

EVALUASI KOMPREHENSIF AKTIVITAS ANTIOKSIDAN IN VITRO MENGGUNAKAN DPPH DAN ABTS PADA TUMBUHAN PAKU *PTERIDIUM AQUILINUM* ASAL GUNUNG CIREMAI

Reva Roviurrohman¹, Stefy Minanda Yuniar², Yusfia Urwatul Wutsqa³, Dwi Retno Sari⁴, Indah Shaliha⁵

^{1,2,3,4}Program Studi Farmasi, STIKes KHAS Kempek, Indonesia

Article Info

Article history:

Received Sep 20, 2024

Revised Nov 9, 2024

Accepted Dec 07, 2024

Keywords:

Antioxidants

Pteridium aquilinum

DPPH

ABTS

Spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Pteridium aquilinum is a plant that has the potential as an antioxidant. Its secondary metabolites that function as antioxidants include flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and terpenoids. This study aims to compare the results of *P. aquilinum* antioxidant tests using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid (ABTS) methods. *P. aquilinum* extract was obtained by maceration using ethanol solvent. Phytochemical screening was carried out to identify flavonoids, terpenoids, phenolics, saponins, and alkaloids. The antioxidant activity test was carried out with quercetin as a reference solution. Absorbance measurements were carried out after 30 minutes of incubation using a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 515 nm. The results of qualitative phytochemical screening showed that the ethanol extract of *P. aquilinum* contained flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and phenolics. Antioxidant activity test of ethanol extract of *P. aquilinum* from Mount Ciremai showed that using the DPPH method, it was classified as a moderate antioxidant (119.16 ppm), while using the ABTS method, it was classified as a very strong antioxidant (3.2885 ppm). The comparison solution of quercetin was classified as a very strong antioxidant with a value of 9.25 ppm.

This is an open access article under the [CC BY-SA](#) license.



Corresponding Author:

Yusfia Urwatul Wutsqa,
Department of Pharmacy,
STIKes KHAS Kempek,
Jl. KH. Aqiel Siroj, Kedungbunder, Gempol, Cirebon 45161, West Java, Indonesia.
Email: yusfiaurwuts@stikeskhas.ac.id

1. INTRODUCTION

Indonesia merupakan negara tropis dengan karakteristik suhu tinggi dan tingkat radiasi ultraviolet (UV) yang sangat tinggi. Paparan UV secara berkepanjangan dapat memicu pembentukan radikal bebas di dalam tubuh yang berpotensi menimbulkan kerusakan pada tingkat sel, jaringan, maupun organ. Pembentukan radikal bebas dapat terjadi melalui proses metabolisme

seluler normal, peradangan, malnutrisi (ketidakseimbangan gizi), serta sebagai respons terhadap faktor eksternal seperti polusi lingkungan, radiasi UV, dan asap rokok. Upaya yang paling efektif untuk mengurangi kerusakan sel akibat oksidasi radikal bebas adalah dengan pemberian antioksidan. Berbagai studi epidemiologis menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan memberikan manfaat kesehatan yang signifikan. Hal ini disebabkan oleh kandungan beragam vitamin (A, C, E, dan folat), serat, serta senyawa bioaktif lain seperti polifenol yang memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas (Chaudhary *et al.*, 2023).

Tumbuhan paku umumnya dimanfaatkan sebagai tanaman hias, bahan bangunan, dan bahan kerajinan. Namun, pemanfaatannya sebagai sumber bahan obat masih belum banyak dieksplorasi. Hal ini terutama disebabkan oleh lebih seringnya penggunaan tumbuhan tingkat tinggi sebagai bahan obat. Meskipun demikian, potensi tumbuhan paku sebagai sumber obat semakin mendapat perhatian, khususnya dalam bidang etnomedisin dan fitokimia (Cao *et al.*, 2017).

Gunung Ciremai, yang terletak di Jawa Barat, merupakan puncak tertinggi di provinsi tersebut sekaligus kawasan penting untuk konservasi keanekaragaman hayati. Gunung ini termasuk dalam kawasan Taman Nasional Gunung Ciremai yang menjadi habitat bagi berbagai jenis spesies. Kawasan taman nasional ini kaya akan keanekaragaman flora, khususnya pada ekosistem hutan pegunungan. Keunikan karakteristik ekologisnya menjadikan kawasan ini sebagai wilayah kunci untuk kegiatan konservasi dan ekowisata. *Pteridium aquilinum* merupakan spesies paku darat yang sangat dominan dan dikenal memiliki sifat kosmopolitan, sehingga mampu tumbuh mulai dari dataran rendah hingga ketinggian 2.800 meter. Tumbuhan ini tumbuh optimal di lingkungan terbuka dengan sinar matahari penuh dan mampu bertahan di wilayah pegunungan yang memiliki ketersediaan air terbatas. Spesies ini beradaptasi dengan baik pada kondisi suhu udara rata-rata 31°C, suhu tanah 30°C, intensitas cahaya 1701 lux, kelembapan 49%, dan pH tanah sekitar 6,1 (Pereira *et al.*, 2023).

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Keberadaan elektron tidak berpasangan tersebut menjadikan senyawa ini sangat reaktif karena berusaha berpasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron dari molekul di sekitarnya, seperti lipid, protein, atau asam nukleat. Oksidasi merupakan reaksi kimia yang memindahkan elektron dari suatu zat ke agen pengoksidasi. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan seluler di dalam tubuh (Martemucci *et al.*, 2022). Antioksidan adalah senyawa atau komponen kimia yang, pada konsentrasi atau jumlah tertentu, mampu menghambat atau memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Antioksidan yang diproduksi secara alami oleh tubuh manusia tidak mencukupi untuk melawan radikal bebas, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari sumber eksternal. Antioksidan alami menjadi alternatif yang baik untuk memenuhi kebutuhan tersebut karena aman bagi tubuh dan mudah diperoleh (Tumilaar *et al.*, 2023).

Penelitian ini menggunakan metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) dan 2,2'-Azino-Bis-3-Etilbenzotiazolin-6-Asam Sulfonat (ABTS). DPPH merupakan senyawa radikal bebas organik yang umum digunakan sebagai agen pengoksidasi dalam penelitian antioksidan. Dalam pengujian tersebut, DPPH dimanfaatkan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa. DPPH sangat sensitif terhadap paparan cahaya sehingga mudah terdegradasi. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning pucat. Semakin cepat suatu senyawa mereduksi DPPH, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Baliyan *et al.*, 2022). Metode ABTS (2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat) merupakan uji untuk mengukur jumlah radikal yang dapat dinetralkan oleh antioksidan. Prinsip uji ABTS adalah dekolorisasi kation ABTS untuk menentukan kapasitas antioksidan, yang terjadi melalui reaksi antara antioksidan dan kation radikal ABTS dalam keberadaan kalium persulfat. ABTS memiliki karakteristik warna biru kehijauan yang berubah menjadi bentuk non-radikal (tidak berwarna) ketika direduksi oleh antioksidan. Metode ini dianggap sangat fleksibel karena dapat diaplikasikan pada berbagai tingkat pH dan larut baik dalam pelarut air maupun organik (Munteanu & Apetrei, 2021). Metode DPPH dan ABTS dipilih secara komparatif karena keduanya memiliki karakteristik berbeda dalam mengukur aktivitas antioksidan. DPPH banyak digunakan untuk senyawa lipofilik, sedangkan ABTS lebih fleksibel untuk senyawa hidrofilik maupun lipofilik, sehingga kombinasi

keduanya dapat memberikan gambaran yang lebih menyeluruh dan valid mengenai potensi antioksidan. Pemilihan tumbuhan paku dari Gunung Ciremai didasarkan pada tingginya keanekaragaman hayati kawasan tersebut serta masih terbatasnya kajian fitokimia dan bioaktivitas pada kelompok paku, padahal secara etnofarmakologi beberapa spesies telah digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Kondisi ekologi Gunung Ciremai yang unik juga berpotensi menghasilkan profil metabolit sekunder khas yang mendukung pengembangan sumber antioksidan alami baru. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi secara komprehensif aktivitas antioksidan *in vitro* dari ekstrak daun *Pteridium aquilinum* asal Gunung Ciremai. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan dua metode yang paling banyak digunakan, yaitu DPPH dan ABTS, guna memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas. Oleh karena itu, penelitian komparatif menggunakan metode DPPH dan ABTS penting dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada sampel *Pteridium aquilinum*.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun *P. aquilinum* yang didapatkan dari Kabupaten Kuningan, Lereng Psegunungan Ciremai Jawa barat. Selanjutnya bahan yang digunakan pada penelitian adalah pelarut etanol, pelarut methanol, senyawa DPPH dan ABTS, asam klorida (HCl), serbuk magnesium (Mg), Asam Asetat Anhidrat (CH₃CO)₂O, Kloroform (CHCl₃), Asam Sulfat (H₂SO₄), Reagen Mayer, ferric chloride (FeCl₃), *quercetin*, dan etanol.

Prosedur Penelitian

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan 40 mg ekstrak ke dalam 10 ml air panas, kemudian campuran direbus selama 5 menit. Selanjutnya, 5 ml filtrat diambil, ditambahkan 0,05 mg serbuk magnesium (Mg) dan 1 ml HCl pekat, lalu dikocok kuat. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi merah, kuning, atau oranye (Nasution *et al.*, 2022).

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan 2 gram ekstrak sampel ke dalam 2 ml kloroform, kemudian dikocok hingga homogen. Setelah itu, ditambahkan 2 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Warna hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan cincin berwarna coklat menandakan adanya triterpenoid (Ojediran *et al.*, 2024).

Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan 40 mg ekstrak dalam beberapa tetes HCl 1% hingga larut sempurna, kemudian ditambahkan 1 ml pereaksi Mayer. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan atau kekeruhan pada larutan (Olalekan, 2023).

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan 40 mg ekstrak dalam 10 ml air, kemudian dikocok selama 1 menit. Selanjutnya, ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Terbentuknya busa stabil selama ±7 menit menunjukkan hasil positif adanya kandungan saponin (Nurlila *et al.*, 2024).

Uji fenolik dilakukan dengan melarutkan 40 mg ekstrak dalam 4 ml air. Setelah larut, 2 ml larutan diambil dan ditambahkan 1 ml larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Gizaw *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH diawali dengan menimbang 5 mg serbuk DPPH, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan etanol. Larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan etanol hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 50 ppm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengambil 2 mL larutan DPPH, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL etanol 96% dan dihomogenkan. Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan blanko pada rentang panjang gelombang maksimum 400–800 nm. Larutan uji dibuat dengan menimbang 10 mg ekstrak sampel, melarutkannya dalam etanol hingga homogen, lalu dipindahkan ke dalam labu takar dan ditambahkan etanol hingga tanda batas untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk ini selanjutnya digunakan untuk membuat seri pengenceran pada berbagai konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150

ppm, 200 ppm, dan 250 ppm) yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan. Pengenceran dilakukan dengan memipet volume tertentu dari larutan stok kemudian menambahkan etanol hingga konsentrasi yang diinginkan. Pembuatan larutan standar kuersetin dilakukan dengan melarutkan 2 mg kuersetin dalam etanol dan memindahkannya ke dalam labu takar 10 mL hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 200 ppm. Larutan stok 200 ppm ini kemudian diencerkan untuk menghasilkan variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm (Gulcin & Alwasel, 2023).

Aktivitas antioksidan ekstrak daun *P. aquilinum* diukur dengan mengambil 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm) serta larutan kuersetin pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Selanjutnya, ditambahkan 2 mL larutan DPPH pada setiap konsentrasi, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Seluruh pengujian dilakukan dalam tiga kali ulangan. Parameter yang umum digunakan untuk menginterpretasikan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang mampu mereduksi 50% aktivitas DPPH. Perhitungan nilai IC_{50} memerlukan data persentase inhibisi yang diperoleh dari hasil pengujian. Persentase inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus berikut (Hu & Li, 2022) :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Larutan stok ekstrak daun *P. aquilinum* dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak pekat daun, melarutkannya dalam metanol hingga homogen, kemudian menambahkan metanol hingga volume akhir 50 mL menggunakan labu takar. Dengan demikian diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm yang digunakan sebagai sampel uji aktivitas antioksidan.

Pembuatan larutan stok kuersetin 1000 ppm dilakukan dengan menimbang secara tepat 10 mg kuersetin, melarutkannya dalam metanol, lalu menambahkan metanol hingga volume akhir 10 mL menggunakan labu takar. Larutan ini digunakan sebagai kontrol positif/pembanding dalam uji aktivitas antioksidan.

Pembuatan larutan stok ABTS dilakukan dengan menimbang 0,385 g serbuk ABTS dan melarutkannya dalam 100 mL akuades. yang selanjutnya digunakan sebagai reagen utama dalam metode ABTS. Secara terpisah, 0,066 g serbuk $K_2S_2O_8$ ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Kedua larutan tersebut kemudian dicampurkan dalam ruang gelap, lalu volumenya disesuaikan menjadi 25 mL dengan metanol. Campuran diinkubasi selama 12–16 jam. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan mengambil 0,1 mL larutan ABTS dan menambahkannya ke larutan kuersetin 4 ppm dalam labu takar 5,0 mL. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pemindaian panjang gelombang 700–750 nm hingga diperoleh panjang gelombang serapan maksimum (Puspa *et al.*, 2024).

Pengukuran aktivitas penangkal radikal ABTS oleh kuersetin dilakukan dengan memipet masing-masing 1,6 mL, 2 mL, 2,4 mL, 2,8 mL, dan 3,2 mL larutan stok kuersetin, kemudian ditambahkan metanol hingga volume akhir 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm secara berurutan. Untuk setiap konsentrasi, 0,1 mL larutan dimasukkan ke dalam labu takar, kemudian ditambahkan 2 mL larutan ABTS dan 4 mL metanol. Campuran dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Pengukuran aktivitas penangkal radikal ABTS oleh ekstrak daun *P. aquilinum* dilakukan dengan menyiapkan larutan pada konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm yang diperoleh dari larutan stok ekstrak daun *P. aquilinum* 1000 ppm. Untuk setiap konsentrasi, 0,1 mL larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL larutan ABTS dan 4 mL metanol sehingga volume akhir menjadi 6,1 mL. Campuran dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 750 nm, dan setiap pengukuran dilakukan dalam tiga kali ulangan (Puspa *et al.*, 2024). Parameter yang umum digunakan untuk menginterpretasikan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS adalah nilai IC_{50} . Persentase inhibisi pada metode ABTS dapat dihitung menggunakan rumus yang sama seperti pada metode DPPH (Al-Mijalli *et al.*, 2022).

3. RESULTS AND ANALYSIS

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak *P. aquilinum* mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi kuning setelah penambahan 1 mL larutan HCl pekat dan 0,1 gram serbuk magnesium ke dalam tabung reaksi yang berisi 0,05 gram ekstrak (Godlewska *et al.*, 2023).

Uji alkaloid memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning. Senyawa alkaloid bereaksi dengan ion tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks yang mengendap. Reaksi ini terjadi karena ion merkuri sebagai ion logam berat memiliki kemampuan mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa (Maheshwaran *et al.*, 2024)(Tabel 1).

Uji steroid memberikan hasil positif. Pada uji ini, etil asetat bereaksi dengan asam sulfat pekat menghasilkan warna hijau atau biru, sedangkan reaksi dengan anhidrida asetat melibatkan proses asetilasi gugus –OH pada molekul steroid (Ojediran *et al.*, 2024). Mekanisme reaksi pada uji steroid melibatkan proses kondensasi, di mana molekul air (H₂O) dilepaskan dan senyawa bereaksi dengan karbokation. Proses diawali dengan asetilasi gugus hidroksil menggunakan anhidrida asetat. Selanjutnya, terjadi pelepasan atom hidrogen beserta elektronnya yang menyebabkan pergeseran ikatan rangkap. Senyawa hasil reaksi kemudian mengalami resonansi, bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Karbokation ini memulai adisi elektrofilik yang disertai pelepasan hidrogen. Pelepasan hidrogen dan elektronnya memperluas sistem konjugasi senyawa, menghasilkan cincin berwarna coklat (Steinacher, n.d.)(Tabel 1).

Uji saponin memberikan hasil positif, yang dikaitkan dengan sifat seperti sabun di mana adanya gugus hidrofilik dan hidrofobik memudahkan pembentukan busa. Munculnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mampu menghasilkan busa di dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya (Rai *et al.*, 2021) (Tabel 1).

Uji Fenolik Memberikan Hasil Positif

Senyawa fenolik bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (–OH). Oleh karena itu, ketika sampel diberi larutan FeCl₃ 10%, terjadi perubahan warna menjadi biru tua atau hijau tua yang menandakan adanya senyawa fenolik. Reaksi ini terjadi karena FeCl₃ berinteraksi dengan gugus hidroksil pada senyawa fenolik (Rao *et al.*, 2016) (Tabel 1).

Tabel 1. Skrining Fitokimia

Kandungan Metabolit Sekunder	Reagen	Hasil
Flavonoid	Magnesium and HCl	Ada
Alkaloid	Mayer	Ada
Steroid	Kloroform, Asam Asetat Anhidrat, dan Asam Sulfat	Ada
Saponin	HCl	Ada
Fenolik	FeCl ₃	Ada

Perhitungan Aktifitas Antioksidan Kuersetin

Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena merupakan senyawa flavonoid yang memiliki berbagai aktivitas biologis dengan kemampuan kuat dalam menangkap radikal bebas (Vollmannová *et al.*, 2024). Aktivitas antioksidan kuersetin diukur berdasarkan perhitungan persentase inhibisi, yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 9,275 (Tabel 2). Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = 3,9086x + 13,7462$ dengan nilai r^2 sebesar 0,9652.

Tabel 2. Perhitungan Aktifitas Antioksidan Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	Regresi Linier	IC ₅₀	Keterangan
-------------	------------	------------	----------------	------------------	------------

Evaluasi Komprehensif Aktivitas Antioksidan In Vitro Menggunakan DPPH... (Reva Roviurrohman)

(ppm)	(nm)		(ppm)	(Kategori Antioksidan)
2	0.800	18,75	Y = 3,9086 x + 13,7462	9,275 Sangat Kuat
4	0.661	32,89		
6	0.167	37,36		
8	0.538	45,41		
10	0.477	51,57		

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Pteridium aquilinum* Menggunakan Metode ABTS

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan persentase inhibisi, yaitu 81,18% pada konsentrasi 8 ppm, 82,27% pada 10 ppm, 82,51% pada 12 ppm, 83,06% pada 14 ppm, dan 83,69% pada 16 ppm. Nilai IC₅₀ dihitung dengan memplot kurva hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi, sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = ax + b$, di mana x merupakan konsentrasi (ppm) dan y merupakan persentase inhibisi. Persamaan regresi linier yang dihasilkan adalah $y = 2,7541x + 40,973$ dengan nilai r^2 sebesar 0,9907. Pada persamaan ini, koefisien y mewakili persentase inhibisi, sedangkan nilai x menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal ABTS. Hubungan tersebut dapat diamati pada kurva aktivitas antioksidan ekstrak daun *P. aquilinum* (Tabel 3).

Tabel 3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Pteridium aquilinum* Menggunakan Metode AB

Concentration (ppm)	Absorbance (nm)	% inhibition	Linear Regression	IC ₅₀ (ppm)	Keterangan (Kategori Antioksidan)
8	0,080	81.18	Y = 2.7541x + 40.973	3,2885	Sangat kuat
10	0,075	82.27			
12	0,074	82.51			
14	0,072	83.06			
16	0,069	83.69			

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Pteridium aquilinum* Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun paku menggunakan metode DPPH menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. DPPH merupakan senyawa radikal bebas stabil berwarna ungu tua yang akan berubah menjadi kuning ketika bereaksi dengan senyawa yang mengandung antioksidan. Perubahan warna menjadi kuning ini terjadi karena ekstrak etanol daun paku mengandung senyawa yang mampu mendonorkan atom hidrogen, sehingga menyebabkan reduksi molekul dpph dan pasangan elektron terbentuk, yang ditunjukkan dengan perubahan warna larutan dpph dari ungu menjadi kuning jernih (Touahria *et al.*, 2024).

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan persentase inhibisi, yaitu 18,75% pada konsentrasi 2 ppm, 32,89% pada 4 ppm, 37,36% pada 6 ppm, 45,41% pada 8 ppm, dan 51,57% pada 10 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan standar kuersetin, nilai absorbansi juga meningkat. Sebaliknya, semakin rendah konsentrasi larutan standar kuersetin, nilai absorbansi menurun. Aktivitas antioksidan ditentukan melalui perhitungan nilai ic₅₀ menggunakan persamaan regresi antara persentase inhibisi dan konsentrasi sampel. Berdasarkan kurva aktivitas antioksidan ekstrak kuersetin daun *P. Aquilinum*, diperoleh persamaan regresi linier $y = ax + b$, di mana x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah persentase inhibisi. Kurva regresi linier tersebut menghasilkan persamaan $y = 3,9086x + 13,7462$ dengan nilai r^2 sebesar 0,9652 (tabel 4) (Al-Naqeb *et al.*, 2025).

Tabel 4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Pteridium aquilinum* Menggunakan Metode DPPH

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	Regresi Linier	IC ₅₀	Keterangan
-------------	------------	------------	----------------	------------------	------------

(ppm)	(nm)		(ppm)	(Kategori Antioksidan)
Blanko	0,985	0		
50	0,828	15,91		
75	0,641	34,92	$Y = 3.9086X + 13.7462$	119,16 Sedang
100	0,570	42,13		
125	0,455	53,77		
150	0,381	61,29		

Berdasarkan hasil kurva linier, nilai IC_{50} kuersetin adalah 9,275 ppm, yang menunjukkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, dengan kemampuan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol daun *P. aquilinum* pada metode DPPH yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 119,16 ppm. Sementara itu, ekstrak metanol daun *P. aquilinum* pada metode ABTS memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,2885 ppm, yang tergolong sangat kuat dibandingkan hasil pada metode dpph. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan hasil antara metode DPPH dan ABTS. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi, di mana pada uji DPPH digunakan pelarut etanol, sedangkan pada uji abts digunakan pelarut metanol. Temuan ini juga mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan yang terdapat pada *P. aquilinum* bersifat polar, karena sangat mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dalam mendeteksi kapasitas antioksidan. Keunggulan ini diduga terkait dengan sifat metode ABTS yang mampu bekerja pada berbagai tingkat pH, larut dalam pelarut polar maupun non-polar, serta dapat mengukur aktivitas penangkal radikal pada fase air dan lemak. Kondisi tersebut membuat ABTS lebih efektif dalam mengukur aktivitas antioksidan senyawa polar pada ekstrak *P. aquilinum* dibandingkan metode DPPH.

Penelitian lain melaporkan bahwa *P. aquilinum* mengandung jenis polisakarida yang disebut pap-3, yang memiliki struktur kompleks dengan berbagai komponen gula. Polisakarida ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat serta efek imunomodulator, sehingga berpotensi dikembangkan untuk aplikasi di bidang pangan dan industri medis (Zhao *et al.*, 2022).

4. CONCLUSION

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Pteridium aquilinum* asal Gunung Ciremai menunjukkan hasil berbeda antar metode. Berdasarkan DPPH, ekstrak dikategorikan sebagai antioksidan sedang ($IC_{50} = 119,16$ ppm), sedangkan pada ABTS aktivitasnya tergolong sangat kuat ($IC_{50} = 3,29$ ppm), bahkan lebih poten dibanding larutan pembanding kuersetin ($IC_{50} = 9,25$ ppm). Temuan ini menegaskan bahwa *P. aquilinum* berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang kuat, dan pendekatan komparatif DPPH–ABTS penting untuk menggambarkan aktivitas antioksidan secara lebih komprehensif.

REFERENCES

- Al-Mijalli, S. H., Mrabti, H. N., Ouassou, H., Flouchi, R., Abdallah, E. M., Sheikh, R. A., Alshahrani, M. M., Awadh, A. A. Al, Harhar, H., Omari, N. El, Qasem, A., Assaggaf, H., Moursi, N. H., Bouyahya, A., Gallo, M., & Faouzi, M. E. A. (2022). Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Diabetic, Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Inflammatory, and Antimicrobial Properties of *Arbutus unedo* L. and *Laurus nobilis* L. *Essential Oils. Life*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/life12111876>
- Al-Naqeb, G., Pietrolucci, F., Commisso, M., Kalmpourtzidou, A., Oldani, A., Boussetta, S., Maccarini, B., De Giuseppe, R., & Cena, H. (2025). Metabolomic Profiling and In Vitro Evaluation of Cytotoxic, Genotoxic, and Antigenotoxic Effects of *Staphylea pinnata* L. Extract from Italian Flora. *Biomolecules*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/biom15030385>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>

- Cao, H., Chai, T. T., Wang, X., Morais-Braga, M. F. B., Yang, J. H., Wong, F. C., Wang, R., Yao, H., Cao, J., Cornara, L., Burlando, B., Wang, Y., Xiao, J., & Coutinho, H. D. M. (2017). Phytochemicals from fern species: potential for medicine applications. *Phytochemistry Reviews*, 16(3), 379–440. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9488-7>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Gizaw, A., Marami, L. M., Teshome, I., Sarba, E. J., Admasu, P., Babele, D. A., Dilba, G. M., Bune, W. M., Bayu, M. D., Tadesse, M., & Abdisa, K. (2022). Phytochemical Screening and in Vitro Antifungal Activity of Selected Medicinal Plants against *Candida albicans* and *Aspergillus niger* in West Shewa Zone, Ethiopia. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3299146>
- Godlewska, K., Pacyga, P., Najda, A., & Michalak, I. (2023). Investigation of Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Biologically Active Plant-Derived Natural Products. *Molecules*, 28(14). <https://doi.org/10.3390/molecules28145572>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. In *Processes* (Vol. 11, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hu, A., & Li, L. (2022). Effects of ultrasound pretreatment on functional property, antioxidant activity, and digestibility of soy protein isolate nanofibrils. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106193>
- Islam Touahria, Y., Chafai, N., Moumeni, O., Boubli, A., Mehri, M., & Benguerba, Y. (2024). Synthesis, characterization, and comprehensive computational analysis of aromatic hydrazone compounds: Unveiling quantum parameters, evaluating antioxidant activity, and investigating molecular docking interactions. *Journal of Molecular Liquids*, 403, 124897. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124897>
- Maheshwaran, L., Nadarajah, L., Senadeera, S. P. N. N., Ranaweera, C. B., Chandana, A. K., & Pathirana, R. N. (2024). Phytochemical Testing Methodologies and Principles for Preliminary Screening/ Qualitative Testing. *Asian Plant Research Journal*, 12(5), 11–38. <https://doi.org/10.9734/aprj/2024/v12i5267>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. In *Oxygen* (Vol. 2, Issue 2, pp. 48–78). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nasution, S. L. R., Ginting, C. N., & Lister, I. N. E. (2022). Determination of Total Flavonoid Level and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction of Mangkokan Leaf Extract (*Nothopanax scutellarium* [Burm.f] Merr.). *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1001–1005. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.8131>
- Nurlila, R. U., Fua, J. La, Andriani, R., Armayani, Rahmawati, S., & Anggun, A. (2024). Analysis of Fiber Content and Antioxidant Activity of Bamboo Shoots (*Dendrocalamus asper*) to Support Functional Foods. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*, 7(2), 110–121. <https://doi.org/10.31632/ijalsr.2024.v07i02.007>
- Ojediran, T. K., Alagbe, O. J., Victor, D., & Adewale, E. (2024). Analysis of *Kigelia africana* (Lam.) Benth. fruit powder's antioxidant and phytochemical properties. *Brazilian Journal of Science*, 3(7), 38–49. <https://doi.org/10.14295/bjs.v3i7.596>
- Olalekan, A. M. (2023). Comparative Phytochemical and Antioxidant Analysis of the Leaf Extracts of Two Nigerian Medicinal Plants. *Journal of Science and Mathematics Letters*, 11(1), 30–38. <https://doi.org/10.37134/jsml.vol11.1.4.2023>
- Pereira, N. A. de A., Arief, H., Hermawan, R., & Sudradjat, A. (2023). Empowerment of the Community of Cisantana as a buffer village of Gunung Ciremai National Park through

- Ecotourism Program. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan*, 13(1), 156–167. <https://doi.org/10.29244/jpsl.13.1.156-167>
- Puspa, V. R., Zumaidar, Nurdin, & Fitmawati. (2024). Phytochemical, antioxidant, and in-silico studies of *Erigeron sumatrensis* from Gayo Highlands, Indonesia as a potential inhibitor of Type-2 diabetes mellitus. *Biodiversitas*, 25(7), 3179–3192. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250739>
- Rai, S., Acharya-Siwakoti, E., Kafle, A., Devkota, H. P., & Bhattarai, A. (2021). Plant-Derived Saponins: A Review of Their Surfactant Properties and Applications. In *Sci* (Vol. 3, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/sci3040044>
- Rao, U. S. M., Abdurrazak, M., & Mohd, K. S. (2016). Penyaringan fitokimia, jumlah asai kandungan flavonoid dan fenolik pelbagai ekstrak pelarut tepal *Musa paradisiaca*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(5), 1181–1190. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2005-25>
- Steinacher, M. (n.d.). *Synthesis of Glucuronidated Metabolites as Reference Substances for Doping Analysis* *Chemische Fakultät*.
- Tumilaar, S. G., Hardianto, A., Dohi, H., & Kurnia, D. (2023). A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. In *Journal of Chemistry* (Vol. 2024). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2024/5594386>
- Vollmannová, A., Bojňanská, T., Musilová, J., Lidiková, J., & Cifrová, M. (2024). Quercetin as one of the most abundant represented biological valuable plant components with remarkable chemoprotective effects - A review. In *Heliyon* (Vol. 10, Issue 12). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33342>
- Zhao, Z. H., Ju, X. Y., Wang, K. W., Chen, X. J., Sun, H. X., & Cheng, K. J. (2022). Structure Characterization, Antioxidant and Immunomodulatory Activities of Polysaccharide from *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Foods*, 11(13). <https://doi.org/10.3390/foods11131834>