

Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sambiloto dan Ekstrak Daun Pisang Batu Melalui Metode DPPH

I Made Gede Ari Kusuma^{1*}, Ketut Widyani Astuti²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, arikusuma013@student.unud.ac.id

²Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, ketutwidyani@unud.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstrak– Fenomena perubahan frekuensi penyakit yang terjadi di negeri ini telah menciptakan pergeseran pola penyakit yakni adanya peningkatan penyakit degeneratif. Salah satunya penyebab terjadinya penyakit degeneratif adanya penumpukan radikal bebas di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis tingkat aktivitas antioksidan yang terdapat pada kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu dengan metode DPPH. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan selama 14 hari mulai dari tanggal 16-29 Agustus 2023. Penelitian dilaksanakan di laboratorium bersama Fakultas MIPA Universitas Udayana dengan menganalisis aktivitas antioksidan menggunakan taraf IC50. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* N.) dan juga ekstrak daun pisang batu (*Musa balbisiana*). Dibuat 3 sampel uji yaitu 1) ekstrak etanol daun sambiloto (S1). 2) Ekstrak etanol daun pisang batu (S2). 3) Kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu (1:1) (S3). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh aktivitas antioksidan dengan taraf IC50 yang berasal dari tiga formulasi diantaranya sampel 1 sebesar 45 ppm, sampel 2 sebesar 48 ppm dan sampel 3 sebesar 35 ppm. Hasil ini juga dibandingkan dengan aktivitas antioksidan standar vitamin c (STD) yang digunakan sebesar 24 ppm. Berdasarkan ketiga sampel uji (S1, S2, dan S3) hasil aktivitas antioksidan pada setiap sampel uji dapat dikategorikan baik karena dibawah 50 ppm. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan seluruh sampel uji memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong baik dengan besaran nilai parameter IC 50 dibawah 50 ppm. Sehingga daun sambiloto dan daun pisang batu memiliki potensi besar dalam pengembangan nutrasetikal mengatasi radikal bebas yang dapat menginduksi terjadinya penyakit degeratif.

Kata Kunci– Nutrasetikal, Aktivitas Antioksidan,, Daun Sambiloto, Daun Pisang Batu

1. PENDAHULUAN

Fenomena pergeseran frekuensi penyakit kian marak menjadi perbincangan di dunia kesehatan. Khususnya di Indonesia, saat ini sedang mengalami peningkatan penyakit yang menyerang kerusakan fungsi tubuh maupun organ dalam kurun waktu tertentu yang disebut sebagai penyakit degeratif. Fokus utama penyakit yang menginisiasi kerusakan suatu organ secara kronis tidak pada tingkat penyebarannya, namun pada kelemahan dari organ itu sendiri yang mana sedang mengalami kemunduran fungsi yang dapat diakibatkan dari proses penuaan, gaya hidup yang tidak sehat dan faktor-faktor lainnya [1].

Penyebab paling umum yang ditemukan dalam menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif adanya penumpukan senyawa yang bersifat radikal yang bergerak bebas di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang mempunyai elektron tak berpasangan dan bersifat reaktif. Hal tersebut yang menyebabkan elektron memerlukan spesi pasangan untuk menetralkan nilai spin.

Sifat inilah yang menyebabkan molekul menjadi reaktif dan cenderung tidak stabil dan akan mudah bereaksi menimbulkan efek berantai di dalam tubuh yang membentuk senyawa radikal lainnya [2]. Penyebab yang paling sering melatar belakangi peningkatan radikal bebas didalam tubuh adalah pola hidup yang tidak sehat seperti menghirup asap rokok, konsumsi *junk food*, jarang berolah raga dan juga minum-minuman beralkohol tinggi. Sehingga diperlukan asupan nutrisi yang dapat mengimbangi kebiasaan buruk tersebut dengan rutin mengonsumsi buah dan sayur.

Pemanfaatan tanaman herbal sebagai bahan baku obat tradisional terus berkembang seiring perkembangan zaman. Organisasi Kesehatan Dunia mencatat sekitar 65% masyarakat di negara maju menggunakan tanaman sebagai obat herbal. Sejak dahulu kala, masyarakat Indonesia sudah mempercayai bahwa tanaman herbal mempunyai banyak manfaat. Untuk meningkatkan manfaat tersebut, BPOM bersama beberapa universitas di Indonesia saat ini sedang meneliti tanaman yang diperkirakan memiliki potensi unggul hingga tahap uji klinis [3]. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tanaman yang terkenal akan rasa pahit namun memiliki segudang manfaat didalamnya. Adapun potensi efek farmakologis yang dimiliki tanaman ini yaitu antioksidan, antitirozinase, antidiabetes dan antiinflamasi [4]. Pada ekstrak sambiloto juga menunjukkan aktivitas antikanker, efek antiproliferatif yang cukup besar, dan meningkatkan faktor nekrosis tumor, yang meningkatkan toksisitas terhadap B16F0 dan HT-29 [5]. Selain sambiloto terdapat juga potensi yang dimiliki oleh daun pisang batu. Daun pisang batu umumnya hanya digunakan sebagai pembungkus makanan dan sarana upacara khususnya bagi umat beragama hindu di Bali. Namun potensi sebenarnya belum banyak diketahui oleh masyarakat luas. Berdasarkan penelitian dari Hoang et al (2023) menunjukkan hasil pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan taraf IC 50 sebesar 14,29 ppm yang mana hal tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat baik karena dibawah 50 ppm. Oleh karena itu untuk menjawab ancaman radikal bebas tersebut peneliti ingin mengembangkan bahan herbal sebagai nutrasetikal dalam menangkal radikal bebas di dalam tubuh yakni melalui uji DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidannya. Adapun tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini yakni menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi daun sambiloto dan daun pisang batu dengan metode DPPH. Urgensi penelitian ini adalah dengan dikembangkannya nutrasetikal yang mampu menangkal radikal bebas maka dapat menjawab ancaman besar penumpukan radikal bebas yang akan menjadi cikal bakal penyakit degeneratif di tubuh manusia.

2. METODE

2.1. Jenis Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian ini mengusung jenis penelitian eksperimental laboratorium yang mana penelitian berdasarkan pengujian langsung yang berlangsung di laboratorium. Adapun proses penelitian ini meliputi pembuatan simplisia (yang terdiri dari sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan pengemasan), ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak dari sampel dan melakukan hingga aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

2.2. **Alat dan Bahan Penelitian**

Dalam melaksanakan penelitian ini adapun bahan-bahan yang digunakan meliputi aqua destilata, daun sambiloto, daun pisang batu, etanol 96%, reagen DPPH (2,2 -difenil-1-pikrihidrazil), dan juga standar vitamin C. Adapun alat yang digunakan meliputi gelas beaker (ukuran 50 ml dan 100 ml), gelas ukur (ukuran 10 ml dan 100 ml), labu ukur (5 ml, 10 ml, 100 ml), timbangan analitik, mikropipet (ukuran 100-1000 μ l), pipet tetes, bulbfiller, dan seperangkat alat spektrofotometer UV-VIS.

2.3. **Waktu dan Tempat penelitian**

Penelitian dilaksanakan selama 14 hari, mulai dari tanggal 16-29 Agustus 2023. Penelitian dilaksanakan di laboratorium bersama Fakultas MIPA Universitas Udayana dengan menganalisis aktivitas antioksidan menggunakan taraf IC50.

2.4. **Subjek Penelitian**

Subjek penelitian yang digunakan yaitu ekstrak etanol daun sambiloto, ekstrak etanol daun pisang batu, dan kombinasi ekstrak etanol daun sambiloto dan ekstrak etanol daun pisang batu yang dinilai aktivitas antioksidannya melalui uji DPPH dengan taraf IC50.

2.5. **Prosedur Instrumen**

2.5.1. **Pembuatan Simplisia**

Sejumlah 2 kg daun sambiloto, selanjutnya dilakukan sortasi basah dipisahkan bagian tumbuhan lain seperti batang, tangkai, dan bunga daun karena hanya menggunakan bagian daun saja. Lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir. Setelah dicuci daun sambiloto dirajang untuk memudahkan proses pengeringan dan dilakukan pengeringan pada oven dengan suhu 60°C selama 3 hari.

Setelah kering didapatkan simplisia daun sambiloto, setelah itu dilakukan proses sortasi kering untuk memisahkan dengan bahan yang tidak digunakan, selanjutnya daun sambiloto kering diserbukkan dengan blender dan didapatkan 300 gram serbuk daun sambiloto yang siap diekstraksi. Perlakuan yang sama dilakukan juga pada daun pisang batu hingga didapatkannya serbuk daun pisang batu yang sudah siap diekstraksi.

2.5.2. **Ekstraksi Sampel**

Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi yakni dengan cara merendam sampel dengan pelarut yang sesuai dengan analit yang akan dicari [7]. Dalam pembuatan ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu menggunakan pelarut etanol 96%.

Hal tersebut disebabkan analit yang ingin dicari yaitu kuersetin memiliki sifat yang cenderung polar [8] oleh karena itu digunakan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang menyerupai yaitu etanol 96%. Proses maserasi daun sambiloto dilakukan di dalam toples kaca yang telah ditutupi lapisan penutup pada permukaan toples agar terhindar dari sinar matahari.

Adapun prosedurnya dimulai dengan cara sebanyak 100gram sampel serbuk daun sambiloto ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml dan diaduk hingga seluruh serbuk berinteraksi dengan pelarut. Kemudian sampel didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam dilanjutkan dengan proses penyaringan untuk memisahkan residu dan juga maseratnya.

Proses tersebut dilakukan dengan proses re-maserasi sebanyak 2 kali. Seluruh hasil maserat ditampung dan dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Proses tersebut juga dilakukan pada serbuk simplisia daun pisang batu.

2.5.3. Prosedur Uji DPPH

Pembuatan Larutan DPPH (100 ppm)

Sejumlah 10 mg DPPH (BM 394,32) ditimbang seksama dan ditambahkan sedikit etanol 96% hingga larut lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas. Pengerjaan dilakukan pada wadah gelap dan kondisi yang terhindar dari cahaya.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan yang digunakan adalah 3 mL DPPH dimasukkan ke dalam kuvet, dengan menggunakan blanko etanol 96%. Kuvet dimasukkan ke dalam spektrofotometri UV-Vis. Kemudian dilakukan skimming panjang gelombang pada rentang 400-600 nm, amati hingga diperoleh nilai absorbansi maksimal, yaitu pada panjang gelombang 517 nm. DPPH stabil pada waktu inkubasi 30 menit.

Pembuatan Kurva Baku Vitamin C

Ditimbang dengan seksama vitamin C 10 mg dan dilarutkan dalam 100 ml metanol 96% kemudian dikocok hingga homogen. Dari larutan induk vitamin C 100 ppm, kemudian dibuat dengan konsentrasi yaitu 10, 15, 20, 25, 30 ppm. Masing-masing seri vitamin c dipipet 1 mL di masukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL DPPH dikocok hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Vitamin C digunakan untuk pembandingan karena vitamin C memiliki aktivitas yang sangat kuat, serta salah satu antioksidan alami yang relatif aman dan tidak menimbulkan toksisitas.

Pembuatan Larutan Induk Sampel (100 ppm)

Sejumlah 10 mg ekstrak kental ditimbang saksama dan dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% kemudian dikocok hingga homogen. Dibuat 3 sampel dari ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu yaitu dengan perbandingan daun sambiloto (Sampel 1), daun pisang batu (Sampel 2), Kombinasi daun sambiloto dan daun pisang batu 1:1 (Sampel 3).

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Sampel

Larutan ekstrak sampel 1,2, dan 3 dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dengan cara dipipet larutan sampel 100 ppm sebanyak 500 µL pada labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas lalu dihomogenkan.

Pengujian dengan Spektrofotometri UV-VIS

Masing-masing seri sampel dipipet 1 mL di masukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL DPPH dikocok hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

2.6. Teknik Analisis Data

Data yang telah terkumpul pada penelitian ini, baik dari hasil eksperimen dan kajian pustaka dianalisis dengan teknik analisis deskriptif komparatif kualitatif-kuantitatif. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dinyatakan dengan *inhibition concentration* 50% atau

IC50. Nilai IC50 pada metode DPPH adalah konsentrasi sampel yang dapat menangkap 50% radikal bebas.

$$\%inhibisi = \frac{\text{absorbansi larutan blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi larutan blanko}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing - masing konsentrasi, selanjutnya dilakukan perhitungan regresi linier (x,y), dimana x sebagai konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan y sebagai persentase aktivitas (%) dari perhitungan ini akan diperoleh rumus $y = bx+a$. Kemudian pada rumus $y = bx+a$, untuk nilai y diganti menjadi 50 (karena menggunakan inhibisi 50%) maka akan diperoleh nilai x. Semakin rendah nilai IC50, maka aktivitas antioksidan semakin tinggi [9].

Tabel 1. Klasifikasi Nilai IC50

Nilai IC ₅₀	Antioksidan
<50 ppm	Sangat Kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah

(Sumber: Fikri, et al., 2020)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Pengujian Sampel Ekstrak Daun Sambiloto

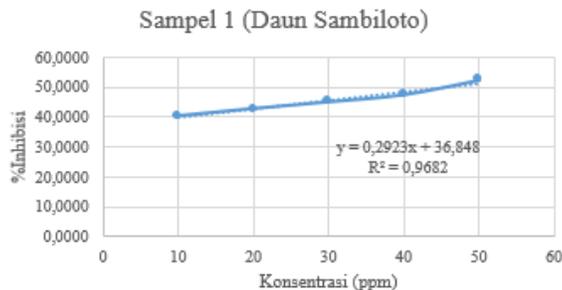
Berdasarkan tabel 2 menunjukkan besaran absorbansi dan juga persentase inhibisi yang dihasilkan oleh masing-masing seri konsentrasi sampel ekstrak daun sambiloto. Berdasarkan tabel 2 didapatkan nilai aktivitas antioksidan sampel ekstrak daun sambiloto dengan taraf IC50 sebesar 45 ppm.

Tabel 2 Hasil aktivitas antioksidan Sampel 1 (Ekstrak Daun Sambiloto)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Inhibisi	IC 50 (ppm)
10	0,7921	0,4731	40,2727	45
20		0,4534	42,7598	
30		0,4354	45,0322	
40		0,4159	47,4940	
50		0,3761	52,5186	

(Sumber: Pengolahan Data, 2023)

Pada gambar 1 telah ditampilkan grafik hubungan antara seri konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto dengan persentase inhibisi yang dihasilkan. Berdasarkan gambar 1 telah ditunjukkan persamaan regresi yang didapatkan yaitu $y = 0,2923x+36,848$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9682. Berdasarkan nilai koefisien determinasi didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9838 yang menunjukkan bahwa hasil analisis kurva regresi linier telah lulus uji linieritas [10].



Gambar 1. Kurva Regresi Linier Sampel 1
 (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2023)

3.2. Hasil Pengujian Sampel Ekstrak Daun Pisang Batu

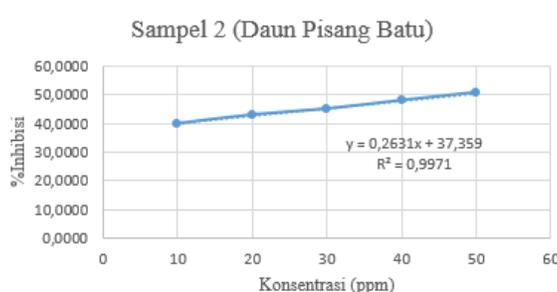
Berdasarkan tabel 3 menunjukkan besaran absorbansi dan juga persentase inhibisi yang dihasilkan oleh masing-masing seri konsentrasi sampel ekstrak daun pisang batu. Berdasarkan tabel 3 didapatkan nilai aktivitas antioksidan sampel ekstrak daun pisang batu dengan taraf IC50 sebesar 48 ppm.

Tabel 3. Hasil aktivitas antioksidan Sampel 2 (Ekstrak Daun Pisang Batu)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Inhibisi	IC 50 (ppm)
10	0,7921	0,4760	39,9066	48
20		0,4520	42,9365	
30		0,4360	44,9564	
40		0,4130	47,8601	
50		0,3913	50,5997	

(Sumber: Pengolahan Data, 2023)

Pada gambar 2 telah ditampilkan grafik hubungan antara seri konsentrasi sampel ekstrak daun pisang batu dengan persentase inhibisi yang dihasilkan. Berdasarkan gambar 2 telah ditunjukkan persamaan regresi yang didapatkan yaitu $y = 0,2631x + 37,359$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9971. Berdasarkan nilai koefisien determinasi didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9985 yang menunjukkan bahwa hasil analisis kurva regresi linier telah lulus uji linieritas [10].



Gambar 2. Kurva Regresi Linier Sampel 2
 (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2023)

3.3. Hasil Pengujian Sampel Kombinasi Ekstrak Daun Sambiloto dan Ekstrak Daun Pisang Batu

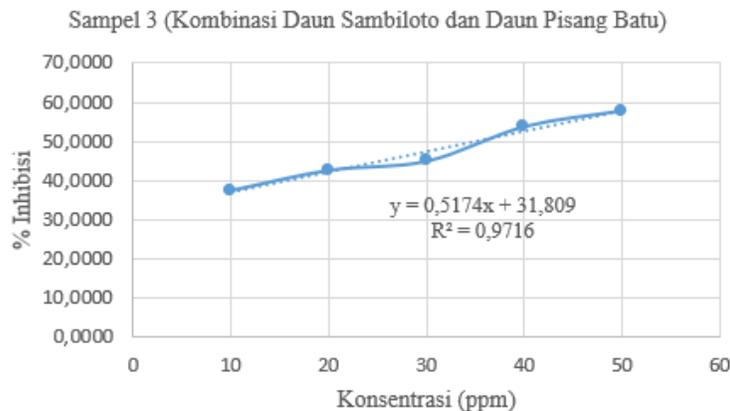
Berdasarkan tabel 4 menunjukkan besaran absorbansi dan juga persentase inhibisi yang dihasilkan oleh masing-masing seri konsentrasi pada sampel kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu. Berdasarkan tabel 4 didapatkan nilai aktivitas antioksidan sampel kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu dengan taraf IC₅₀ sebesar 35 ppm.

Tabel 4. Hasil aktivitas antioksidan Sampel 3 (Kombinasi Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Pisang Batu)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Inhibisi	IC 50 (ppm)
10		0,4950	37,5079	
20		0,4545	42,6209	
30	0,7921	0,4361	44,9438	35
40		0,3661	53,7811	
50		0,3343	57,7957	

(Sumber: Pengolahan Data, 2023)

Pada gambar 3 telah ditampilkan grafik hubungan antara seri konsentrasi sampel kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu dengan persentase inhibisi yang dihasilkan. Berdasarkan gambar 3 telah ditunjukkan persamaan regresi yang didapatkan yaitu $y = 0,5174x + 31,809$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9716. Berdasarkan nilai koefisien determinasi didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9856 yang menunjukkan bahwa hasil analisis kurva regresi linier telah lulus uji linearitas [10].



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Sampel 3

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2023)

3.4. Hasil Pengujian Standar Vitamin C

Berdasarkan tabel 5 menunjukkan besaran absorbansi dan juga persentase inhibisi yang dihasilkan oleh masing-masing seri konsentrasi yang pada standar vitamin C. Berdasarkan tabel 5 didapatkan nilai aktivitas antioksidan standar vitamin C dengan taraf IC₅₀ sebesar 24 ppm.

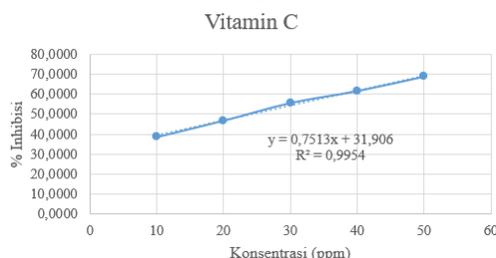
Tabel 5. Hasil aktivitas antioksidan Standar Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Inhibisi	IC 50 (ppm)
-------------------	-----------------	-------------------	-----------	-------------

10		0,4850	38,7704	
20		0,4201	46,9638	
30	0,7921	0,3501	55,8010	24
40		0,3030	61,7473	
50		0,2460	68,9433	

(Sumber: Pengolahan Data, 2023)

Pada gambar 4 telah ditampilkan grafik hubungan antara seri konsentrasi standar vitamin c dengan persentase inhibisi yang dihasilkan. Berdasarkan gambar 4 telah ditunjukkan persamaan regresi yang didapatkan yaitu $y = 0,7513x + 31,906$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9954. Berdasarkan nilai koefisien determinasi didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9976 yang menunjukkan bahwa hasil analisis kurva regresi linier telah lulus uji linearitas [10].



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Vitamin C
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2023)

3.5. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan data pengujian hasil analisis IC50 menunjukkan besaran aktivitas antioksidan pada sampel 1 (ekstrak daun sambiloto) sebesar 45 ppm, pada sampel 2 (ekstrak daun pisang batu) sebesar 48 ppm, dan pada sampel 3 (ekstrak kombinasi daun sambiloto dengan daun pisang batu 1:1) sebesar 35 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu (1:1) memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik karena dengan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan sampel lain telah dapat mereduksi radikal bebas. Secara keseluruhan seluruh sampel memiliki aktivitas antioksidan yang baik karena memenuhi persyaratan nilai aktivitas antioksidan yang dapat dikatakan sangat baik yaitu < 50 ppm [11] Hasil pengujian disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

No	Sampel	IC ₅₀
1	Sampel 1	45 ppm
2	Sampel 2	48 ppm
3	Sampel 3	35 ppm
4	Vitamin C	20 ppm

Sumber: Penelitian Pribadi (2023)

3.6. Pembahasan

Berdasarkan data yang didapatkan maka pada konsentrasi 35 ppm kombinasi ekstrak etanol daun sambiloto dan daun pisang batu telah mampu mereduksi 50% radikal bebas (larutan DPPH). Larutan DPPH merupakan radikal bebas yang stabil sehingga baik digunakan sebagai pembanding

dalam penentuan aktivitas antioksidan. Dalam pengujian aktivitas antioksidan komposisi larutan DPPH yang digunakan yaitu 2 kali dari senyawa sampel yang menunjukkan bahwa sampel mampu mereduksi bahkan 2 kali lipat jumlah volume yang digunakan. Berdasarkan hasil tersebut kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu dapat dinyatakan memiliki aktivitas yang baik sebagai antioksidan selain itu terbukti dapat bekerja secara sinergis dalam aktivitasnya sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang baik pada kombinasi ekstrak daun sambiloto dan daun pisang batu berasal dari senyawa flavonoid (quercetin) yang terkandung didalamnya [12] Mekanisme kerja senyawa senyawa Flavonoid dapat menangkal radikal bebas yaitu dengan menurunkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Dalam pembentukan ROS, oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang keluar karena bocornya rantai elektron. Reaksi antara oksigen dan elektron bebas inilah yang menghasilkan ROS dalam mitokondria. Antioksidan pada flavonoid (quercetin) dapat menyumbangkan atom hidrogennya sehingga menekan sifat radikal pada radikal bebas. Quercetin akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil. Selain itu berdasarkan penelitian dari [13] quercetin dapat menginduksi kapasitas antioksidan sel dengan mengaktifkan jalur p38 MAPK intraseluler, meningkatkan kadar GSH intraseluler dan menyediakan sumber donor hidrogen dalam menangkal reaksi radikal bebas. Diketahui bahwa faktor lingkungan yang merugikan akan meningkatkan produksi ROS. Faktor-faktor tersebut meningkatkan aktivitas rantai transpor elektron mitokondria, yang merupakan sumber penting produksi ROS intraseluler [13]. Tubuh melawan radikal bebas melalui dua sistem pertahanan utama: antioksidan non-enzimatik yang diwakili oleh vitamin dan elemen (seperti vitamin C, vitamin E, selenium, tembaga, mangan) dan antioksidan enzimatik yang diwakili oleh SOD, termasuk katalase, glutathionase Quercetin dapat meningkatkan sistem pertahanan antioksidan dan menjaga homeostasis oksidatif tidak hanya dengan mengatur sistem pertahanan antioksidan yang tidak bergantung pada enzim dan sistem pertahanan antioksidan yang dimediasi enzim tetapi juga dengan mengatur MAPK, NRFB, AMPK, dan jalur pensinyalan lainnya yang disebabkan oleh ROS [13].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan yaitu hasil analisis aktivitas antioksidan dengan parameter IC₅₀ menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan sampel 1 sebesar 45 ppm, sampel 2 sebesar 48 ppm dan sampel 3 sebesar 35 ppm. Seluruh sampel dapat dikategorikan baik karena dibawah 50 ppm. Hasil yang telah didapatkan dapat menjadi acuan pemanfaatan daun sambiloto dan daun pisang batu sebagai bahan produk nutrasetikal sebagai antioksidan alami. Adapun saran dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat dilakukan pengujian toksisitas untuk mengetahui keamanan dalam penggunaan produk nutrasetikal berbahan daun sambiloto dan daun pisang batu dalam jangka panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada dosen pembimbing yang telah membimbing penelitian ini hingga dapat diselesaikan dengan baik serta terima kasih untuk seluruh pihak Universitas Udayana atas izin penggunaan laboratorium di lingkungan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anies, *Penyakit Degeneratif: Mencegah dan Mengatasi Penyakit Degeneratif dengan Perilaku dan Pola Hidup Modern yang Sehat*, vol. Yogyakarta: Al-Ruzz Media, 2018.
- [2] E. Kurniasih, J. Tata Niaga, P. Negeri Lhokseumawe, and J. Teknik Kimia, “Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan,” vol. 3, no. 1, 2019.
- [3] T. G. Siriwa, F. Ferdinal, F. Kedokteran, and U. Tarumanagara, “Phytochemical Screening, Total Antioxidant Activity And Toxicity Test On Methanol Extract Of *Andrographis paniculata* Leaf”.
- [4] G. Kumar, D. Singh, J. A. Tali, D. Dheer, and R. Shankar, “Andrographolide: Chemical modification and its effect on biological activities,” *Bioorganic Chemistry*, vol. 95. Academic Press Inc., Jan. 01, 2020. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.103511.
- [5] P. Gaur, S. Sharma, S. Pandey, S. Bhattacharya, and S. Kant, “Pharmacological and Clinical Effects of *Andrographis paniculata*,” *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, vol. 4, no. 4, pp. 1889–1896, Jul. 2018, doi: 10.21276/ijlssr.2018.4.4.6.
- [6] T. N. Nhon Hoang, T. T. Phan, T. K. Lien Phan, N. H. Van Nguyen, T. A. Dao Dong, and T. H. Anh Le, “Phytochemical Screening, Extraction, and Determination of the Bioactivities of the Extract-Enriched Polyphenols and Saponins from *Musa balbisiana* Fruit,” *J Food Process Preserv*, vol. 2023, pp. 1–16, Mar. 2023, doi: 10.1155/2023/2581641.
- [7] S. Wulandari, R. A. Nurfitriani, and S. B. Kusuma, “Evaluation of the production of crude tannin extract from coffee husk as a feed additive for ruminant rations using the maceration method,” in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Institute of Physics, 2023. doi: 10.1088/1755-1315/1165/1/012037.
- [8] J. J. Hohakay, J. Pontoh, and A. Yudistira, “Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.)”
- [9] S. Anees Ali Jafri *et al.*, “Evaluation of some essential traditional medicinal plants for their potential free scavenging and antioxidant properties,” *J King Saud Univ Sci*, vol. 35, no. 3, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.jksus.2023.102562.
- [10] K. Rawat, A. Srivastava, S. Tandon, and G. P. Singh, “Method validation for simultaneous determination of four neonicotinoids in vegetables by liquid chromatography,” *Analytical Sciences*, vol. 39, no. 4, pp. 431–439, Apr. 2023, doi: 10.1007/s44211-022-00227-y.
- [11] F. Fikri and M. T. E. Purnama, “Pharmacology and phytochemistry overview on sauropus androgynous,” *Systematic Reviews in Pharmacy*, vol. 11, no. 6, pp. 124–128, 2020, doi: 10.31838/srp.2020.6.20.

- [12] R. Zanaria and M. Kamaluddin, “Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap GLUT 4 di Jaringan Adiposa dan Kadar Gula Darah Puasa pada Tikus Putih Jantan,” 2017.
- [13] K. Kawamura, F. Qi, and J. Kobayashi, “Potential relationship between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production,” *Journal of Radiation Research*, vol. 59. Oxford University Press, pp. ii91–ii97, Apr. 01, 2018. doi: 10.1093/jrr/rrx091.