

## Anti-Radical Activity Test of Fractions from Ashitaba Herbs (*Angelica keiskei*)

Ni Made Ayu Dinda Permatasari<sup>1</sup>, Handa Muliastari<sup>1</sup>, Nisa Isneni Hanifa<sup>1</sup>, Agriana Rosmalina Hidayati<sup>1\*</sup>, Dedianto Hidajat<sup>1</sup>, Wahida Hajrin<sup>1</sup>, Adila Rizkika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

### Article History

Received : September 18<sup>th</sup>, 2024

Revised : September 28<sup>th</sup>, 2024

Accepted : October 23<sup>th</sup>, 2024

\*Corresponding Author: **Agriana Rosmalina Hidayati**,  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;  
Email: [agriana.rh@unram.ac.id](mailto:agriana.rh@unram.ac.id)

**Abstract:** Acne vulgaris is a chronic inflammation of the skin's pilosebaceous unit, caused by oxidative stress due to reactive oxygen species (ROS) release. Oxidative stress conditions can be treated using natural antioxidants, namely ashitaba (*Angelica keiskei*). In contrast to previous studies that tested column chromatography fraction of the macerated ethanol extract, this study examined the liquid-liquid partition fraction of 80% methanol sonicated extract of Ashitaba herb. This study aims to determine the antiradical activity of various fractions of Ashitaba herb extract against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals. 80% methanol extract of the Ashitaba herb was fractionated using chloroform, ethyl acetate, and water solvents. Each ashitaba herb fraction was identified for the content of flavonoids and phenolic compounds and the antiradical DPPH activity was tested with ascorbic acid standard using a UV-Vis spectrophotometer. The IC<sub>50</sub> value of each fraction was statistically analyzed using One-Way ANOVA and Posthoc Tukey. The results of phytochemical identification showed that ashitaba herb fractions positively contain flavonoids and phenolics. Antiradical activity of the chloroform, ethyl acetate, and water fractions against DPPH was indicated by IC<sub>50</sub> values of 164.22±5.68 ppm (moderate); 8.70±0.12 ppm (very strong); and 243.60±8.14 ppm (weak). Statistically, each ashitaba herb fraction differed significantly from ascorbic acid (IC<sub>50</sub> 2.37±0.05 ppm). The ethyl acetate fraction has the strongest antioxidant activity and is in the same category of antioxidant strength as the ascorbic acid standard.

**Keywords:** *Angelica keiskei*, antioxidants, DPPH, flavonoids, phenolics.

### Pendahuluan

Akne vulgaris (AV) merupakan peradangan menahun pada unit pilosebacea, yaitu kelenjar minyak yang terhubung dengan batang rambut di lapisan dermis kulit. AV ditandai dengan berbagai kondisi abnormal kulit seperti komedo, papul, pustul, nodus, dan kista yang disertai rasa gatal (PERDOSKI, 2017). AV diperkirakan menjangkiti 75% remaja di dunia dengan puncak keparahan pada usia 17-21 tahun (Agustin, 2016). Di Indonesia, khususnya Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, sebanyak 51,2% dari 162 subjek berusia 15-30 tahun menderita AV dalam kurun waktu lebih dari 1 tahun

(Hidajat dkk., 2016). Pada usia pubertas, peningkatan hormon seksual menyebabkan pembesaran kelenjar minyak dan peningkatan produksi minyak pada kulit. Penyumbatan kantong kelenjar membentuk komedo yang menjadi media pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Hal ini memicu pelepasan sel darah putih yang melepaskan radikal bebas selama proses eliminasi bakteri. Radikal bebas berinteraksi dengan sel dalam tubuh dan memicu stres oksidatif sehingga memperparah peradangan pada pasien AV (Garem dkk., 2014).

Sediaan topikal sintetis meliputi antibakteri topikal, retinoid topikal, dan benzoil

peroksida menimbulkan efek samping berupa iritasi kulit dan reaksi lokal seperti rasa terbakar, kemerahan serta kulit kering (PIONAS, 2015). Sediaan sintetis di atas dapat digantikan dengan bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi.

Kondisi stress oksidatif dapat ditangani dengan penggunaan antioksidan alami, salah satunya dari tanaman ashitaba. Pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman ashitaba telah dilakukan oleh beberapa studi sebelumnya. Hasil penelitian Sari *et al.*, (2020) melaporkan bahwa Dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 191,447 ppm, ekstrak etanol batang Ashitaba menghambat radikal bebas DPPH. Temuan Athallah (2024) menunjukkan ekstrak etanol daun ashitaba memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 11,38  $\mu\text{g/mL}$ . Temuan lainnya dari Hajrin & Juliantoni (2019), bahwa Sampel oven memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH yang lebih kuat daripada sampel surya, dengan  $IC_{50}$  sebesar 350,24  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan dengan 3979,46  $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, Muliarsari *et al.*, (2023), dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $129,40 \pm 7,36$  ppm, ekstrak metanol 80% tanaman ashitaba menunjukkan penghambatan terhadap radikal DPPH.

Berdasarkan paparan di atas, pembuktian potensi ashitaba sebagai antioksidan masih terbatas pada ekstrak bagian tertentu tanaman. Adapun pengujian aktivitas antioksidan seluruh bagian tanaman (herba) meliputi ekstrak dan fraksi-fraksinya masih terbatas. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan flavonoid dan fenolik serta aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH dari fraksi kloroform, etil asetat dan air ekstrak metanol 80% herba ashitaba. Penelitian ini memberikan manfaat yang menyatakan bahwa fraksi metanol 80% herba ashitaba memiliki aktivitas antiradikal dan efektif dalam mengatasi oksidasi, serta berpotensi sebagai terapi akne vulgaris.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan tempat

Penelitian berlangsung dari bulan November 2022 sampai Mei 2023. Penelitian bertempat di Laboratorium Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram.

### Pengambilan sampel dan determinasi

Mengambil sebanyak 8,5 kg herba ashitaba di Desa Sembalun Bumbung, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur, NTB. Sampel ashitaba dideterminasi di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.

### Pembuatan simplisia

Proses pengumpulan herba ashitaba segar meliputi penimbangan, sortasi basah, dan pencucian dengan air mengalir sambil disikat secara berkala. Setelah itu, sampel dipotong-potong dan dijemur menggunakan kain hitam. Blender kemudian digunakan untuk menggiling sampel kering setelah disortir kering. Saringan dengan ukuran mata jaring 70 digunakan untuk menyaring sampel yang telah digiling. Selain itu, sampel diberi gel silika dan disimpan dalam wadah plastik yang rapat.

### Pembuatan ekstrak

Proses sonikasi digunakan untuk menghilangkan serbuk simplisia. Untuk proses deklorofilasi, 500 g sampel ditimbang dan dicampur dengan 5 L pelarut n-heksana (1:10). Ekstrak metanol herba ashitaba dibuat dengan mengekstraksi ulang residu menggunakan metanol 80%. Setelah ekstraksi, kertas saring dan kain mori digunakan untuk memisahkan filtrat dari residu. Sebuah rotary evaporator yang diatur pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  digunakan untuk menghilangkan semua metanol dari filtrat, dan penangas air digunakan untuk menguapkan air yang tersisa.

### Pembuatan fraksi

Ekstrak metanol herba ashitaba difraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair dengan pelarut kloroform, etil asetat, dan air. Fraksinasi diawali dengan melarutkan 5 g ekstrak kental dengan 100 mL air suhu  $40^{\circ}\text{C}$  dan ditambahkan dengan 100 mL kloroform, lalu dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Bagian kloroform dan air dipisahkan dan ditampung dalam wadah. Prosedur diulangi sebanyak 2 kali. Bagian direfraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dengan prosedur yang sama. Bagian etil asetat dan air dipisahkan dan ditampung dalam wadah. Tiap fraksi disatukan dan diuapkan di atas cawan porselen dalam waterbath.

## **Skrining fitokimia**

### *Identifikasi flavonoid*

Tiap fraksi sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 5 mL metanol. Menambahkan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan serbuk magnesium (Mg) secukupnya pada larutan fraksi. Sampel mengandung senyawa flavon jika ada warna merah jingga, warna merah tua menandakan adanya senyawa flavonol dan flavonon serta warna kuning jingga menandakan adanya senyawa kalkon dan auron (Harbone, 1998).

### *Identifikasi fenolik*

Tiap fraksi sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 5 mL metanol. Larutan fraksi selanjutnya ditambahkan 5-8 tetes FeCl<sub>3</sub> 10%. Fraksi dikatakan positif mengandung fenolik jika terbentuk warna hijau, ungu, biru, atau hitam (Harbone, 1998).

## **Uji KLT**

Uji KLT diawali dengan aktivasi fase diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> ukuran 10x5 cm selama 30 menit pada suhu 110°C dalam oven (Dewi *et al.*, 2018). Plat KLT teraktivasi diberi garis batas atas dan batas bawah masing-masing 1 cm. Sementara itu, eluen dari campuran pelarut kloroform-metanol-air (8:1:1) (Alawiyah & Senania, 2022) dijenuhkan dalam *chamber* hingga seluruh kertas saring terbasahi. Sampel yang terdiri dari ekstrak, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi air dan standar ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a dalam *ependorf tube*. Kuersetin dan asam galat digunakan sebagai standar untuk uji identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik. Sebanyak 10 µL dari masing-masing sampel ditotolkan dengan pipa kapiler pada plat silika gel (Dewi *et al.*, 2018). Plat kemudian dielusi hingga batas atas. Bercak pada plat diamati di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Plat selanjutnya disemprot dengan penampak noda AlCl<sub>3</sub> 10% pada penentuan senyawa flavonoid dan penampak noda Folin-Ciocalteu pada penentuan senyawa fenolik.

## **Uji aktivitas antiradikal DPPH**

### *Pembuatan larutan DPPH (1 mM)*

Menimbang serbuk DPPH sebanyak 19,7 mg dan dicukupkan volumenya hingga 50 mL dengan metanol p.a. Menyimpan larutan DPPH

dalam wadah tertutup dan menginkubasi selama 30 menit pada suhu 40°C. (Utami, 2020).

### *Pembuatan larutan kontrol*

Menambahkan larutan DPPH 1 mM sebanyak 0,30 mL dengan metanol p.a hingga 5 mL. Menginkubasi larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25 °C selama operating time pada wadah gelap dan kondisi terhindar dari cahaya (Ipandi *et al.*, 2016).

## **Pembuatan larutan standar asam askorbat**

Asam askorbat sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. untuk membuat larutan induk 500 ppm, kemudian dikocok hingga homogen (Sari, 2020). Berbagai konsentrasi asam askorbat digunakan untuk membuat larutan induk: 1 ppm, 1,75 ppm, 2,5 ppm, 3,25 ppm, dan 3,5 ppm. Metanol p.a. ditambahkan ke setiap konsentrasi hingga mencapai volume 10 mL, kemudian campuran dihomogenkan (Utami, 2020).

## **Pembuatan larutan uji fraksi herba ashitaba**

Larutan induk uji 1000 ppm dibuat dengan menimbang dan melarutkan 25 mg fraksi-fraksi herba ashitaba dalam 25 mL metanol p.a. kemudian dikocok hingga homogen. Fraksi kloroform dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 50, 90, 130, dan 170 ppm. Fraksi etil asetat dibuat seri konsentrasi sebesar 2, 6, 10, 14, dan 18 ppm. Fraksi air dibuat seri konsentrasi sebesar 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm. Setiap larutan uji dicukupkan volumenya dengan metanol p.a. hingga 10 mL kemudian dihomogenkan (Sari *et al.*, 2020; Susiloningrum & Sari, 2021).

## **Penentuan operating time**

0,30 mL larutan DPPH 1 mM ditambahkan ke dalam 4,70 mL larutan asam askorbat 1 ppm. Selama satu jam, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum teoritis 517 nm setiap lima menit. 0,30 mL metanol p.a. dan 4,70 mL larutan asam askorbat 1 ppm digunakan untuk membuat blanko pembacaan (Utami, 2020).

## **Penentuan panjang gelombang maksimum**

Labu ukur 5 mL diisi dengan 0,30 mL larutan DPPH 1 mM, kemudian metanol ditambahkan p.a. hingga tanda batas. Selama operasi, larutan diinkubasi dalam gelap. Panjang

gelombang antara 400 dan 600 nm, absorbansi larutan diukur dibandingkan dengan metanol kosong p.a (Ipandi *et al.*, 2016; Utami, 2020).

#### **Pengukuran absorbansi larutan kontrol**

Absorbansi larutan kontrol dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh terhadap blanko metanol p.a dalam kondisi terhindar cahaya (Sari, 2020).

#### **Pengukuran absorbansi larutan standar dan uji**

Tiap variasi konsentrasi larutan standar dan uji dipipet sebanyak 4,70 mL ke dan ditambahkan 0,30 mL DPPH 1 mM. Setelah mengocok larutan hingga merata, campuran diinkubasi selama *operating time* pada suhu 25°C. Panjang gelombang tertinggi yang dicapai digunakan untuk mengukur absorbansi larutan uji dan larutan standar. 0,30 mL metanol p.a. dan 4,70 mL larutan standar dan larutan uji dari setiap konsentrasi digunakan untuk membuat blanko pembacaan (Utami, 2020)

### **Hasil dan Pembahasan**

#### **Hasil pengambilan sampel dan determinasi**

Pengumpulan sampel herba ashitaba dilakukan pada tanggal 23 Juli 2022 pukul 09.32 WITA di Dusun Jorong, Desa Sembalun Bumbung, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur. Daerah dengan ketinggian 800-1200 mdpl ini menyediakan kondisi tanah dan udara yang sesuai untuk budidaya ashitaba (Pusat Studi Biofarmaka IPB, 2014). Herba ashitaba paling baik dipanen pada pagi hari setelah embun kering atau sekitar jam 08.00-10.00 pagi (Evans & Davis, 2019). Berdasarkan surat keterangan identifikasi nomor 15/UN18.7/LBL/2022 (lampiran 1), sampel yang digunakan benar adalah ashitaba (*Angelica keiskei*).

#### **Hasil pembuatan simplisia**

Hasil simplisia adalah 14,75% berdasarkan data berat basah herba sebesar 8,5 kg dan berat kering simplisia sebesar 1,254 kg. Kandungan air yang tinggi pada tanaman dapat menyebabkan produksi simplisia yang buruk karena menyebabkan penurunan berat yang signifikan.

#### **Pembuatan ekstrak**

Metode deklorofilasi merupakan langkah pertama dalam produksi ekstrak tanaman ashitaba. Dengan menggunakan pelarut nonpolar untuk menghilangkan molekul pengganggu dan memaksimalkan aktivitas senyawa dalam ekstrak, deklorofilasi merupakan teknik untuk memurnikan ekstrak dari senyawa *ballast* termasuk lemak, klorofil, dan pewarna (Nugroho *et al.*, 2013). Sebanyak 500 g serbuk simplisia dideklorofilasi dengan 5 L pelarut n-heksana (1:10) menggunakan metode sonikasi selama 30 menit pada suhu 40°C. Simplisia herba ashitaba terdeklorofilasi direkstraksi sebanyak 3 kali hingga pelarut n-heksana tidak dapat lagi menarik klorofil. Hal ini ditandai dengan perbedaan tidak signifikan antara warna filtrat terakhir dengan filtrat sebelumnya.

Simplisia deklorofilasi diekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% (1:10) dengan metode sonikasi selama 3 x 30 menit pada suhu 40°C. Zat polar maupun nonpolar dapat dilarutkan oleh pelarut serba guna metanol. Hal ini berkaitan dengan gugus hidrofilik dan lipofilik yang terdapat dalam struktur metanol (CH<sub>3</sub>OH) (Wardoyo *et al.*, 2021). Jika dibandingkan dengan pelarut absolut, kombinasi air dan pelarut organik, yang sering dikenal sebagai pelarut biner, dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi (Saifullah *et al.*, 2020). Salah satu pelarut biner yang sering digunakan untuk mengekstrak bahan kimia antioksidan alami secara efisien adalah metanol 80% (Anwar *et al.*, 2010). Dari 463 g simplisia deklorofilasi, diperoleh 94 g ekstrak herba ashitaba dengan rendemen sebesar 20,30%.

#### **Pembuatan fraksi**

Ekstrak metanol 80% herba ashitaba difraksinasi menggunakan pelarut kloroform, etil asetat dan air dengan metode partisi cair-cair. Memanfaatkan dua pelarut yang tidak bercampur dalam corong pisah, partisi cair-cair merupakan metode pemisahan senyawa di mana zat kimia didispersikan ke dalam pelarut sesuai dengan perbedaan koefisien partisinya (Srivastava *et al.*, 2021). Penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda memungkinkan senyawa dalam ekstrak terlarut secara selektif dalam pelarut dengan kepolaran yang sama sesuai prinsip *like dissolve like* (Perveen & Al-Taweel, 2019).



Secara organoleptis, fraksi kloroform, etil asetat dan air secara berturut-turut memiliki warna hijau kehitaman, putih kekuningan, dan oranye kecoklatan. Adapun fraksi-fraksi tersebut memiliki aroma harum khas ashitaba dengan tekstur kental dan halus. Dari 5 g ekstrak kental diperoleh berat fraksi kloroform, etil asetat, dan air kental sebesar 0,484 g, 0,15 g, dan 2,123 g. Sehingga dihasilkan rendemen fraksi kloroform, etil asetat, dan air sebesar 9,68%, 3% dan 42,46%.

### Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada fraksi-fraksi herba ashitaba menunjukkan tiap fraksi herba ashitaba positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil skrining fitokimia fraksi-fraksi herba ashitaba

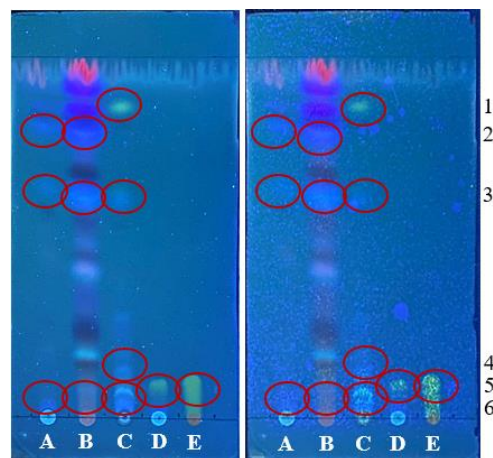
Senyawa	Sampel	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	FAK-K	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + serbuk	Hijau kemarahan (+)	Golongan flavonol dan flavanon
	FAK-EA	Mg	Merah jingga (+)	Golongan flavon
	FAK-A		Kuning jingga (+)	Golongan kalkon dan auron
Fenolik	FAK-K	FeCl <sub>3</sub> 10%	Hijau kehitaman (+)	Golongan ester/asam fenolat
	FAK-EA		Hitam (+)	Golongan ester/asam fenolat
	FAK-A		Hijau kebiruan (+)	Golongan tannin terkondensasi

Keterangan: (+): Teridentifikasi; (-): Tidak teridentifikasi; FAK-K: Fraksi *Angelica keiskei*-Kloroform; FAK-EA: Fraksi *Angelica keiskei*-Etil asetat; FAK-A: Fraksi *Angelica keiskei*-Air

### Hasil Uji KLT

Identifikasi senyawa flavonoid dengan uji KLT menunjukkan indikasi positif pada seluruh sampel. Bercak berwarna kuning dan biru terlihat setelah proses elusi menggunakan campuran pelarut kloroform : metanol : air (8:1:1) di bawah sinar UV 366 nm (Harbone, 1998). Ekstrak

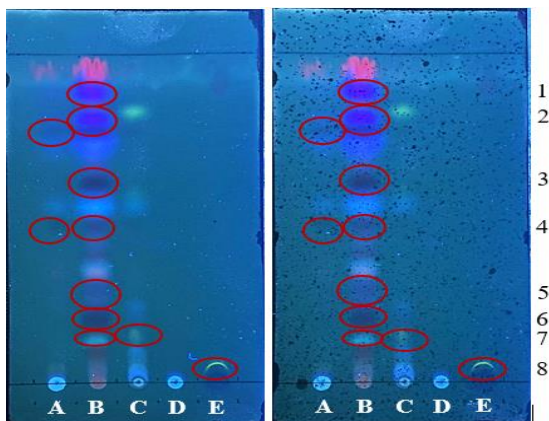
metanol 80% herba ashitaba (A), fraksi kloroform (B), fraksi etil asetat (C), fraksi air (D), dan standar kuersetin (E) secara berurutan memberikan 3 bercak, 3 bercak, 4 bercak, 1 bercak, dan 1 bercak positif flavonoid (Gambar 1). Penyemprotan bercak dengan penampak bercak AlCl<sub>3</sub> 10% menghasilkan bercak yang berfluoresensi kuning lebih jelas. Mekanisme reaksi antara flavonoid dan penampak bercak AlCl<sub>3</sub> didasarkan pada pembentukan kompleks asam yang stabil antara gugus keto C-4 dan salah satu gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol dengan AlCl<sub>3</sub>. Kompleks asam nonstabil juga dapat terbentuk dari interaksi AlCl<sub>3</sub> dan gugus orto-dihidroksil dalam cincin A- atau B-flavonoid (Ahmed & Iqbal, 2018).



**Gambar 1.** Hasil KLT senyawa flavonoid

Senyawa fenolik teridentifikasi dalam sampel ekstrak (A), fraksi kloroform (B) dan fraksi etil asetat (C). Bercak dengan berbagai warna seperti biru, ungu, hitam, dan hijau ditemukan di bawah sinar UV 366 nm setelah proses elusi menggunakan campuran pelarut kloroform : metanol : air (8:1:1) (Harbone, 1998). Fraksi kloroform (B) dan ekstrak metanol herba ashitaba (A) menghasilkan 7 dan 2 bercak, sedangkan fraksi etil asetat (C) dan standar asam galat (E) hanya menghasilkan 1 bercak positif fenolik (Gambar 2). Penampak bercak Folin-Ciocalteu memberikan bercak yang berfluoresensi biru lebih jelas. Mekanisme reaksi penampak bercak Folin-Ciocalteu terjadi melalui proses reduksi asam heteropoli fosfomolibdat-fosfotungstat dalam Folin-Ciocalteu oleh gugus hidroksi fenol menjadi kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru (Nofita dkk., 2022). Akibat reaksi tersebut, perubahan warna biru

menandakan adanya gugus fenil (Salamah *et al.*, 2017).



Gambar 2. Hasil KLT senyawa fenolik

### Hasil Uji aktivitas antiradikal DPPH

Penghambatan radikal *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazu* (DPPH) digunakan untuk menilai aktivitas antiradikal dari fraksi tanaman ashitaba. Dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, ide dasar pengujian ini adalah untuk menentukan seberapa baik bahan kimia antioksidan dapat menekan radikal DPPH (Kedare & Singh, 2011). Antioksidan lipofilik dan hidrofilik dapat diuji menggunakan pendekatan yang mudah, cepat, dan tepat ini. Reaktivitas rendah metode DPPH memungkinkan untuk mengevaluasi zat dengan aktivitas antioksidan yang kuat atau lemah (Gulcin, 2020; Kedare & Singh, 2011).

*Operating time* (OT) adalah jumlah waktu yang dibutuhkan antioksidan untuk berinteraksi

sepenuhnya dengan radikal bebas. Stabilitas absorbansi selama prosedur pengujian akan dipertahankan dengan membaca absorbansi sampel pada *operating time* (Isnindar & Luliana, 2020). Karena absorbansi DPPH tetap konstan antara 30 dan 35 menit, dapat dikatakan bahwa 30 menit adalah *operating time* yang digunakan dalam penyelidikan ini. Hal ini konsisten dengan *operating time* yang disarankan Blois (1958) untuk teknik DPPH asli. Sampel diinkubasi untuk pengujian selama periode ini.

Nilai absorbansi DPPH terbesar pada spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menghitung panjang gelombang maksimum. Penyerapan paling optimal terjadi pada panjang gelombang tertinggi, sehingga memungkinkan deteksi perubahan penyerapan pada setiap konsentrasi sampel lebih tepat (Lestari *et al.*, 2020; Nasution *et al.*, 2015). Panjang gelombang di mana jumlah DPPH paling banyak diserap adalah 516 nm. Panjang gelombang di mana DPPH paling banyak diserap secara teoritis adalah 517 nm. Menurut Prananta *et al.*, (2020), mungkin ada pergeseran 0–4 nm antara panjang gelombang teoritis dan pengamatan observasional. Pertama, larutan kontrol diukur untuk menentukan aktivitas antiradikal. Sebelum menambahkan sampel atau standar, absorbansi larutan kontrol diukur untuk memastikan absorbansi awal DPPH. Untuk menunjukkan keakuratan prosedur yang digunakan untuk menilai aktivitas antiradikal sampel, diperlukan standar asam askorbat (Julizan *et al.*, 2019).

Tabel 2. Aktivitas antiradikal DPPH standar dan fraksi-fraksi herba ashitaba

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)			$\bar{X} \pm SD$	CV (%)	Kategori
	Replikasi (R)					
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>			
AA	2,42	2,31	2,37	2,37 ± 0,06	2,67	Sangat kuat
FAK-K	170,36	159,16	163,15	164,22 ± 5,68	3,46	Sedang
FAK-EA	8,66	8,59	8,83	8,70 ± 0,12	1,43	Sangat kuat
FAK-A	239,44	252,97	238,37	243,60 ± 8,14	3,34	Lemah

**Keterangan:** Asam Askorbat (AA), Fraksi *Angelica keiskei*-Kloroform (FAK-K), Fraksi *Angelica keiskei*-Etil Asetat (FAK-EA), dan Fraksi *Angelica keiskei*-Air (FAK-A)

Aktivitas antiradikal DPPH standar dan fraksi-fraksi herba ashitaba dijabarkan dalam Tabel 2. Standar deviasi yang rendah dari tiap data IC<sub>50</sub> fraksi menunjukkan tingkat akurasi pengukuran yang baik. Begitupula dengan koefisien variasi yang bernilai kurang dari 5%

membuktikan tingkat presisi pengukuran yang baik dimana terdapat kesalahan acak dan sistematis yang rendah (Gandjar & Rohman, 2012). Standar dan fraksi etil asetat termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat,

sedangkan fraksi kloroform dan air termasuk antioksidan sedang dan lemah.

Fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan radikal DPPH paling baik. Temuan Haryoto *et al.*, (2018) membuktikan bahwa fraksi semipolar dari ekstrak etanol 95% herba ashitaba dengan  $IC_{50}$  sebesar 41,93 ppm memiliki aktivitas antioksidan paling kuat. Fraksi semipolar pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan Haryoto *et al.*, (2018) yang meneliti aktivitas antioksidan dengan sampel yang sama. Sesuai dengan identifikasi senyawa melalui uji tabung dan uji KLT, ketiga fraksi dari ekstrak metanol 80% herba ashitaba mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Flavonoid dan fenolik diduga merupakan dua jenis senyawa yang digunakan dalam aktivitas anti-oksidan. Studi oleh Liet *al.*, (2009) meneliti korelasi antara aktivitas antioksidan dan senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak-ekstrak akar *Angelica sinensis* dan menemukan bahwa koefisien korelasi rata-rata adalah sekitar 0,839. Koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan korelasi positif peran senyawa fenolik dalam aktivitas antioksidan.

Dasar pemikiran yang disebutkan di atas menunjukkan bahwa flavonoid dan polifenol, yang merupakan metabolit sekunder dari kelompok fenolik, berkontribusi terhadap penghambatan radikal bebas. Rantai ikatan dalam radikal bebas dapat diputus oleh senyawa fenolik (ArOH) yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil (OH) yang terikat pada cincin benzena. Zat-zat ini menekan radikal bebas melalui dua mekanisme yang berbeda: transfer elektron tunggal (SET) dan transfer atom hidrogen (HAT). Untuk menghentikan proses oksidasi, senyawa fenolik (ArOH) memberikan radikal bebas atom hidrogennya untuk menciptakan radikal fenolik yang stabil (ArO<sup>•</sup>). Proses ini dikenal sebagai mekanisme HAT. Mekanisme SET, yang bertentangan dengan HAT, menjelaskan bagaimana radikal bebas mengubah senyawa fenolik (ArOH) menjadi akseptor elektron tunggal dan menghentikan reaksi oksidasi berantai dengan mengubah zat antara yang teroksidasi menjadi bentuk yang stabil (Tukiran *et al.*, 2018).

Hasil uji *One-Way ANOVA*, diketahui bahwa terdapat setidaknya satu kelompok uji yang berbeda signifikan dari kelompok uji

lainnya terlihat dari nilai signifikansi 0,00 ( $p < 0,05$ ). Uji tersebut kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Tukey* (Shankar, 2009). Uji *Post-hoc Tukey* membuktikan bahwa fraksi kloroform, etil asetat dan air berbeda signifikan dengan standar asam askorbat (sig. 0,00  $p < 0,05$ ). Kesimpulannya bahwa tiap fraksi herba ashitaba memiliki aktivitas antiradikal dengan tingkat berbeda. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antiradikal DPPH paling kuat dibandingkan fraksi-fraksi lainnya. Secara statistik, tidak ada fraksi uji yang memiliki aktivitas antioksidan setara dengan standar asam askorbat. Namun, fraksi etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  mendekati standar asam askorbat dan berada dalam kategori kekuatan antioksidan yang sama.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform, etil asetat dan air ekstrak metanol 80% herba ashitaba mengandung metabolit sekunder flavonoid dan fenolik dan aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan fraksi lainnya dan berada dalam kategori kekuatan antioksidan yang sama dengan standar asam askorbat.

## Ucapan terima kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Universitas Mataram yang telah mendanai penelitian ini.

## Referensi

- Ahmed, F., & Iqbal, M. (2018). Antioxidant activity of *Ricinus Communis*. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 5(3), 1–6. <https://doi.org/10.19080/omcij.2018.05.555667>
- Alawiyah, A. L., & Senania, A. (2022). Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Ethyl Acetate Fractions from *Syzygium cumini* Wood Stem. *ALKIMIA: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 5(1), 93–101. <https://doi.org/10.19109/alkimia.v5i1.7143>

- Anwar, F., Qayyum, H. M. A., Hussain, A. I., & Iqbal, S. (2010). Antioxidant Activity of 100% and 80% Methanol Extracts from Barley Seeds (*Hordeum vulgare* L.): Stabilization of Sunflower Oil. *Grasas y Aceites*, 61(3), 237–243. <https://doi.org/10.3989/gya.087409>
- Athallah, M. D. N. (2024). *Uji Aktivitas Antioksidan, Antiinflamasi Dan Analgetik Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (Angelica Keiskei) Terhadap Mencit (Mus Musculus)*. Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical. *Nature*, 4617(1), 1–2.
- Dewi, N. L. A., Adnyani, L. P. S., Pratama, R. B. R., Yanti, N. N. D., Manibuy, J. I., & Warditiani, N. K. (2018). Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Jurnal Farmasi Udayana*, 7(2), 68–76.
- Evans, E., & Davis, J. (2019). *Harvesting Herbs Harvesting and Preserving Herbs for the Home Gardener*. <https://content.ces.ncsu.edu/harvesting-and-preserving-herbs-for-the-home-gardener#:~:text=Harvest>
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2012). *Kimia Farmasi Analisis* (2nd ed.). Pustaka Pelajar.
- Garem, Y. F. El, Ahmed, R. A. M., Ragab, M. A., & AbouZeid, A. A. (2014). Study of Oxidative Stress in Different Clinical Severities of Acne Vulgaris. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology*, 34(1), 53. <https://doi.org/10.4103/1110-6530.137313>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and Antioxidant Methods: an Updated Overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Hajrin, W., Juliantoni Y. (2019). Formulasi Lotion Ekstrak Etanolik Herba Ashitaba (*Angelica Keiskei*) sebagai Penangkal Radikal Bebas. *Unram Medical Journal*, 8(2),5.<https://doi.org/10.29303/jku.v8i2.3>
- Harbone, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.
- Hidajat, D., Hidayati, A. R., & Cenderadewi, M. (2016). Karakteristik Pengetahuan dan Persepsi Penderita Akne Vulgaris di Kota Mataram. *Jurnal Kedokteran Unram*, 5(4), 4–10.
- Hosthota, A., Bondade, S., & Basavaraja, V. (2016). Impact of Acne Vulgaris on Quality of Life and Self-esteem. *Cutis*, 98(2), 121–124.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Isnindar, I., & Luliana, S. (2020). Synergism of Antioxidant Activity Combination of Buas-Buas (*Premnaserratifolia* Linn.), Meniran (*Phyllanthusniruri* L.), Secang (*Caesalpiniasappan*) and Roselle (*Hibiscus sabdarifa*) Extracts. *Traditional Medicine Journal*, 25(3), 140–145. <https://doi.org/10.22146/mot.51328>
- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyanti, D., & Al Anshori, J. (2019). Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Metode
- Lestari, Y. D., Permatasari, S., & Oktasari, &ade. (2020). Antioxidant Activity Testing of Extract Kweni Peel (*Mangifera odorata* Griff). *Indonesian Journal of Chemistry and Environment*, 3(2), 11–20.
- Li, X., Wu, X., & Huang, L. (2009). Correlation Between Antioxidant Activities and Phenolic Contents of Radix Angelicae Sinensis (Danggui). *Molecules*, 14(12), 5349–5361. <https://doi.org/10.3390/molecules14125349>
- Muliasari, H., Hanifa, N. I., Hajrin, W., Andanalusia, M., & Hidayati, A. R. (2023). Determination of Antioxidants by DPPH Scavenging Activity of Ashitaba Herb (*Angelica keiskei*) Methanol Extract. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4), 482–490. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5686>
- Nasution, P. A., Batubara, R., & Surjanto, S. (2015). Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat terhadap Teh Daun



- Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk) Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(1), 1–12.
- Nofita, S. D., Ngibad, K., & Rodli, A. F. (2022). Determination of Percentage yield and Total Phenolic Content of Ethanol Extract from Purple Passion (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) Fruit Peel. *Jurnal Pijar Mipa*, 17(3), 309–313.  
<https://doi.org/10.29303/jpm.v17i3.3461>
- Nugroho, A. E., Malik, A., & Pramono, S. (2013). Total Phenolic and Flavonoid Contents, and In Vitro Antihypertension Activity of Purified Extract of Indonesian Cashew Leaves (*Anacardium occidentale* L.). *International Food Research Journal*, 20(1), 299–305.
- PERDOSKI. (2017). *Panduan Praktik Klinis Bagi Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin di Indonesia*. Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia.
- Perveen, S., & Al-Taweel, A. (2019). *Pharmacognosy: Medicinal Plants*. IntechOpen.
- PIONAS. (2015). *Sediaan Topikal untuk Akne*. Pusat Informasi Obat Nasional. <https://pionas.pom.go.id/ioni/bab-13-kulit/136-akne-dan-rosasea/1361-sediaan-topikal-untuk-akne>
- Prananta, Y. E., Rakhman, K. A., & Saleh, J. (2020). Antioxidant Activities of Red Jabon (*Anthocephalus macrophyllus*) Ethanol Extract. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 415(1), 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/415/1/012026>
- Pusat Studi Biofarmaka IPB. (2014). *Sehat Alami dengan Herbal: 250 Tanaman Berkhasiat Obat*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A., & Vuong, Q. (2020). Comparison of Conventional Extraction Technique with Ultrasound Assisted Extraction on Recovery of Phenolic Compounds from Lemon Scented Tea Tree (*Leptospermum petersonii*) Leaves. *Heliyon*, 6(4), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03666>
- Salamah, N., Ahda, M., Bimantara, S., & Hanar, R. (2017). Total Phenolic Content and In Vitro Evaluation of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Ganoderma amboinense*. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 8(1), 97–101. <https://doi.org/10.5455/njppp.2018.8.0518614102017>
- Sari, L. P. I. P. (2020). *Optimasi Pelarut untuk Ekstraksi Daun Nagasari (Mesua ferrea L.) sebagai Anti Radikal Bebas dengan Metode Simplex Lattice Design* [Skripsi]. Universitas Mataram.
- Shankar, R. (2009). *Process Improvement Using Six Sigma: A DMAIC Guide*. Quality Press.
- Srivastava, A. K., Kannaujiya, V. K., Singh, R. K., & Singh, D. (2021). *Evolutionary Diversity as a Source for Anticancer Molecules*. Elsevier.
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 117–127.
- Tukiran, Wardana, A. P., Hidayati, N., & Shimizu, K. (2018). An Ellagic Acid Derivative and Its Antioxidant Activity of Chloroform Extract of Stem Bark of *Syzygium polycephalum* Miq. (*Myrtaceae*). *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(1), 26–34. <https://doi.org/10.22146/ijc.25467>
- Utami, S. B. (2020). *Aktivitas Penghambatan Radikal Bebasdari Rebusan Daun Renggak (Amomum dealbatum Roxb.) Menggunakan Metode DPPH* [Skripsi]. Universitas Mataram.
- Wardoyo, E. R. P., Hildayati, U., Rachmawati, & Kurniatuhadi, R. (2021). Phytochemical Analysis and Antifungi Activity of Methanol Extract of *Acalypha hispida* Burm. F. Flower Against to *Candida albicans* (Y116). *Journal of Physics: Conference Series*, 1940(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1940/1/012056>