalam kegelapan selama 40 menit pada 20°C hingga 25°C, lalu absorbansinya diukur pada panjang gelombang 516 nm. Aktivitas antioksidan dengan persentase pengurangan radikal DPPH. Nilai EC50 ditentukan	(Triadisti <i>et al.</i> , 2025)

		dari Konsentrasi contoh yang mampu mengikat 50% radikal DPPH.	
Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.)	Penguji aktivitas antioksidan produk <i>Clitoria Gummy</i> menunjukkan hasil bahwa kedua formula mempunyai aktivitas antioksidan dengan kategori sedang. Nilai IC ₅₀ untuk formula 1 adalah 116,454 ppm, sedangkan untuk formula 2 adalah 115,619 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa kedua produk memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas yang cukup baik.	Metode DPPH (0,05 mM) digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan <i>Clitoria Gummy</i> . Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan kadar tertentu seperti, 1–5 ppm, while two gummy formulations were tested pada variasi pengenceran seperti 20, 40, 60, 80, and 100 ppm. Each sample is mixed with a DPPH solution, then allowed to stand and its absorbance diukur pada panjang gelombang 517,2 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung persentase inhibisi dan menentukan nilai IC ₅₀ masing-masing sampel.	(Kusumawardhani & Pujiastuti, 2025)
Metode FRAP			
Spesies	Hasil Percobaan	Prosedur Kerja	Referensi
Daun Manggis Hutan (<i>Garcinia hombroniana pierre</i>)	Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak <i>Garcinia hombroniana pierre</i> metode FRAP, fraksi EA11 dari ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas tertinggi sebesar 25.73%, diikuti oleh fraksi EA8 yang mencapai 22.37%. Sementara itu, fraksi M3 dari ekstrak metanol menampilkan aktivitas tertinggi di antara fraksi MeOH dengan nilai 26.70%, sekaligus menjadi yang tertinggi secara keseluruhan. Aktivitas antioksidan itu diduga berasal dari adanya senyawa yang mampu menyumbangkan elektron, hidrogen, atau kemungkinan dampak sinergis antara senyawa aktif dalam fraksi.	Uji kemampuan antioksidan dengan reagen FRAP dilaksanakan secara in vitro berdasarkan metode Pereira dengan sejumlah modifikasi. Sebanyak 30 µL larutan sampel dimasukkan ke dalam mikrotitris, selanjutnya ditambahkan 270 µg/mL reagen FRAP. Campuran tersebut diinkubasi, lalu absorbansinya diukur. Sebagai blanko digunakan campuran 30 µL metanol dan 270 µL reagen FRAP.	(Triadisti, 2018)
Daun, Kulit, Buah dan Biji (<i>Diospyros foxworthyi</i>)	Ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi ada pada batang, yang memiliki nilai sebesar 14,71 mmol FeSO ₄ /g.	Uji kemampuan antioksidan FRAP merujuk pada metode Pereira <i>et al.</i> (2017) dengan beberapa modifikasi. Sampel ekstrak sejumlah 30 µg/L (Daun (2,5 µL/mL), batang (1 µL/mL), buah (2,5 µL/mL), biji (2 µL/mL), dan quercetin sebagai kontrol positif (0,5 µL/mL)	(Cleary <i>et al.</i> , 2025)

		dicampurkan dengan 270 μ L reagen FRAP II (yang terdiri dari larutan buffer asetat 10 mmol/L, Tris Pyridyl Triazine 10 mmol/L, dan besi (III) klorida heksahidrat 20 mmol/L dengan rasio 10:1:1). Campuran tersebut diinkubasi selama 5 menit, lalu absorbansinya diukur pada panjang gelombang 595 nm. (blanko) mengandung 30 &181g/mL metanol dan 270 &181g/mL reagen	
Daun Gambir (<i>Uncaria sclerophylla</i>)	Hasil uji antioksidan dengan metode FRAP ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi EC_{50} FRAP: $9,50 \pm 0,319$ μ g/mL raksi terbaik yang menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi FMet5 dengan nilai EC_{50} sebesar $8,89 \pm 0,1701$ μ g/mL. Selain FMet5, beberapa fraksi lain seperti FMet4 dan FMet6 juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup kuat dengan nilai EC_{50} masing-masing sebesar $7,06 \pm 0,0751$ μ g/mL dan $11,14 \pm 0,4890$ μ g/mL. Fraksi dari ekstrak etil asetat seperti FEa9 juga menunjukkan aktivitas tinggi dengan nilai EC_{50} FRAP sebesar $6,89 \pm 0,0569$ μ g/mL.	Sebanyak 30 μ L sampel dimasukkan ke dalam sumur mikrotiter, kemudian dilakukan pencampuran dengan 270 μ L reagen FRAP. Campuran tersebut kemudian dilanjutkan ke proses inkubasi yang dilakukan 5 menit, absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 593 nm menggunakan pembaca mikroplate pada suhu ruang. Nilai kapasitas antioksidan dihitung berdasarkan persentase reduksi dan digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} dari setiap sampel.	(Triadisti et al., 2025)
Kulit Biji dan Buah Bakau (<i>Xylocarpus granatum J.Koenig</i>)	Ekstrak etanol kulit biji dan buah bakau menunjukkan aktivitas antioksidan, yang terlihat dari nilai Reducing Power 50 (RPs) masing-masing sebesar 4.455,63 μ g/mL dan 15.556,32 μ g/mL.	Larutan sampel disiapkan dengan melarutkan 100 mg ekstrak bakau dalam metanol pro analisis hingga volume mencapai 1 mL, sementara larutan standar dibuat dengan 10 mg asam galat dalam 10 mL aquadest. Reagen FRAP yang digunakan terdiri dari natrium asetat 300 mM (0,19 g + 1,6 mL asam asetat glasial $\rightarrow$ 100 mL), TPTZ (0,031 g dalam 10 mL HCl 40 mM), dan $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0,0541 g dalam 10 mL aquadest). Sebanyak 20 μ L sampel atau standar kemudian digunakan untuk pengujian. Larutan tersebut ditetaskan ke dalam 96-well plate (dalam triplikat), kemudian ditambahkan 280 μ L reagen	(Wardani et al., 2025)

		FRAP, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 492 nm.	
Daun Jati (<i>Tectona grandis</i>)	Aktivitas antioksidan ekstrak butanol daun jati (<i>Tectona grandis</i>) tercatat sebesar 70,848 ppm µg/ml, yang mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dan termasuk dalam kategori kuat. Meskipun demikian, nilai tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C yang digunakan sebagai pembanding.	Larutan ekstrak 1000 ppm diambil 0,6–1,0 mL, diencerkan dengan etanol menjadi 60–100 ppm. Sebanyak 1 mL dari masing-masing Konsentrasi pencampuran 1 mL buffer fosfat dan 1 mL kalium ferrisianida, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Selanjutnya, penambahan 1 mL TCA, disentrifugasi, dan dicampurkan dengan 1 mL akuades serta 0,5 mL FeCl ₃ 0,1%. Lalu pengukiran nilai absorbansi dan dibandingkan dengan kurva baku vitamin C.	(Fitriyati <i>et al.</i> , 2024)
Metode ABTS			
Spesies	Hasil Percobaan	Prosedur Kerja	Referensi
Kulit batang Faloak (<i>Sterculia qudarifida R.Br</i>)	Pada uji ABTS, ekstrak etanol 80% kulit batang Faloak menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan, dengan persentase inhibisi 80,93% pada konsentrasi 125 ppm, terlihat sebagai noda putih dengan latar belakang biru-hijau.	Prosedur KLT bioautografi dilakukan dengan menyempatkan larutan ABTS ke plat KLT. Larutan ABTS disiapkan dengan melarutkan 7,1 mg ABTS dan 3,5 mg Kalium persulfat dilarutkan dalam 5 mL aquades, diinkubasi 12 jam dalam ruang gelap, lalu dicampur dan ditambah aquades hingga 25 mL. Noda putih pada latar biru-hijau menunjukkan adanya aktivitas antioksidan.	(Ruskim <i>et al.</i> , 2023)
Daun Tekelan (<i>Chromolacna odorata L.</i>)	Uji antioksidan ekstrak etanol daun tekelan menggunakan metode ABTS menunjukkan bahwa teknik pengeringan mempengaruhi aktivitas antioksidan. Pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung menghasilkan aktivitas terbaik (IC ₅₀ 10,645 µg/mL), yang termasuk kategori kuat, sementara nilai IC ₅₀ lainnya adalah 28,909; 22,984; dan 27,639 µg/mL. Vitamin C sebagai pembanding memiliki IC ₅₀ 4,558 µg/mL.	Larutan ABTS dibuat dari 7,1 g ABTS dan 3,5 g K ₂ S ₂ O ₈ , masing-masing dalam 5 mL aquadest, dicampur, diinkubasi 14 jam, lalu diencerkan dengan etanol hingga 25 mL. λmaks ditentukan pada 600–800 nm. Uji antioksidan dilakukan dengan ekstrak 8–40 ppm, ditambah 1 mL ABTS, diencerkan hingga 5 mL, diinkubasi 30 menit, lalu diukur pada 750,8 nm.	(Pratiwi & Fausia, n.d.)
Daun Karamunting (<i>Melastoma Malabatchhrium L.</i>)	Uji antioksidan metode ABTS pada λmaks 745 nm dan waktu stabil 38–42 menit menunjukkan ekstrak etil asetat daun karamunting memiliki IC ₅₀ 2,2419	Larutan ABTS dibuat dari 7.100 mg ABTS dan 3.500 mg kalium persulfat dalam etanol hingga 25 mL, diinkubasi 12 jam dalam ruang gelap. Kuersetin (1–5	(Muthia, 2024) (SALIM)

	µg/mL, lebih kuat dari kuersetin (2,6821 µg per mL). Mengidentifikasi kandungan senyawa tanaman dengan skrining fitokimia untuk melihat metabolit sekunder tanaman berupa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, dan steroid. Aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat.	µg/mL) digunakan sebagai pembanding. λmaks ditentukan pada 400–800 nm, dan waktu stabil diukur selama 60 menit. Uji dilakukan dengan mencampur ABTS dan sampel, dikocok, diinkubasi, lalu diukur pada λmaks. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus: $((A_o - A_s) / A_o) \times 100\%$.	
Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray)	Uji antioksidan ekstrak daun kembang bulan dengan metode ABTS pada λ 753 nm menunjukkan bahwa pelarut polar, seperti etil asetat (IC₅₀ 106,47 µg/mL), lebih efektif dibandingkan pelarut non-polar seperti n-heksan (IC₅₀ 191,57 µg/mL), sementara pelarut polar (etanol 70%) memiliki IC₅₀ lebih rendah (56,71 µg/mL). Vitamin C sebagai kontrol memiliki IC₅₀ 10,46 µg/mL.	Larutan ABTS dibuat dengan mencampur 10 mL ABTS 7,4 mM dan 10 mL K₂S₂O₈ 2,45 mM, disimpan selama 24 jam dalam gelap, lalu diencerkan dengan etanol p.a hingga 50 mL (Shalaby & Shanab, 2013). Uji antioksidan dilakukan dengan mencampurkan 1 mL sampel pada berbagai konsentrasi dengan 1 mL ABTS dan etanol p.a hingga volume 5 mL, diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur serapannya pada 753 nm. Hasil dihitung berdasarkan persen inhibisi dan IC₅₀.	(Nursamsiar, 2021)
Daun Salam (<i>Zyzygium polyanthum</i>)	Fraksi etil asetat daun salam 1,5% menghasilkan masker gel peel-off dengan aktivitas antioksidan sangat kuat (IC₅₀ 46,6954 ppm). Formula I (0,5%) dan II (1%) memiliki aktivitas kuat dengan IC₅₀ masing-masing 67,4243 ppm dan 59,7467 ppm.	Larutan ABTS dibuat dengan mencampurkan 5 mL ABTS (18 mg/5 mL) dan 5 mL kalium persulfat (14 mg/20 mL).diinkubasi 12–16 jam pada 22–24 °C. Masker gel fraksi etil asetat daun salam (10 mg/10 mL) diencerkan jadi 30–70 ppm, dicampur 0,5 mL dengan 2 mL ABTS, diinkubasi, lalu diukur pada λmaks.	(Lukita <i>et al.</i>, 2024)
Metode ORAC			
Spesies	Hasil Percobaan	Prosedur Kerja	Referensi
Buah Chupón / Quiscal (<i>Greigia sphacelata</i> (Ruiz & Pav.) Regel	Ekstrak buah <i>Greigia sphacelata</i> menggunakan metode ORAC mencapai 3525 µmol/100 g ekuivalen Trolox (ET), dihitung dari luas kurva absorbansi kinetik dengan molekul target pyrogallol red dan radikal AAPH. Meski nilainya tinggi, secara relatif lebih rendah dibanding metode DPV (724 µmol/100 g ET). Namun, korelasi antara keduanya sangat kuat (r = 0,969), menunjukkan ORAC tetap valid dan dapat dijadikan metode yang baik, meski sebaiknya dilengkapi	Metode ORAC dilakukan dengan menambahkan senyawa AAPH sebagai inisiator radikal bebas ke dalam sistem yang mengandung pyrogallol red (PGR) sebagai molekul target. Radikal bebas dari AAPH akan mengoksidasi PGR, menyebabkan penurunan absorbansi. Kehadiran senyawa antioksidan akan memperlambat laju penurunan tersebut karena mampu menetralkan radikal bebas. Absorbansi diamati setiap menit selama 90 menit pada	(Aravena-Sanhueza <i>et al.</i>, 2020).

	dengan metode lain seperti DPV untuk hasil yang lebih menyeluruh.	panjang gelombang 540 nm. Kapasitas antioksidan.	
Biner quercetin dan turunan 3-(3,4,5-trihydroxybenzoyl) coumarin	Metode ORAC-FL dan ORAC-PGR. Quercetin digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan Quercetin (Q), turunan kumarin (C), dan kombinasinya menunjukkan aktivitas tertinggi pada kedua metode (ORAC-FL: 4,10 μ M TE; ORAC-PGR: 2,11 μ M TE), sedangkan C memiliki aktivitas lebih rendah (ORAC-FL: 1,09 μ M TE; ORAC-PGR: 0,19 μ M TE). Kombinasi Q:C menunjukkan efek bervariasi tergantung rasio, dari sinergis hingga antagonis. Rasio Q:C 9:1 menghasilkan aktivitas tertinggi (ORAC-FL: 4,88 μ M TE; ORAC-PGR: 2,48 μ M TE). Kedua metode menunjukkan linearitas tinggi ($R^2 > 0,999$), menandakan hasil yang sangat baik.	Metode ORAC-FL dilakukan dengan mencampurkan 20 μ L sampel atau standar Trolox (6,25–100 μ M) dengan 200 μ L fluorescein 70 nM dalam buffer fosfat pH 7,4, diinkubasi selama 10 menit, lalu ditambahkan 80 μ L AAPH 220 mM. Fluoresensi diukur setiap menit selama 60 menit dengan Panjang gelombang eksitasi adalah 485 nm dan emisi 520 nm pada suhu 37°C dan hasilnya dinyatakan sebagai Trolox Equivalent (TE) berdasarkan luas kurva (AUC). Sementara itu, metode ORAC-PGR dilakukan dengan mencampurkan 20 μ L sampel dengan 150 μ L larutan pyrogallol red (PGR) 40 μ M, diinkubasi selama 10 menit, lalu ditambahkan 30 μ L AAPH 20 mM. Absorbansi diukur setiap 30 menit pada Panjang gelombang 540 nm dan suhu 37 °C. Nilai ORAC diperoleh dari laju penurunan absorbansi dibandingkan dengan blanko, dan hasilnya juga dinyatakan dalam satuan TE.	(Va, 2022)
Terong Susu (<i>Solanum mammosum</i> L.)	Ekstrak daun (<i>Solanum mammosum</i>) membentuk AgNPs-Sm berukuran $5,2 \pm 2,3$ nm. Aktivitas antioksidan ekstrak menurun signifikan setelah sintesis nanopartikel, dari 3944 menjadi 637,5 μ M TE/g (ORAC-FL), dan dari 14,7% menjadi 12,5% (CAA), akibat oksidasi senyawa aktif. Nilai EI juga turun (402 menjadi 324 μ A/V), demikian pula kandungan polifenol (826,6 menjadi 139,7 mg EGA/100 g), dengan asam galat sebagai senyawa dominan (HPLC). Uji mikrobiologi menunjukkan ekstrak tidak toksik, sementara AgNPs-Sm memiliki efek hambat ringan terhadap <i>E. coli</i> dan <i>Bacillus sp.</i>	Uji antioksidan ekstrak (<i>Solanum mammosum</i>) meliputi metode ORAC-FL dengan fluorescein dan AAPH dalam buffer fosfat (pH 7,4) selama 2 jam untuk mengukur penyerapan radikal peroksil, metode CAA pada sel VERO menggunakan DCFH2-DA dan AAPH untuk aktivitas antioksidan intraseluler, voltametri (DPV dan CV) untuk menilai kapasitas redoks senyawa fenolik dalam larutan natrium asetat 0,1 M, serta pengukuran total polifenol dengan metode Folin-Ciocalteu pada 760 nm.	(Pilaquinga et al., 2021) (PADMA)

Metode CUPRAC			
Spesies	Hasil Percobaan	Prosedur Kerja	Referensi
Herba Puguntano (<i>Picria fel-terrae</i>) dan Buah Andaliman (<i>Zanthoxylum acanthopodium</i>)	Ekstrak Puguntano dan Andaliman menunjukkan aktivitas antioksidan tinggi, dengan IC ₅₀ masing-masing kurang dari 50 µg/mL. Puguntano paling efektif pada etanol 60% (IC ₅₀ = 22,07 µg/mL) dan Andaliman pada etanol 50% (IC ₅₀ = 25,39 µg/mL). Quercetin memiliki IC ₅₀ lebih rendah, yaitu 2,21 µg/mL. Aktivitas antioksidan meningkat seiring peningkatan kandungan air pada pelarut, karena senyawa fenolik dan flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut polar.	Berdasarkan (Satria <i>et al.</i> , 2024) metode CUPRAC, menggunakan pereaksi CuCl ₂ ·2H ₂ O, neocuproin, dan buffer amonium asetat. Perubahan warna dari kuning ke oranye menandakan adanya aktivitas antioksidan, yang Selanjutnya, pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm. Nilai IC ₅₀ ditentukan berdasarkan hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase aktivitas reduksi.	(Satria <i>et al.</i> , 2024)
Daun Melinjo (<i>Gnetum Gnenom L.</i>)	Hasil uji antioksidan metode CUPRAC ini menunjukkan nilai IC ₅₀ masing-masing sebesar 60,689 ppm (etanol), 59,7951 ppm (etil asetat), 117,235 ppm (n-heksana), dan 67,915 ppm (air). Fraksi n-heksana dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sedang, sedangkan fraksi etil asetat, air, dan ekstrak etanol menunjukkan aktivitas kuat	Larutan induk 1000 ppm dibuat dengan ekstrak etanol 96% dan fraksi daun melinjo, kemudian dibuat seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 75 ppm untuk pengujian absorbansi. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 1 mL larutan sampel dan 1 mL reagen Cuprac dimasukkan ke dalam vial, diinkubasi 30 menit, lalu diukur absorbansinya.	(Susmayanti, 2023)
Daun, Buah dan Kulit Terap (<i>Artocarpus odoratissimus</i>)	Ekstrak etanol 96% dari daun, buah, dan kulit buah Artocarpus odoratissimus menunjukkan aktivitas antioksidan yang bervariasi. IC ₅₀ daun 102,250 ppm (sedang), buah 84,957 ppm (kuat), dan kulit buah 160,894 ppm (lemah). Quercetin sebagai pembanding memiliki IC ₅₀ 7,281 ppm (sangat kuat). Buah menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, meski masih lebih rendah dari quercetin.	Uji antioksidan dilakukan dengan metode CUPRAC menggunakan reagen CuCl ₂ ·2H ₂ O 0,01 M, neocuproin 0,0075 M, buffer NH ₄ Ac 1 M, dan aquadest. Ekstrak diuji pada konsentrasi 5–75 ppm, dicampur dengan reagen, diinkubasi 30 menit, dan diukur absorbansinya pada 453 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai IC ₅₀ dihitung dengan regresi linier antara	(Ramadhan, 2020)

		konsentrasi dan persen inhibisi radikal bebas.	
Buah Kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.)	Seluruh fraksi ekstrak buah kersen menunjukkan aktivitas antioksidan, dengan fraksi etil asetat (EAF) memiliki aktivitas tertinggi sebesar $7,181 \pm 0,04$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ (GAEAC), diikuti fraksi etanol-air (3,809 $\mu\text{M}/\text{mg}$), ekstrak etanol (3,586 $\mu\text{M}/\text{mg}$), dan fraksi n-heksan (1,472 $\mu\text{M}/\text{mg}$). Aktivitas tertinggi pada EAF sejalan dengan Kandungan fenolik tertinggi tercatat pada EE sebesar 38,2% b/b, yang lebih tinggi dibandingkan dengan EE (29,1%), HF (8,3%), dan EF (2,63%). Hasil ini menegaskan bahwa tingginya kandungan fenolik berperan penting dalam meningkatkan kapasitas antioksidan.	Metode CUPRAC mengukur kapasitas antioksidan total berdasarkan kemampuan sampel mereduksi ion Cu^{2+} menjadi Cu^{+} , yang membentuk kompleks jingga dengan neokuproin dan Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 1 mL sampel, 1 mL CuCl_2 10 mM, dan neokuproin 7,5 mM, kemudian dianalisis pada 450 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan ammonium asetat 1 M, lalu ditambahkan akuades hingga volume 5 mL. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi ke GAEAC menggunakan kurva standar asam galat.	(Nur <i>et al.</i> , 2022)
Daun Yodium (<i>Jatropha multifida</i> L.)	Uji kualitatif ekstrak etanol daun yodium menunjukkan perubahan warna khas yang mengindikasikan aktivitas antioksidan melalui kompleks Cu^{+} -neokuproin. Uji kuantitatif menghasilkan absorbansi 0,753; 0,724; dan 0,864 nm, dengan rata-rata AAE $0,7385 \pm 0,0521$ mg L^{-1} AA g^{-1} ekstrak, menunjukkan hasil yang stabil dan homogen.	Metode CUPRAC mengukur kapasitas antioksidan melalui reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{+} yang membentuk kompleks berwarna dengan neokuproin, diukur pada 450 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun yodium dicampur dengan 1 mL CuCl_2 0,01 M, 1 mL neokuproin 7,5 mM, 1 mL buffer amonium asetat pH 7, dan akuades hingga volume 4,1 mL, lalu diinkubasi selama 30 menit sebelum pengukuran.	(Maryam <i>et al.</i> , 2016)

Pembahasan

1. Metode DPPH

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan karena mudah, cepat, dan tidak memerlukan alat rumit. Prinsipnya adalah kemampuan senyawa antioksidan mendonorkan elektron atau atom hidrogen ke radikal DPPH, yang mengubah warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat. Perubahan warna ini dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515–520 nm.

Tinjauan literatur menunjukkan bahwa ekstrak daun *Garcinia hombroniana* menggunakan metode DPPH menunjukkan fraksi etil asetat EA8 dengan aktivitas antioksidan 32,67%, sementara fraksi metanol M3 mencapai 37,42%. Ini menunjukkan peran penting senyawa bioaktif dalam pelarut semi-polar dan polar dalam melawan radikal bebas (Triadisti, 2018).

Ekstrak etanol biji buah (*Xylocarpus granatum*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 8,27 ppm., mendekati vitamin C (6,40 ppm). Aktivitas ini berkorelasi positif dengan kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid dalam ekstrak (Wardani *et al.*, 2025).

Ekstrak berbagai bagian tanaman (*Diospyros foxworthyi*) juga menunjukkan aktivitas tinggi. Ekstrak batang menghasilkan IC_{50} sebesar 5,32 $\mu\text{g/mL}$. Keberhasilan ekstrak batang ini diduga berasal dari konsentrasi tinggi senyawa fenolik aktif yang bekerja sebagai donor elektron, serta adanya efek sinergis antar senyawa (Cleary *et al.*, 2025).

Ekstrak metanol daun *Uncaria sclerophylla* menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan EC_{50} 9,94 $\pm$ 0,1572 $\mu\text{g/mL}$, sementara fraksi terbaik, FMet5, memiliki EC_{50} 6,07 $\pm$ 0,125 $\mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan korelasi antara fraksinasi senyawa aktif dan peningkatan efektivitas antioksidan (Triadisti *et al.*, 2025).

Sementara itu, produk olahan berbasis bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam Bentuk Clitoria Gummy menunjukkan aktivitas antioksidan dalam kategori sedang, dengan nilai IC_{50} tertentu dan masing-masing 116,454 ppm (formula 1) dan 115,619 ppm (formula 2). Aktivitas ini lebih rendah dibandingkan ekstrak murni, namun tetap menunjukkan bahwa formulasi produk masih mempertahankan potensi penangkapan radikal bebas (Kusumawardhani & Pujiastuti, 2025).

Keunggulan metode DPPH antara lain prosedurnya yang sederhana, cepat, tidak memerlukan reagen kompleks, dan dapat digunakan untuk berbagai jenis sampel, baik ekstrak kasar maupun senyawa murni. Stabilitas radikal DPPH memungkinkan pengujian dilakukan tanpa perlu pembentukan radikal secara in situ. Namun, metode ini memiliki kekurangan, antara lain sensitivitas tinggi terhadap pelarut dan pH, ketidakmampuannya mengukur antioksidan non-donor elektron, dan keterbatasan representasi terhadap kondisi biologis in vivo. Selain itu, warna ungu DPPH dapat menimbulkan interferensi optik bila digunakan bersama sampel berwarna gelap.

2. Metode FRAP

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) digunakan untuk mengukur kapasitas total antioksidan berdasarkan kemampuan senyawa mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dalam lingkungan asam. Proses ini menghasilkan kompleks biru antara Fe^{2+} dan TPTZ, yang absorbansinya diukur pada 593–595 nm. Intensitas warna mencerminkan kekuatan reduktif senyawa antioksidan dalam menangkal radikal bebas.

Studi literatur menunjukkan bahwa ekstrak daun *Garcinia hombroniana* memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan metode FRAP. Fraksi M3 dari metanol menunjukkan aktivitas tertinggi (26,70%), diikuti fraksi EA11 dan EA8 dari etil asetat masing-masing 25,73% dan 22,37%. Perbedaan aktivitas antar fraksi menunjukkan kontribusi senyawa aktif seperti fenol dan flavonoid dalam fraksi semi-polar dan polar terhadap kapasitas reduksi ion logam (Triadisti, 2018).

Ekstrak batang dari (*Diospyros foxworthyi*) juga menunjukkan kapasitas antioksidan tertinggi di antara bagian lain tanaman dengan nilai 14,71 mmol Fe^{2+}/g . Prosedur yang digunakan mengikuti modifikasi

metode Pereira, menunjukkan bahwa bagian batang kaya akan senyawa yang dapat bertindak sebagai donor elektron untuk mereduksi ion logam (Clearn *et al.*, 2025).

Ekstrak metanol daun *Uncaria sclerophylla* menunjukkan aktivitas antioksidan signifikan dengan EC_{50} $9,50 \pm 0,319$ $\mu\text{g/mL}$. Fraksi FMet5 memiliki aktivitas tertinggi (EC_{50} $8,89 \pm 0,1701$ $\mu\text{g/mL}$), diikuti FMet4 ($7,06 \pm 0,0751$ $\mu\text{g/mL}$) dan FMet6 ($11,14 \pm 0,4890$ $\mu\text{g/mL}$). Fraksi etil asetat FEa9 juga menunjukkan aktivitas tinggi (EC_{50} $6,89 \pm 0,0569$ $\mu\text{g/mL}$), menegaskan bahwa senyawa polar dan semi-polar efektif dalam mereduksi ion ferri (Triadisti *et al.*, 2025).

Ekstrak butanol daun *Tectona grandis* menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan IC_{50} 70,848 ppm menggunakan metode FRAP. Aktivitas ini didukung oleh senyawa polifenol, flavonoid, dan saponin yang teridentifikasi melalui skrining fitokimia dan KLT dengan nilai R_f 0,82, setara dengan asam galat. Meskipun tidak sekuat etanol atau metanol, butanol tetap efektif mengekstrak senyawa aktif (Fitriyati *et al.*, 2024).

Ekstrak etanol kulit biji dan buah bakau (*Xylocarpus granatum*) menunjukkan aktivitas antioksidan dengan Reducing Power 50 (RP₅₀) masing-masing 4.455,63 $\mu\text{g/mL}$ dan 15.556,32 $\mu\text{g/mL}$, ditandai dengan perubahan warna biru pada uji FRAP. Asam galat digunakan sebagai standar dengan nilai RP₅₀ 34,04 $\mu\text{g/mL}$. Reducing Power mengukur kemampuan senyawa antioksidan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dalam kompleks TPTZ. Metode FRAP unggul dalam kesederhanaan, kestabilan reagen, dan data yang reproducible, namun terbatas pada pH asam, sehingga kurang mewakili kondisi biologis *in vivo* yang netral atau basa (Wardani *et al.*, 2025).

3. Metode ABTS

Metode ABTS bekerja berdasarkan prinsip pereduksian radikal bebas ABTS oleh senyawa antioksidan. Proses ini ditandai dengan memudarnya warna biru-hijau kation ABTS, yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. ABTS memiliki pusat nitrogen, dan ketika direduksi oleh senyawa antioksidan, radikal tersebut berubah menjadi bentuk non-radikal yang tidak berwarna (Muthia, 2024).

Metode ABTS unggul dalam fleksibilitasnya, dapat digunakan dengan berbagai pelarut dan kondisi pH, serta memiliki waktu reaksi cepat. Namun, metode ini sensitif terhadap cahaya dan memerlukan inkubasi 12–16 jam dalam gelap (Maryam *et al.*, 2016).

Ekstrak etanol 80% dari kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida*) mengandung polifenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Polifenol mengurai radikal peroksida dan hidroksi, sementara flavonoid melindungi sel dari stres oksidatif. Penelitian ini menggunakan metode ABTS untuk mengisolasi senyawa antioksidan, dan melalui KLT-bioautografi-ABTS, subfraksi aktif (SFFE A) dengan nilai R_f 0,65 teridentifikasi, menunjukkan aktivitas antioksidan. Uji ABTS kuantitatif menunjukkan inhibisi 96,69% pada 500 ppm, sejalan dengan penelitian sebelumnya. Metode ABTS efektif untuk skrining dan isolasi senyawa aktif (Ruskin *et al.*, 2023).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Pratiwi & Fausia, n.d.) Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik pengeringan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Chromolaena odorata* L. Berdasarkan uji ABTS, teknik pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung menghasilkan IC_{50} terbaik sebesar 10,645 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan teknik diangin-anginkan menunjukkan IC_{50} 28,909 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas ini hampir setara dengan vitamin C (IC_{50} 4,558 $\mu\text{g/mL}$), yang menunjukkan bahwa pengeringan dengan cahaya tidak langsung mempertahankan senyawa antioksidan secara optimal.

Berdasarkan penelitian oleh (Muthia, 2024) Ekstrak etil asetat daun karamunting (*Melastoma malabathricum*) menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} 2,2419 $\mu\text{g/mL}$, lebih rendah dari kuersetin yang memiliki IC_{50} 2,6821 $\mu\text{g/mL}$, menandakan kemampuan lebih tinggi dalam menetralkan radikal bebas. Hasil uji aktivitas ekstrak menunjukkan bahwa persentase inhibisi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$, persentase inhibisi tercatat sebesar 43,88%, kemudian meningkat menjadi 47,86% pada konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$, dan 53,44% pada konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$. Kenaikan inhibisi yang lebih signifikan terlihat pada konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai 60,41%, hingga mencapai 65,77% pada konsentrasi tertinggi yaitu 5 $\mu\text{g/mL}$. Pola peningkatan ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons yang positif antara konsentrasi ekstrak dengan kemampuan inhibisinya, yang mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak memiliki potensi biologis yang meningkat secara proporsional terhadap dosis yang diberikan.

Berdasarkan pengamatan oleh (Nursamsiar, 2021) Variasi jenis pelarut mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) yang diuji dengan metode ABTS. Proses reduksi radikal $ABTS^+$ oleh senyawa antioksidan terjadi ketika senyawa mendonorkan elektron atau atom hidrogen, mengubah $ABTS^+$ menjadi non-radikal. Ekstrak dengan pelarut etanol 70% menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat (IC_{50} 56,71 $\mu\text{g/mL}$), diikuti oleh etil asetat (IC_{50} 106,47 $\mu\text{g/mL}$) dan n-heksan (IC_{50} 191,57 $\mu\text{g/mL}$). Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki IC_{50} 10,46 $\mu\text{g/mL}$. Ekstraksi dengan etanol 70% menghasilkan rendemen tertinggi (10,44%), menunjukkan pelarut polar lebih efektif dalam melarutkan senyawa aktif. Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi pada ekstrak etanol diduga terkait dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang larut dalam pelarut polar.

Berdasarkan penelitian oleh (Lukita *et al.*, 2024) Fraksi etil asetat daun salam (*Zyzygium polyanthum*) mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini menunjukkan bahwa formula masker gel peel-off dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5% memiliki karakteristik fisik yang baik, termasuk pH (5,2–6), daya sebar (5–5,8 cm), daya lekat (>8 detik), viskositas (130–153 dPa.s), ketahanan lipat (>100 kali), dan waktu mengering (20–30 menit). Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode ABTS dengan panjang gelombang 732 nm dan waktu reaksi 6 menit. Formula 1,5% menunjukkan IC_{50} tertinggi (46,6954 ppm) dalam kategori sangat kuat, sementara 1% dan 0,5% memiliki IC_{50} masing-masing 59,7467 ppm dan 67,4243 ppm, dalam kategori kuat. Sebagai pembanding, kuersetin memiliki IC_{50} 17,5809 ppm. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa fraksi etil asetat daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan air. Perbedaan nilai IC_{50} antara metode DPPH dan ABTS disebabkan oleh perbedaan prinsip reaksi dan sensitivitas terhadap senyawa polar. Metode ABTS dipilih karena stabil di berbagai pH dan pelarut serta efektif mendeteksi reaksi antioksidan terhadap radikal kation $ABTS^+$.

4. Metode ORAC

Prinsip metode ORAC mengukur kemampuan antioksidan dalam mendonorkan hidrogen untuk meredakan radikal peroksi, yang terlihat dari penurunan intensitas fluoresen selama reaksi. Kelebihan metode ini dapat digunakan untuk sampel alami yang kompleks Jurnal ini menggunakan ORAC untuk menguji buah *Greigia sphacelata* secara langsung tanpa pemurnian senyawa individu. “The antioxidant capacity determinations were carried out of the methanolic extract of the fruit” (hal. 4926). Metode ini memiliki kekurangan dalam praktik dan sensitivitas terhadap suhu rendah, yang dapat mengurangi reproduktifitas pengujian.

Berdasarkan penelitian oleh (Aravena-Sanhueza *et al.*, 2020), buah *Greigia sphacelata* yang dikenal secara lokal sebagai Chupón atau Quiscal, menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 3525 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ekuivalen Trolox berdasarkan uji ORAC spektrofotometri. Selain itu, uji voltametri pulsa diferensial (DPV) juga dilakukan dan menghasilkan nilai 724 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ekuivalen Trolox, dengan korelasi kuat antara kedua metode ($r = 0.969$). Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun kadar antioksidan terdeteksi lebih tinggi dengan metode ORAC, metode DPV dapat digunakan sebagai alternatif elektrokimia yang andal dan sensitif untuk pengukuran kapasitas antioksidan pada buah ini. Temuan ini juga memperkuat potensi *Greigia sphacelata* sebagai sumber senyawa antioksidan alami.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Va, 2022) Evaluasi metodologi ORAC dalam penentuan kapasitas antioksidan dari kombinasi biner kuersetin dan turunan 3-(3,4,5-trihydroxybenzoyl) kumarin.. Pada hasil Uji ORAC-FL: Quercetin menunjukkan nilai ORAC-FL sebesar 4,10 $\mu\text{M TE}$ (Trolox Equivalents). Turunan Kumarin menunjukkan nilai ORAC-FL sebesar 1,09 $\mu\text{M TE}$. Kombinasi Biner (Q:C) menunjukkan nilai ORAC-FL yang bervariasi tergantung proporsi. Sedangkan pada hasil Uji ORAC-Pyrogallol (ORAC-PGR): Quercetin menunjukkan nilai ORAC-PGR sebesar 2,11 $\mu\text{M TE}$. Turunan Kumarin menunjukkan nilai ORAC-PGR sebesar 0,19 $\mu\text{M TE}$. Kombinasi Biner menunjukkan nilai ORAC-PGR yang bervariasi tergantung proporsi. Secara keseluruhan, Quercetin menunjukkan kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan turunan kumarin pada kedua metode ORAC. Kombinasi biner menunjukkan efek yang berbeda-beda, ada yang sinergis atau antagonis, tergantung pada rasio kombinasi kedua senyawa. Linearitas kedua uji (ORAC-FL dengan R^2 0,9995 dan ORAC-PGR dengan R^2 0,9997) juga menunjukkan keandalan hasil yang diperoleh.

Berdasarkan penelitian oleh (Pilaquinga *et al.*, 2021), ekstrak daun (*Solanum mammosum L.*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai ORAC-FL sebesar $3944 \pm 112\ \mu\text{M TE/g}$, namun mengalami penurunan setelah digunakan dalam sintesis nanopartikel perak (AgNPs), menjadi $637.5 \pm 14.8\ \mu\text{M TE/g}$. Penurunan ini disebabkan oleh teroksidasinya senyawa aktif selama proses pembentukan nanopartikel. Hasil uji CAA juga menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi pada ekstrak ($14,7 \pm 0,2\%$) dibandingkan AgNPs ($12,5 \pm 0,2\%$). Kandungan total polifenol lebih tinggi pada ekstrak (826,6 mg EGA/100 g) dibandingkan AgNPs (139,7 mg EGA/100 g), dengan asam galat sebagai senyawa dominan. Selain itu, AgNPs menunjukkan sedikit efek toksik terhadap *E. coli* dan *Bacillus sp.*, sedangkan ekstrak tidak. Hasil ini menegaskan potensi *S. mammosum* sebagai sumber antioksidan alami sekaligus agen pereduksi dalam sintesis nanopartikel.

5. Metode CUPRAC

Metode CUPRAC mengukur kemampuan antioksidan mereduksi ion Cu(II) menjadi Cu(I) , yang bereaksi dengan neocuproin membentuk kompleks oranye yang diukur pada 450–453 nm (Satria *et al.*, 2024) termasuk metode berbasis reaksi redoks yang banyak digunakan karena bersifat selektif dan dapat diaplikasikan pada berbagai jenis senyawa antioksidan baik hidrofilik maupun lipofilik. Kelebihan metode CUPRAC waktu inkubasi singkat sehingga proses analisis lebih efisien. Reagen stabil & mudah diperoleh : CuCl_2 , neocuproin, dan buffer asetat relatif murah serta tidak mudah terdegradasi. Kekurangan metode CUPRAC yang penting untuk diperhatikan yaitu Interferensi warna:, Sampel yang memiliki warna pekat atau pigmen kuat dapat mengganggu pembacaan absorbansi spektrofotometer, sehingga hasilnya kurang akurat.

Berdasarkan hasil kajian terhadap beberapa penelitian, dapat disimpulkan bahwa berbagai ekstrak tanaman lokal Indonesia menunjukkan potensi sebagai sumber antioksidan alami. Hal ini ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang diperoleh melalui berbagai metode pengujian, seperti metode CUPRAC, serta kandungan senyawa bioaktif yang berperan dalam mekanisme antioksidan.

Ekstrak hidroalkoholik dari herba Puguntano dan buah Andaliman menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, dengan nilai IC_{50} masing-masing di bawah $50 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas tertinggi diperoleh dari Puguntano dengan pelarut etanol 60% ($IC_{50} = 22,07 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$), dan Andaliman dengan pelarut etanol 50% ($IC_{50} = 25,39 \pm 0,30 \mu\text{g/mL}$). Hasil ini mengindikasikan bahwa pelarut dengan kandungan air yang lebih tinggi cenderung lebih efektif dalam senyawa fenolik dan flavonoid memiliki sifat polar, yang memungkinkan mereka larut dalam pelarut polar meningkatkan aktivitas antioksidan. Sebagai pembanding, quercetin sebagai antioksidan standar menunjukkan potensi yang jauh lebih kuat dengan IC_{50} sebesar $2,21 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ (Satria *et al.*, 2024).

Penelitian terhadap daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Ekstrak etanol 96% dan fraksinya (n-heksan, etil asetat, dan air) mengandung flavonoid, polifenol, alkaloid, dan tanin. Uji metode CUPRAC menunjukkan fraksi etil asetat (59,80 ppm), air (67,91 ppm), dan etanol (60,69 ppm) memiliki aktivitas antioksidan kuat, sementara fraksi n-heksan (117,24 ppm) tergolong sedang. Hal ini menunjukkan pelarut polar dan semi-polar lebih efektif mengekstraksi senyawa antioksidan (Susmayanti, 2023).

Studi lain menunjukkan bahwa buah tanaman Terap (*Artocarpus odoratissimus*) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan daun dan kulit buah. Ekstrak buah memiliki IC_{50} 84,96 ppm (kuat), daun 102,25 ppm (sedang), dan kulit buah 160,89 ppm (lemah). Meskipun lebih tinggi dari quercetin (7,28 ppm), hasil ini menunjukkan variasi potensi antioksidan antar bagian tanaman (Ramadhan, 2020).

Studi lain menunjukkan bahwa buah tanaman Terap (*Artocarpus odoratissimus*) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan daun dan kulit buah. Ekstrak buah memiliki IC_{50} 84,96 ppm (kuat), daun 102,25 ppm (sedang), dan kulit buah 160,89 ppm (lemah). Meskipun lebih tinggi dari quercetin (7,28 ppm), hasil ini menunjukkan variasi potensi antioksidan antar bagian tanaman (Nur *et al.*, 2022).

Ekstrak etanolik daun yodium menunjukkan potensi antioksidan dengan rata-rata AAE $0,7385 \pm 0,0521 \text{ mg L}^{-1} \text{ AA g}^{-1}$. Perubahan warna pada uji kualitatif, yang membentuk kompleks Cu^{+} -neokuproin, mendukung aktivitas antioksidan ini, mengindikasikan kandungan senyawa seperti flavonoid dan tanin yang mampu menangkal radikal bebas (Maryam *et al.*, 2016).

Secara keseluruhan, hasil-hasil tersebut memperkuat bukti bahwa senyawa fenolik dan flavonoid memegang peran kunci dalam aktivitas antioksidan. Pelarut polar seperti etanol dan air umumnya lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa tersebut. Potensi ini membuka peluang besar dalam pengembangan produk alami sebagai agen antioksidan, baik untuk tujuan farmasi, kosmetik, maupun pangan fungsional.

KESIMPULAN

Berbagai ekstrak tumbuhan seperti (*Rhizophora apiculata*), (*Sterculia quadrifida*), (*Tectona grandis*), (*Muntingia calabura*), (*Gnetum gnemon*), dan (*yodium*) menunjukkan aktivitas antioksidan sedang hingga sangat kuat berdasarkan metode DPPH, FRAP, ABTS, CUPRAC, dan ORAC, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh kulit biji dan buah bakau ($IC_{50} = 21,44 \mu\text{g/mL}$, DPPH), subfraksi falok (inhibisi 96,69%, ABTS), serta fraksi etil asetat buah kersen (GAEAC = $7,181 \mu\text{M/mg}$, CUPRAC), di mana pelarut

polar dan semi-polar seperti etanol dan etil asetat terbukti paling efektif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dan fenolik, serta metode ABTS dan CUPRAC dinilai lebih sensitif dalam mendeteksi kapasitas antioksidan dibanding metode lainnya.

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk isolasi senyawa aktif, uji toksisitas, serta pengujian in vivo, dengan penggunaan pelarut dengan sifat larut air ataupun semi-polar dan kombinasi metode DPPH, FRAP, ABTS, CUPRAC, serta ORAC guna memperoleh data yang lebih komprehensif, sekaligus mendukung pengembangan produk antioksidan alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Aravena-Sanhueza, F., Pérez-Rivera, M., Castillo-Felices, R., Mundaca-Urbe, R., Aranda Bustos, M., & Peña Farfal, C. (2020). DETERMINATION of ANTIOXIDANT CAPACITY (ORAC) of GREIGIA SPHACELATA and CORRELATION with VOLTAMMETRIC METHODS. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 65(3), 4925–4928. <https://doi.org/10.4067/s0717-97072020000204925>
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- Cleam, A. K., Elya, B., & Hanafi, M. (2025). *Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibition and Antioxidant Activity in Leaf, Bark, Fruit and Seed of Diospyros foxworthyi*.
- Fitriyati, L., Septiani, S. W., & Muchromin, M. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Menggunakan Metode FRAP Pada Ekstrak Butanol Daun Jati (*Tectona grandis*). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 9(1), 29–40. <https://doi.org/10.37874/ms.v9i1.759>
- Kusumawardhani, S., & Pujiastuti, A. (2025). Aktivitas Antioksidan *Clitoria Gummy Sari Bunga Telang (Clitoria Edisi Januari 2025 Januari 2025 Edisi. 10(2)*, 108–118.
- Lestari, D., MA, M. D., Pratiwi, J., & Saputri, L. H. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 3(3), 162–173. <https://doi.org/10.33759/jrki.v3i3.169>
- Lukita, M. E., Dhurhanian, C. E., & Andriani, D. (2024). *The formula development and antioxidant activity of peel-off gel mask from ethyl acetate fraction of bay leaf (Zyzygium polyanthum (Wight.) Walp.) Pengembangan formula dan aktivitas antioksidan masker gel peel-off dari fraksi etil asetat daun salam (. 20(1)*, 1–14.
- Maryam, S., Pratama, R., Effendi, N., & Naid, T. (2016). DENGAN METODE CUPRIC ION REDUCING ANTIOXIDANT CAPACITY Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1), 90–93.
- Muthia, R. (2024). *p-ISSN: 250a2-647X; e-ISSN: 2503-1902. 8(3)*, 129–138.
- Mutmainna Tamrin, Achmad Kadri Ansyori, & Hayatus Sa'adah. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Buah Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Dengan Metode DPPH Secara Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 233–248. <https://doi.org/10.33759/jrki.v6i2.527>
- Nur, S., Aswad, M., Yulianty, R., Burhan, A., Patabang, W. J. D., Fadri, A., & Nursamsiar, N. (2022). Profil Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Metode TAC

- dan CUPRAC. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(1), 79. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.56653>
- Nursamsiar, N. (2021). *Pengaruh Jenis Cairan Penyari terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia (Hems.) A . Grey) dengan Metode ABTS Effects of Solvent on the Antioxidant Activity of Mexican Sunflower (Tithonia diversifolia (Hems.) A . Gre. 18(02), 316–323.*
- Pilaquinga, F., Morey, J., Espinoza-montero, P., Moncada-basualto, M., Olea-azar, C., Bosch, R., Meneses, L., & Debut, A. (2021). *Determination of Antioxidant Activity by Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-FL), Cellular Antioxidant Activity (CAA), Electrochemical and Microbiological Analyses of Silver Nanoparticles Using the Aqueous Leaf Extract of Solanum mammosum L . August, 5879–5894.*
- Pratiwi, Y., & Fausia, N. (n.d.). *Variasi Teknik Pengeringan Daun Tekelan (Chromolaena odorata L .) Mempengaruhi Aktivitas Antioksidan : Penelitian Laboratorium dengan Metode ABTS Variations of Tekelan Leaf Drying Technique (Chromolaena odorata L .) Influencing Antioxidant Activity : La. 180–189.*
- Ramadhan, H. (2020). *Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun, buah dan kulit terap. 7(1), 7–12.* <https://doi.org/10.22236/farmasains.v7i1.4331>
- Ruskim, J., Budiono, R., Oktaviyanti, N. D., & Setiawan, F. (2023). *Isolation based on antioxidant activity of 80 % ethanolic extract faloak (Sterculia quadrifida R . Br .) stem bark Isolasi berbasis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 80 % kulit batang faloak (Sterculia quadrifida R . Br .) pada orbital terluar y. 102–115.*
- Satria, D., Dalimunthe, A., Sitorus, P., Waruwu, S. B., Vadhila, M., & Wahyu, M. (2024). *Antioxidant Activity of Hydroalcoholic Extract of Puguntano Herbs and Andaliman Fruits by Cuprac Methods. Majalah Obat Tradisional, 29(2), 192–198.* <https://doi.org/10.22146/mot.90337>
- Susmayanti, W. (2023). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product. 06, 97–106.*
- Triadisti, N. (2018). *Antioxidant Activity of Fractions from Garcinia hombroniana Pierre Leaves Extracts. 10(4), 682–685.*
- Triadisti, N., Elya, B., Hanafi, M., & Hashim, N. M. (2025). *Bioactive chromatographic fractions from Uncaria sclerophylla (W . Hunter) Roxb . leaves on dipeptidyl peptidase-4 inhibition and antioxidant capacity , phytochemicals , and compound profiling using UPLC-ESI-QToF-MS / MS. 13(1), 58–85.*
- Va, S. (2022). *Evaluation of ORAC methodologies in determination of antioxidant capacity of binary trihydroxybenzoyl) coumarin derivatives.* <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104298>
- Wardani, I. G. A. A. K., Adrianta, K. A., Udayani, N. N. W., Fridayana, N. L. G. E., Mendra, N. N. Y., & Suena, N. M. D. S. (2025). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji dan Buah Bakau (Xylocarpus granatum J.Koenig) dengan Metode DPPH dan FRAP. Jurnal Ilmiah Medicamento, 11(1), 86–98.* <https://doi.org/10.36733/medicamento.v11i1.9426>