

**PERBANDINGAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon aristatus*)
DENGAN VITAMIN C MENGGUNAKAN
METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

SKRIPSI



Oleh:

NURUL AISYAH

2208260243

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

**PERBANDINGAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon aristatus*)
DENGAN VITAMIN C MENGGUNAKAN
METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

**Skripsi ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Kelulusan Sarjana Kedokteran**



Oleh:

NURUL AISYAH

2208260243

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Nurul Aisyah
NPM : 2208260243
Judul Skripsi : Perbandingan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Dengan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Demikianlah pernyataan saya perbuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

11 Desember 2025



Nurul Aisyah



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Nurul Aisyah

NPM : 2208260243

Judul : Perbandingan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Dengan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(dr. Yenita, M.Biomed, Sp.KKLP)

Penguji I

(dr. Ilham Hariaji, M.Biomed)

Penguji II

(dr. Cut Mourisa, M. Biomed)

Mengetahui,

Dekan FKIK UMSU



(dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL., Subsp.Rino(K))
NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter
FKIK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)
NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan
Tanggal : 11 Desember 2025

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena berkat rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-BKL., Subsp.Rino(K) selaku Dekan FKIK UMSU.
- 2) dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UMSU.
- 3) dr. Yenita, M.Biomed., Sp.KKLP, selaku Dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini.
- 4) dr. Ilham Hariaji, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Pertama saya yang telah memberikan arahan dan masukannya dalam penyusunan skripsi.
- 5) dr. Cut Mourisa, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Kedua saya yang telah memberikan arahan dan masukannya dalam penyusunan skripsi ini.
- 6) Dr. Yulia Fauziah, M.Sc, selaku pembimbing akademik, atas bimbingan, arahan, dan motivasi yang diberikan selama masa pre-klinik.
- 7) Kedua orang tua tercinta, Ayah Nasarman dan Mamak Hj. Sarinah, terima kasih atas cinta yang tak pernah berkurang, doa yang senantiasa mengiringi setiap langkah, serta ketulusan dan pengorbanan yang menjadi kekuatan dalam setiap proses. Kalian adalah sumber tenang di tengah lelah, dan alasan penulis untuk terus bertahan hingga titik ini.
- 8) Saudara dan saudari penulis, Hendrizal Syahputra, S.Kom., Muhammad Yogi Syahputra, S.Kom., Nofrianto, S.T., Muhammad Hafiz, Eva Nasari, Dian Pratiwi, S.Pd. M.Pd., dan Apt. Khairunnisa Dalimunthe, M.Farm., serta ponakan tersayang, Raihan, Al, Shaka, dan Gaffi, terima kasih karena

kehadiran kalian membuat setiap perjuangan ini terasa lebih ringan. Kalian adalah alasan terindah dibalik selesainya perjalanan ini.

- 9) Keluarga besar tercinta, penulis mengucapkan terima kasih atas doa, perhatian, dan dukungan yang senantiasa mengalir. Setiap langkah yang ditempuh penulis tidak pernah sendiri, karena selalu ada doa dan harapan yang mengiringi.
- 10) Teman-teman seperjuangan, Fatimah Zahra, Rizka Deftiani, Rifdah Laresa Jodani, Rahma Aulia Hsb., terima kasih telah berjalan bersama dan saling menguatkan di saat lelah. Kalian membuat perjalanan ini jauh lebih indah.
- 11) Sahabat-sahabat penulis, Lulu Luqyana Ariqah, Khairunnisa Amril, S.H., Indah Permata Sari Hrp., Zahra Fadhilah, S.Pd., dan Najwa Sabila Dira Rahma, terima kasih atas kehadiran yang senantiasa menyertai perjalanan ini.
- 12) Teman bimbingan skripsi, Shafira Salsabila Anrora, terima kasih atas kebersamaan dan saling dukung yang menjadikan proses ini lebih ringan.
- 13) Keluarga Besar TBM FK UMSU, tempat saya tumbuh, ditempa, dan diperkaya dengan banyak pengalaman, terima kasih karena telah menjadi ruang belajar yang berharga di luar kelas. Kepada Pengurus Harian TBM FK UMSU Bimantara 2023/2024, Pengurus Harian TBM FK UMSU Nalaswara 2024/2025 terkhusus Presidium Nalaswara Muhammad Lutfi, Imami Gunawan Mustakim. S, dan M. Tegar Fadhilah, serta anggota aktif Angkatan 12, terima kasih atas segala dukungan selama penyelesaian skripsi ini.
- 14) Pihak laboratorium Kak Kusma dan Kak Triana, yang sudah senantiasa membantu selama penyelesaian skripsi ini.
- 15) Seluruh pengajar, civitas akademika, staff pegawai keamanan dan staff fasilitas yang senantiasa membantu dan mempermudah dalam proses penelitian berlangsung.
- 16) Rekan sejawat FKIK UMSU stambuk 2022 dan seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas segala bentuk bantuan dan dukungan yang turut menyempurnakan.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 11 Desember 2025

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Nurul Aisyah', with a stylized flourish at the end.

Nurul Aisyah

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Nurul Aisyah
NPM : 2208260243
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMSU

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul:

“Perbandingan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Dengan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)”

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 11 Desember 2025

Yang menyatakan



Nurul Aisyah

ABSTRAK

Pendahuluan: Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang dapat memicu stres oksidatif ketika produksinya melebihi kapasitas sistem pertahanan tubuh. Kondisi ini dapat merusak komponen seluler dan berperan dalam proses terjadinya berbagai penyakit degeneratif, seperti penuaan dini, kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular. Antioksidan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah atau memperlambat kerusakan oksidatif. Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dikenal sebagai tanaman herbal yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional dan mengandung senyawa bioaktif, termasuk flavonoid dan fenolik, yang memiliki aktivitas antioksidan. Namun, tingkat efektivitasnya perlu dibandingkan dengan antioksidan standar seperti vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing dengan vitamin C menggunakan metode DPPH. **Metode:** Penelitian dilakukan secara eksperimental dimulai dengan pembuatan ekstrak daun kumis kucing, larutan uji dengan konsentrasi 10–50 ppm untuk ekstrak dan 1–5 ppm untuk vitamin C, serta pengukuran absorbansi larutan uji pada panjang gelombang 517 nm sebanyak tiga replikasi. Nilai IC_{50} diperoleh menggunakan analisis regresi linear, dan perbandingan antara kedua kelompok dilakukan dengan *Independent Sample t-test*. **Hasil:** Ekstrak daun kumis kucing memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 29,38 ppm; 33,39 ppm; dan 30,36 ppm. Vitamin C juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 1,31 ppm; 0,85 ppm; dan 0,15 ppm. Uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan antara kedua kelompok ($p < 0,001$). **Kesimpulan:** Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan ekstrak metanol daun kumis kucing.

Kata Kunci: Antioksidan, DPPH, IC_{50} , *Orthosiphon aristatus*, Vitamin C

ABSTRACT

Introduction: Free radicals are reactive molecules that induce oxidative stress when their production exceeds the body's antioxidant defense capacity, leading to cellular damage and the development of degenerative diseases such as premature aging, cancer, diabetes, and cardiovascular disorders. Antioxidants are required to neutralize free radicals and reduce oxidative damage. Cat's whiskers leaves (*Orthosiphon aristatus*) are widely used in traditional medicine and contain bioactive compounds, including flavonoids and phenolics, which possess antioxidant activity. However, their antioxidant effectiveness compared to standard antioxidants such as vitamin C remains unclear. This study aimed to compare the antioxidant activity of methanolic extract of cat's whiskers leaves with vitamin C using the DPPH method. **Methods:** This experimental study prepared a methanolic extract of cat's whiskers leaves and test solutions at concentrations of 10–50 ppm for the extract and 1–5 ppm for vitamin C. Absorbance was measured at 517 nm using a UV–Vis spectrophotometer in triplicate. IC_{50} values were determined by linear regression analysis, and statistical comparison between groups was performed using an independent sample t-test. **Results:** The methanolic extract of cat's whiskers leaves exhibited very strong antioxidant activity, with IC_{50} values of 29.38 ppm, 33.39 ppm, and 30.36 ppm. Vitamin C showed stronger antioxidant activity, with IC_{50} values of 1.31 ppm, 0.85 ppm, and 0.15 ppm. A significant difference was observed between the two groups ($p < 0.001$). **Conclusion:** Vitamin C demonstrates significantly higher antioxidant activity than the methanolic extract of cat's whiskers leaves.

Keywords: Antioxidants, DPPH, IC_{50} , *Orthosiphon aristatus*, Vitamin C

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i>)	5
2.1.1. Morfologi Tumbuhan.....	5
2.1.2. Taksonomi.....	6
2.1.3. Kandungan Daun Kumis Kucing	6
2.2. Radikal Bebas	7
2.3. Antioksidan	8
2.4. Uji Aktivitas Antioksidan	9
2.5. Vitamin C.....	11
2.6. Spektrofotometri	11
2.7. Kerangka Teori	12

2.8. Kerangka Konsep	12
2.9. Hipotesis	13
BAB 3 METODE PENELITIAN	14
3.1. Definisi Operasional	14
3.2. Jenis Penelitian.....	15
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.3.1. Waktu Penelitian	15
3.3.2. Tempat Penelitian.....	15
3.4. Populasi dan Sampel Penelitian	15
3.4.1. Populasi Penelitian	15
3.4.2. Sampel Penelitian	15
3.5. Alat dan Bahan.....	16
3.5.1. Alat	16
3.5.2. Bahan.....	16
3.6. Prosedur Kerja	16
3.6.1. Pengolahan Sampel	16
3.6.2. Ekstraksi Sampel	16
3.6.3. Pembuatan Larutan Uji.....	16
3.6.3.1. Pembuatan larutan Induk Baku DPPH.....	16
3.6.3.2. Pembuatan Larutan Vitamin C.....	17
3.6.3.3. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing	17
3.6.3.4. Pembuatan Larutan Blanko	17
3.6.3.5. Pengukuran Serapan Blanko	17
3.6.3.6. Pengukuran Absorbansi DPPH dan Vitamin C.....	17
3.6.3.7. Pengukuran Absorbansi DPPH dan Daun Kumis Kucing	18
3.7. Analisis Data	18
3.8. Alur Penelitian	20
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1. Hasil Penelitian	21
4.1.1. Determinasi Tanaman Kumis Kucing	21
4.1.2. Hasil Ekstraksi Daun Kumis Kucing	21
4.1.3. Uji Aktivitas Antioksidan	21

4.2. Pembahasan	24
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	28
5.1. Kesimpulan	28
5.2. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i>).....	5
Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan	10
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	12
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	12
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	20
Gambar 4.1 Perubahan Warna pada Larutan Uji	21
Gambar 4.2 Perbandingan IC ₅₀ Sampel	23

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Daun Kumis Kucing	6
Tabel 2.2 Kategori Nilai IC_{50}	10
Tabel 3.1 Definisi Operasional	14
Tabel 3.2 Waktu Penelitian	15
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing	21
Tabel 4.2 Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Ekstrak Daun Kumis Kucing	22
Tabel 4.3 Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Vitamin C	22
Tabel 4.4 Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC_{50} Larutan Uji	23
Tabel 4.5 Hasil uji <i>Independent Sample t-test</i>	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.....	32
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian.....	33
Lampiran 3. Surat Hasil Identifikasi Tanaman	34
Lampiran 4. Surat Keterangan Selesai Penelitian	35
Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji	36
Lampiran 6. Perhitungan Persen Inhibisi Larutan Uji	38
Lampiran 7. Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC ₅₀ Larutan Uji	40
Lampiran 8. Analisis Data SPSS.....	43
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	44
Lampiran 10. Naskah Artikel Ilmiah	47

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kesehatan manusia saat ini semakin terancam oleh berbagai faktor, termasuk paparan radikal bebas yang muncul akibat polusi, stres, dan pola makan yang tidak sehat.¹ Radikal bebas diperkirakan menyebabkan hingga 10.000 kali kerusakan pada satu sel setiap harinya.² Akumulasi radikal bebas dalam tubuh berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit tidak menular, seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, penyakit degeneratif, dan kanker.³

Pada tahun 2021, penyakit tidak menular (PTM) menjadi penyebab kematian pada 43 juta orang di dunia. Angka ini setara dengan tiga per empat atau sekitar 75% dari total kematian yang tidak berkaitan dengan pandemi. Lebih dari 18 juta dari kematian tersebut tergolong sebagai kematian dini, yaitu meninggal sebelum mencapai usia 70 tahun, dan hampir seluruhnya (sebanyak 82%) terjadi di negara-negara dengan pendapatan rendah hingga menengah.⁴

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga membuatnya tidak stabil dan sangat reaktif secara kimia dan dapat menyebabkan kerusakan pada komponen seluler, termasuk protein, lipid, dan DNA.⁵ Kondisi di mana terdapat radikal bebas tingkat tinggi yang tidak dapat diatasi akan menyebabkan stres oksidatif.⁶ Stres oksidatif merupakan suatu kondisi yang menunjukkan ketidakseimbangan antara pro-oksidan atau radikal bebas dan antioksidan yang berfungsi menjaga kondisi agar tidak terjadi kerusakan jaringan. Kondisi patologis stres oksidatif dalam tubuh dapat memicu berbagai penyakit akut hingga kronis. Bukti epidemiologis menunjukkan adanya hubungan antara berkurangnya simpanan antioksidan dan peningkatan kerentanan terhadap berbagai penyakit, termasuk kanker, penyakit jantung, percepatan penuaan, dan penyakit neurodegeneratif.⁷ Oleh karena itu, pencarian senyawa antioksidan yang efektif

menjadi sangat penting dalam usaha mencegah dan mengobati penyakit-penyakit ini.

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan menekan reaksi oksidatif dan melindungi jaringan sel dari kerusakan dengan menetralkan radikal bebas. Secara fisiologis, tubuh manusia menghasilkan antioksidan enzimatik, antara lain superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase, yang berfungsi sebagai sistem pertahanan enzimatik untuk mencegah kerusakan seluler akibat aktivitas radikal bebas. Namun, dalam situasi tertentu, produksi radikal bebas melebihi kapasitas pertahanan tubuh, sehingga memerlukan asupan antioksidan dari luar.⁵ Meskipun tersedia antioksidan dalam bentuk sintetis seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA), penggunaannya sering kali dibatasi karena dapat menimbulkan efek samping bersifat karsinogenik jika digunakan dalam dosis tinggi. Sebaliknya, antioksidan alami yang berasal dari tanaman obat lebih banyak diminati karena dianggap lebih aman dan memiliki potensi biologis yang kuat.⁸

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tanaman obat yang sudah cukup familiar di masyarakat Indonesia, terutama sebagai antidiabetes, antiradang, dan diuretik.⁹ Meskipun lebih dikenal untuk pengobatan penyakit ginjal dan diabetes, analisis fitokimia menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain flavonoid, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, dan triterpenoid, yang diketahui berperan penting sebagai sumber antioksidan alami.¹⁰

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu teknik yang umum diterapkan dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena memiliki tingkat sensitivitas yang baik serta didukung oleh prosedur analisis yang sederhana dan efisien. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀, di mana nilai yang lebih kecil mencerminkan kemampuan antioksidan yang lebih kuat.¹¹ Penelitian terdahulu melaporkan bahwa uji aktivitas penangkap radikal bebas secara *in vitro* menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dipadukan dengan pereaksi DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak. Aktivitas tersebut ditunjukkan oleh munculnya perubahan warna

bercak pada plat KLT menjadi kuning pucat, yang mengindikasikan terjadinya reduksi radikal bebas.¹² Penelitian lain menggunakan metode ABTS dan CUPRAC pada fenotipe putih menghasilkan aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 127,89 dan 87,67 $\mu\text{mol TE/g DW}$.¹⁰

Meski demikian, penelitian-penelitian sebelumnya terkait aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) masih terbatas, karena umumnya bersifat kualitatif atau semikuantitatif dan belum menggambarkan secara akurat kekuatan antioksidan masing-masing senyawa. Selain itu, tidak dilakukan perbandingan sistematis antara respons spektrofotometri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan standar antioksidan seperti vitamin C, yang merupakan kontrol positif yang sering digunakan dalam uji aktivitas antioksidan. Hal ini menyebabkan kurangnya validasi ilmiah terhadap potensi bioaktivitas ekstrak secara kuantitatif dan memperkecil daya banding hasil penelitian dengan standar referensi yang telah terbukti efektif. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan analisis yang lebih mendalam dengan kombinasi uji aktivitas antioksidan berbasis spektrofotometri, analisis regresi linear, serta perbandingan langsung terhadap vitamin C sebagai pembanding baku.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik melakukan riset lebih lanjut untuk mengkaji lebih lanjut potensi aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) menggunakan metode DPPH dalam menetralkan radikal bebas, sebagai upaya preventif maupun terapeutik terhadap berbagai penyakit tidak menular yang berkaitan dengan stres oksidatif. Dalam penelitian ini, vitamin C digunakan sebagai kontrol pembanding karena telah dikenal luas dan tervalidasi sebagai antioksidan standar.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana perbandingan antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan vitamin C menggunakan metode DPPH?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan vitamin C menggunakan metode DPPH.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan standar pembanding larutan vitamin C yang dinyatakan dengan IC_{50} .

1.4. Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi mengenai pemanfaatan daun kumis kucing sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi dalam pencegahan penyakit degeneratif.

2. Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Memberikan data kuantitatif awal yang berguna dalam pengembangan skrining fitokimia dan penelitian bioaktivitas lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*)

2.1.1. Morfologi Tumbuhan

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan tanaman semak kecil dan salah satu spesies tumbuhan berkhasiat obat yang termasuk dalam famili *Lamiaceae*. Tanaman ini banyak ditemukan di kawasan Asia Tropis, termasuk Indonesia, Malaysia, dan Thailand.¹³

Tanaman ini memiliki sistem perakaran tunggang dengan batang berkayu yang bertekstur keras, permukaan yang berbulu, dan tumbuh tegak keatas serta memiliki tinggi rata-rata sekitar 0,3–1 m. Bentuk daunnya bervariasi, diantaranya berbentuk *lanceolatus*, oval, atau *rhombus* dengan pangkal dan ujung yang runcing. Daun memiliki tepi yang bergerigi atau berlekuk dengan lebar 2-4 cm dan panjang 4-7 cm. Bunga tanaman ini tersusun dalam rangkaian majemuk bertipe tandan berwarna putih atau ungu muda. Ciri khas dari tanaman ini adalah adanya benang sari yang sangat panjang (>2 cm) yang keluar dari mahkota bunga.¹³¹⁴



Gambar 2.1 Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*)¹⁵

2.1.2. Taksonomi

Taksonomi tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) adalah sebagai berikut:¹⁶

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledon</i>
Ordo	: <i>Lamiales</i>
Famili	: <i>Lamiaceae</i>
Genus	: <i>Orthosiphon</i>
Spesies	: <i>Orthosiphon aristatus</i>

2.1.3. Kandungan Daun Kumis Kucing

Aktivitas farmakologis yang dimiliki oleh tanaman kumis kucing menunjukkan keragaman yang cukup signifikan. Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya, dijumpai beberapa senyawa dominan dalam tanaman ini meliputi sinensetin, eupatorin, dan asam rosmarinat.¹⁷ Penelitian lainnya menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang ditemukan pada daunnya, diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid.¹⁸

Tabel 2.1 Kandungan Daun Kumis Kucing¹⁸

Senyawa	Etanol 96%
Alkaloid	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Terpenoid	+

Flavonoid menunjukkan efek antioksidan yang signifikan dengan cara mengurangi radikal bebas seperti superoksida dan peroksil melalui mekanisme transfer atom hidrogen, sehingga dikategorikan sebagai senyawa antioksidan potensial.¹⁹

2.2. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul dengan konfigurasi elektron tidak lengkap pada orbital luar, sehingga bersifat tidak stabil secara kimia, dan memicu reaksi berantai secara terus-menerus. Radikal bebas muncul saat senyawa stabil mengalami oksidasi dan berubah menjadi bentuk yang tidak stabil serta lebih reaktif.²⁰ Untuk memperoleh kondisi yang lebih stabil, radikal bebas akan berinteraksi dengan molekul di sekitarnya melalui pembentukan ikatan kimia baru.²¹

Secara umum, radikal bebas diklasifikasikan ke dalam dua kelompok utama, yakni *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). ROS merupakan spesies reaktif yang berasal dari oksigen dan memiliki peran ganda, baik dalam proses fisiologis normal maupun dalam perkembangan berbagai kondisi patologis. Contoh ROS meliputi radikal superoksida, radikal hidroksil, dan radikal peroksil. Sementara itu, RNS terdiri dari spesies nitrogen reaktif seperti nitrogen monoksida dan dioksida nitrogen. Salah satu contohnya adalah *nitric oxide*, yang dihasilkan oleh enzim *nitric oxide synthase*.³

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen), salah satunya melalui proses pernapasan aerobik dan aktivitas metabolisme tubuh lainnya. Di sisi lain, radikal bebas juga bisa masuk dari luar tubuh (eksogen), contohnya akibat paparan polusi udara dan sinar ultraviolet.²² Pembentukan radikal bebas dalam tubuh umumnya berlangsung melalui 3 tahap utama, yaitu:²³

1. Tahap inisiasi

Tahap pertama dalam proses pembentukan radikal bebas dikenal sebagai tahap inisiasi. Pada tahap ini, suatu molekul stabil dipecah menjadi dua fragmen radikal melalui pemberian energi berupa panas, cahaya, atau reaksi kimia. Contohnya, senyawa seperti peroksida dapat terurai ketika dipanaskan atau terkena radiasi UV, menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif. Radikal-radikal ini kemudian memulai reaksi berantai dengan menyerang molekul monomer atau komponen biologis lainnya.

2. Tahap propagasi

Setelah pembentukan radikal bebas pada tahap inisiasi, reaksi kimia memasuki fase propagasi. Dalam tahap ini, radikal bebas yang terbentuk akan menyerang molekul monomer secara berulang, sehingga mempertahankan dan memperpanjang rantai reaksi. Setiap interaksi antara radikal dan monomer menghasilkan radikal baru yang masih memiliki sifat reaktif, sehingga mampu melanjutkan reaksi dengan monomer berikutnya. Dengan begitu, rantai polimer terus bertambah panjang selama proses ini berlangsung.

3. Tahap terminasi

Tahap terminasi berlangsung ketika dua radikal bebas yang memiliki reaktivitas tinggi bertemu dan bereaksi satu sama lain, sehingga menghentikan rantai reaksi. Reaksi ini mengakhiri pertumbuhan rantai polimer yang sebelumnya berlangsung selama tahap propagasi.

2.3. Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang mampu menghambat atau memperlambat kerusakan oksidatif dengan menetralkan radikal bebas yang bersifat reaktif.²⁴ Berdasarkan sumbernya, antioksidan terbagi menjadi antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan alami berasal dari ekstrak tumbuhan atau bahan alam lainnya seperti buah-buahan, biji-bijian, dan bahan organik lainnya. Contoh senyawa antioksidan alami meliputi vitamin A, vitamin C, vitamin E, serta polifenol (flavonoid, flavon, flavonol, dan biflavonoid). Antioksidan sintetis merupakan senyawa yang dihasilkan melalui proses sintesis kimia. Penggunaannya secara berlebihan dikaitkan dengan risiko kesehatan, termasuk efek potensial karsinogenik. Contoh antioksidan sintetis antara lain *buthylated hidroxyanisol* (BHA), *buthylated hydroxytoluene* (BHT), dan *tert-butylhydroquinone* (TBHQ).²⁵

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi primer, sekunder, dan tersier sesuai dengan peran serta mekanismenya dalam menghambat aktivitas radikal bebas. Antioksidan primer berfungsi sebagai *chain-breaking antioxidant*, yang berperan dalam menghentikan propagasi reaksi radikal bebas dengan

mendonorkan atom hidrogen kepada molekul lipid yang telah teroksidasi. Dengan demikian, senyawa hasil reaksi menjadi lebih stabil dan tidak reaktif. Contoh antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase (GPx). Antioksidan sekunder bekerja secara tidak langsung dengan cara pengikatan ion logam pro-oksidan, deaktivasi singlet oksigen, penyerapan sinar UV, serta pemecahan hidropersida menjadi produk yang tidak reaktif. Contoh senyawa dalam kelompok ini antara lain β -karoten, bilirubin, albumin, transferin, isoflavon, vitamin C, dan vitamin E. Sementara itu, antioksidan tersier memiliki fungsi restoratif, yaitu mencegah akumulasi kerusakan biomolekul dan membantu proses perbaikan sel pasca stres oksidatif. Mekanisme ini dilakukan melalui penguraian protein rusak oleh enzim proteolitik dan perbaikan DNA oleh enzim pemulih seperti metionin reduktase.²⁶

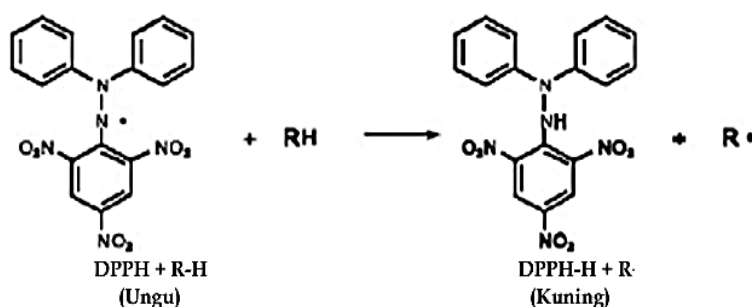
Secara umum, mekanisme aksi antioksidan dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu *Electron Transfer* (ET) dan *Hydrogen Electron Transfer* (HET). Pada mekanisme ET, antioksidan bertindak melalui reaksi redoks (reduksi dan oksidasi) yang ditandai oleh perubahan warna larutan akibat transfer elektron. Sementara itu, mekanisme HET berlangsung melalui pendonoran atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai oksidatif.²⁷

2.4. Uji Aktivitas Antioksidan

Dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan suatu sampel, digunakan berbagai metode analisis yang mampu memberikan gambaran karakteristik antioksidan secara spesifik, diantaranya uji *2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), *2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate acid)* (ABTS), dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP).²⁸

Metode DPPH merupakan salah satu teknik analisis kimia yang digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa atau ekstrak dalam mengikat radikal bebas. Uji ini berbasis pada senyawa DPPH (*2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), yang memiliki warna ungu kuat dan serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Ketika senyawa antioksidan ditambahkan ke dalam larutan DPPH,

terjadi reaksi donasi hidrogen yang menyebabkan perubahan warna menjadi lebih pucat atau tidak berwarna. Perubahan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, di mana semakin besar penurunan nilai absorbansi, semakin tinggi aktivitas antioksidan dari sampel uji.²⁶



Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan²⁸

Aktivitas antiradikal dari suatu senyawa atau ekstrak ditentukan melalui nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang mampu menghasilkan penghambatan sebesar 50% terhadap aktivitas radikal bebas jika dibandingkan dengan kontrol. Penetapan nilai tersebut dilakukan dengan membangun kurva regresi linier yang menunjukkan hubungan antara variasi konsentrasi sampel dan persentase inhibisi radikal bebas.²⁹ Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak. Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh, semakin tinggi aktivitas antioksidannya, karena konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas semakin rendah. Sebaliknya, nilai IC_{50} yang lebih besar menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah.²⁷

Tabel 2.2 Kategori Nilai IC_{50} ²⁶

No	Kategori	Nilai IC_{50} (mg/L)
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	50-100
3	Sedang	100-150
4	Lemah	150-200
5	Sangat lemah	>200

Pada penelitian sebelumnya, dilakukan perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan termasuk DPPH, ABTS, dan FRAP. Metode DPPH terbukti sebagai yang paling efektif dan efisien dibandingkan dua metode lainnya dalam mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal bebas.²⁸ Salah satu keunggulan utama metode DPPH adalah stabilitas radikal bebasnya, sehingga sering digunakan sebagai model standar dalam pengujian aktivitas antioksidan, terutama untuk ekstrak tumbuhan. Uji ini dapat diterapkan pada berbagai bentuk sampel, baik padat maupun cair, tanpa memerlukan spesifikasi terhadap jenis komponen antioksidan tertentu. Selain itu, metode DPPH dikenal memiliki prosedur analisis yang sederhana, waktu reaksi yang relatif singkat, serta biaya yang terjangkau dibandingkan metode lain. Hal ini menjadikannya salah satu pendekatan yang efektif dan efisien untuk menilai kemampuan suatu senyawa atau campuran dalam menetralkan radikal bebas.³⁰

2.5. Vitamin C

Vitamin C merupakan senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik dan berperan dalam sistem pertahanan biologis tubuh dengan melindungi sel serta komponen plasma dari kerusakan akibat spesies oksigen reaktif. Secara kimia, vitamin C termasuk senyawa asam dengan rumus molekul $C_6H_8O_6$ dan bobot molekul sebesar 176,13 g/mol. Dalam berbagai penelitian aktivitas antioksidan, vitamin C kerap digunakan sebagai kontrol atau standar pembanding karena telah terbukti efektif dalam meredam dan menetralkan radikal bebas, memiliki tingkat toksisitas yang rendah, serta aman untuk dikonsumsi manusia.³¹

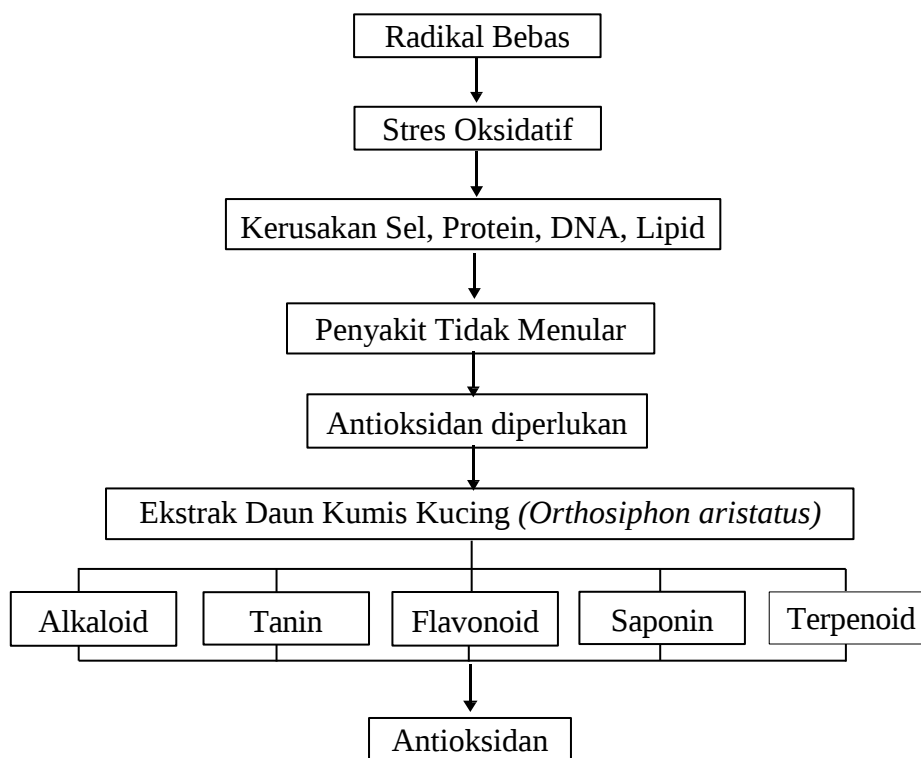
Vitamin C bekerja menekan efek radikal bebas dengan mendonorkan elektron, yang menyebabkan radikal tersebut menjadi lebih stabil dan kurang reaktif. Senyawa ini terdapat dalam dua bentuk yang tidak stabil, yaitu bentuk tereduksi yang dikenal sebagai asam L-askorbat (AA), dan bentuk teroksidasi yang disebut asam dehidroaskorbat (DAA).³²

2.6. Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah teknik analisis yang digunakan secara kualitatif dan kuantitatif untuk mengidentifikasi serta menentukan konsentrasi komponen kimia

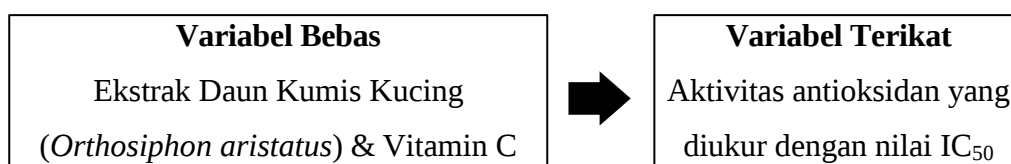
dalam suatu sampel. Teknik ini memanfaatkan prinsip interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi, terutama pada daerah cahaya ultraviolet (UV) dan cahaya tampak (*visible*). Cara kerjanya adalah dengan melewati cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui sampel, lalu mengukur intensitas cahaya yang diserap. Alat yang digunakan dalam metode ini disebut spektrofotometer, yang terdiri atas beberapa komponen utama seperti sumber cahaya, monokromator untuk pemilihan panjang gelombang, kuvet sebagai tempat sampel, serta detektor yang berperan mengonversi energi cahaya menjadi sinyal listrik sehingga dapat dilakukan proses analisis lebih lanjut.³²

2.7. Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.9. Hipotesis

1. Hipotesis Nol (H_0) : Ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) tidak memiliki aktivitas sebagai antioksidan dibandingkan dengan vitamin C menggunakan metode DPPH.
2. Hipotesis Alternatif (H_a) : Ekstrak metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dibandingkan dengan vitamin C menggunakan metode DPPH.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
Konsentra	Konsentrasi	Neraca	Rumus:	Numerik	10 ppm
si ekstrak	ekstrak	metanol	$V_1 \times M_1 =$		20 ppm
daun	larutan yang diuji	<i>beaker</i>	$V_2 \times M_2$		30 ppm
kumis	dengan ppm.	<i>glass</i> , dan			40 ppm
kucing		pipet			50 ppm
		mikro.			
Vitamin C	Kontrol positif	Neraca	Rumus:	Numerik	1 ppm
	untuk uji aktivitas	analitik,	$V_1 \times M_1 =$		2 ppm
	antioksidan DPPH	<i>beaker</i>	$V_2 \times M_2$		3 ppm
	pada konsentrasi	<i>glass</i> , dan			4 ppm
	tertentu (ppm).	pipet			5 ppm
		mikro.			
Variabel Terikat					
Aktivitas	Kemampuan	Spektro	Regresi	Numerik	Nilai
antioksi-	ekstrak meredam	fotometer	linier		IC ₅₀
dan	radikal bebas		$Y = bX + a$		(mg/L)
	DPPH yang dinilai				
	dari penurunan				
	absorbansi DPPH.				

3.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental untuk membandingkan antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing dengan vitamin C menggunakan metode DPPH.

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1. Waktu Penelitian

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

No	Studi Kegiatan	2025							
		Mei	Juni	Juli	Agu	Sept	Okt	Nov	Des
1	Studi Literatur								
2	Penyusunan Proposal								
3	Seminar Proposal								
4	Pembuatan <i>Ethical Clearance</i>								
5	Pelaksanaan Riset								
6	Analisis data								
7	Penyusunan laporan								

3.3.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1. Populasi Penelitian

Seluruh tanaman kumis kucing yang tumbuh di wilayah Sumatera Utara.

3.4.2. Sampel Penelitian

Daun kumis kucing segar yang diambil dari Medan Estate, Deli Serdang, Sumatera Utara.

3.5. Alat dan Bahan

3.5.1. Alat

Timbangan analitik, blender, wadah maserasi, saringan, spatula, tabung reaksi, *aluminium foil*, *beaker glass*, pipet ukur, mikropipet, *rotary evaporator*, *hotplate stirrer*, dan spektrofotometri Uv-Vis.

3.5.2. Bahan

Daun kumis kucing, *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), *aquadest*, methanol pro analisis, dan vitamin C.

3.6. Prosedur Kerja

3.6.1. Pengolahan Sampel

Sebanyak 500 gram daun kumis kucing segar yang berasal dari Medan Estate, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara, dibersihkan terlebih dahulu, selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Setelah proses pengeringan, daun kemudian diblender hingga diperoleh serbuk halus (*simplisia*).

3.6.2. Ekstraksi Sampel

Serbuk daun kumis kucing sebanyak 150 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam metanol dengan rasio 1:10 hingga seluruh sampel terendam. Wadah ditutup dan disimpan di tempat gelap selama 3 hari dengan pengadukan setiap 6 jam. Campuran hasil ekstraksi disaring guna memisahkan ampas dan filtrat. Selanjutnya, larutan diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak metanol pekat.

3.6.3. Pembuatan Larutan Uji

3.6.3.1. Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

Sebanyak 25 mg DPPH dilarutkan dengan metanol kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Volume metanol ditambahkan hingga mencapai 25 mL, sehingga diperoleh larutan DPPH konsentrasi 1000 µg/mL. Selanjutnya, sebanyak 5 mL dari larutan stok diambil menggunakan pipet ukur dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*, lalu metanol ditambahkan hingga

mencapai volume 25 mL untuk memperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 µg/mL.

3.6.3.2. Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C sebanyak 50 mg ditimbang, kemudian dilarutkan dan diencerkan hingga volumenya 50 mL untuk menghasilkan larutan baku dengan konsentrasi 1000 µg/mL.³³

3.6.3.3. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing

Sebanyak 25 mg ekstrak daun kumis kucing ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Volume metanol ditambahkan menggunakan pipet ukur hingga mencapai 25 mL, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 µg/mL.

3.6.3.4. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH berkonsentrasi 200 µg/mL diambil sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur, lalu dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Metanol ditambahkan hingga volume total mencapai 10 mL sehingga diperoleh larutan blanko dengan konsentrasi 40 µg/mL.

3.6.3.5. Pengukuran Serapan Blanko

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 200 µg/mL diambil menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Kemudian ditambahkan metanol sampai volume mencapai 10 mL untuk menghasilkan larutan DPPH 40 µg/mL. Larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400–800 nm guna menentukan λ maksimum DPPH.

3.6.3.6. Pengukuran Absorbansi DPPH dan Vitamin C

Sebanyak 10 mL larutan stok vitamin C dengan konsentrasi 1000 µg/mL diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya, metanol ditambahkan hingga volume mencapai tanda batas untuk memperoleh larutan vitamin C dengan konsentrasi 200 µg/mL. Larutan ini kemudian digunakan dalam pengukuran absorbansi dengan memipet masing-masing volume 0,05 mL; 0,10 mL; 0,15 mL; 0,20 mL; dan 0,25 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan metanol hingga volume total

mencapai 10 mL. Setelah itu, masing-masing larutan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 200 µg/mL sehingga diperoleh larutan uji vitamin C dengan konsentrasi akhir 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, dan 5 µg/mL. Larutan selanjutnya diinkubasi selama 30 menit, kemudian nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm. Setiap pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

3.6.3.7. Pengukuran Absorbansi DPPH dan Daun Kumis Kucing

Larutan ekstrak metanol berkonsentrasi 1000 µg/mL diambil masing-masing sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; dan 0,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah. Selanjutnya, setiap tabung ditambahkan 2 mL larutan DPPH konsentrasi 200 µg/mL, lalu ditambahkan metanol hingga volume total mencapai 10 mL. Dengan perlakuan tersebut diperoleh larutan uji ekstrak daun kumis kucing dengan konsentrasi akhir berturut-turut sebesar 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, dan 50 µg/mL. Larutan selanjutnya diinkubasi selama 30 menit, kemudian nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm. Setiap pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

3.7. Analisis Data

Nilai IC₅₀ masing-masing sampel (ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C) dihitung berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi terhadap DPPH.

Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan persen inhibisi menggunakan rumus:³⁴

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

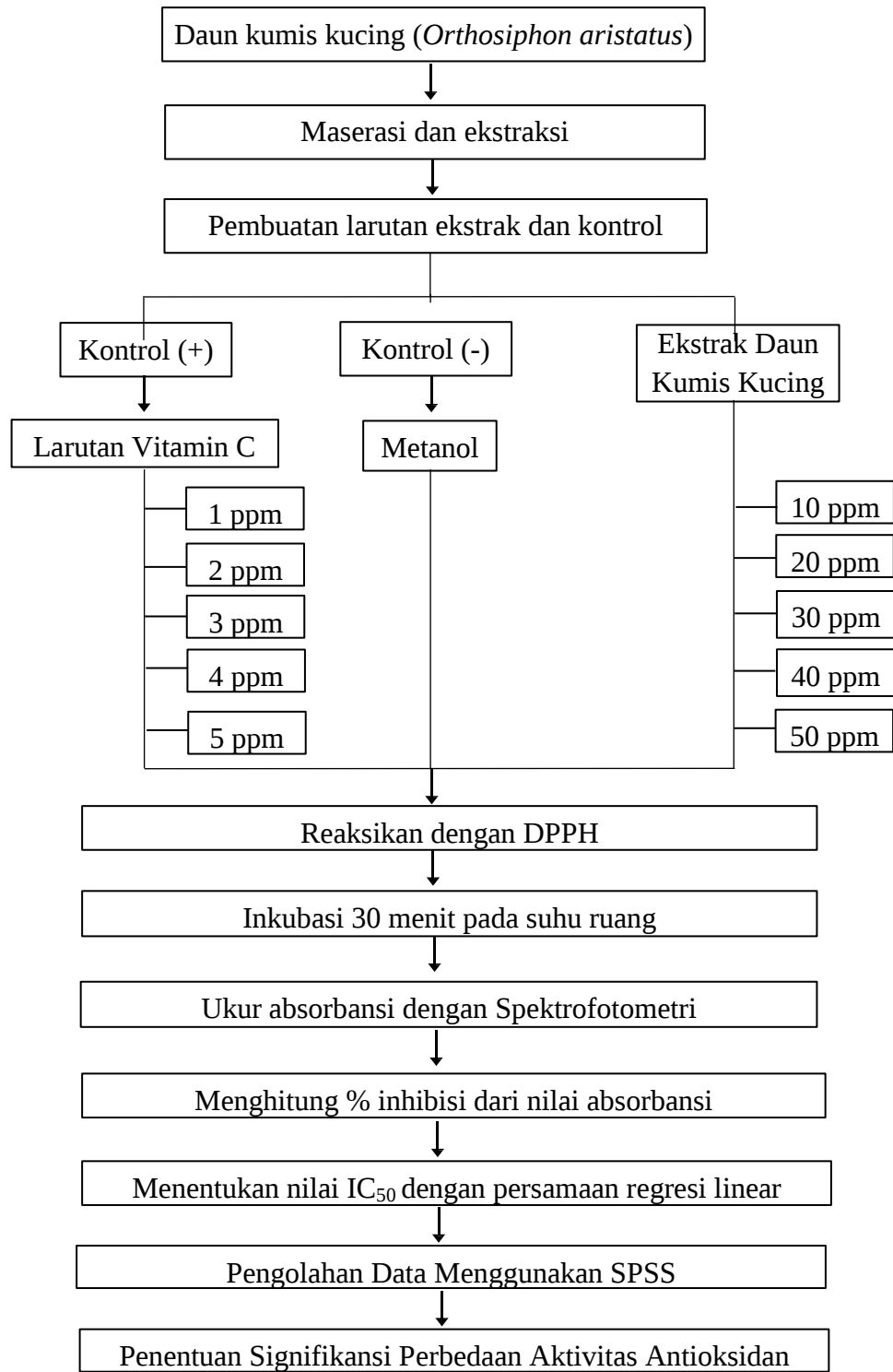
A_{kontrol} = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel (tanpa ekstrak atau vitamin C)

A_{Sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel (dengan ekstrak atau vitamin C)

Data hasil inhibisi antioksidan dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier $Y = bX + a$, di mana konsentrasi ekstrak (ppm) digunakan sebagai variabel independen (sumbu X) dan persentase inhibisi (%) sebagai variabel dependen (sumbu Y). Nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan konsentrasi yang memberikan efek inhibisi sebesar 50%.³⁴ Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk masing-masing sampel, sehingga diperoleh tiga nilai IC_{50} per kelompok.

Nilai IC_{50} yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS. Tahap awal analisis dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro–Wilk* untuk menilai apakah data berdistribusi normal atau tidak. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test*. Apabila data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, perbandingan nilai IC_{50} antara ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C dianalisis menggunakan *Independent Sample t-test*. Sebaliknya, apabila data tidak berdistribusi normal, maka digunakan uji nonparametrik *Mann–Whitney U*. Seluruh pengujian statistik dilakukan dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

3.8. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Determinasi Tanaman Kumis Kucing

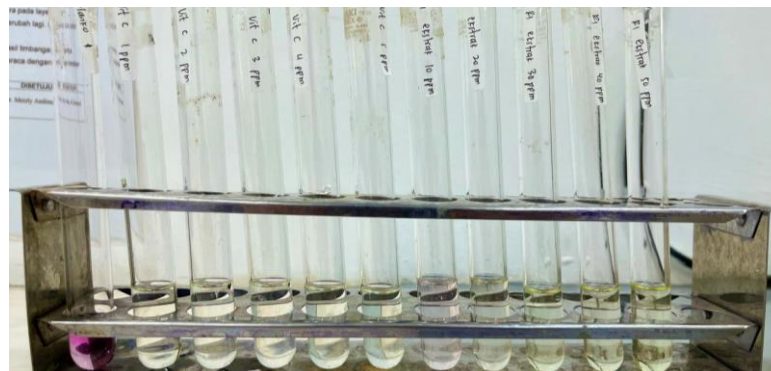
Determinasi tanaman kumis kucing dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar yaitu spesies *Orthosiphon aristatus*.

4.1.2. Hasil Ekstraksi Daun Kumis Kucing

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing

Metode ekstraksi	Berat serbuk yang diekstraksi	Berat ekstrak hasil ekstraksi	Nilai rendemen (%)
Maserasi	150 g	21,6 g	14,4%

4.1.3. Uji Aktivitas Antioksidan



Gambar 4.1 Perubahan Warna pada Larutan Uji

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan perubahan warna larutan DPPH setelah inkubasi.

Setelah uji kualitatif, dilakukan pengukuran kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 517 nm dengan tiga replikasi, kemudian nilai absorbansi digunakan untuk menghitung persen inhibisi dan penentuan nilai IC_{50} .

Tabel 4.2 Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Ekstrak Daun Kumis Kucing

Konse	Absorbansi (mg/L)					% Inhibisi			
ntiasi (ppm)	Blanko	R1	R2	R3	Rata- rata	R1	R2	R3	Rata- rata
10	0,122	0,092	0,103	0,087	0,094	24,590	15,573	28,688	22,950
20	0,122	0,069	0,078	0,070	0,072	43,442	36,065	42,623	40,71
30	0,122	0,057	0,070	0,061	0,062	53,278	42,623	50	48,633
40	0,122	0,043	0,045	0,049	0,045	64,754	63,114	59,836	62,568
50	0,122	0,040	0,037	0,038	0,038	67,213	69,672	68,852	68,579

Tabel 4.3 Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Vitamin C

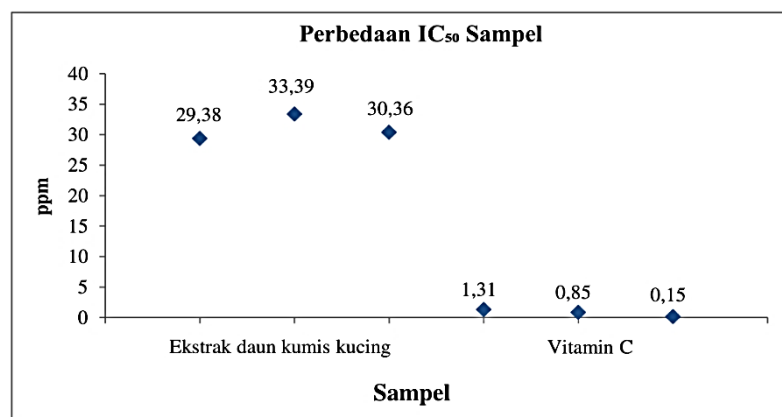
Konse	Absorbansi (mg/L)					% Inhibisi			
ntiasi (ppm)	Blanko	R1	R2	R3	Rata- rata	R1	R2	R3	Rata- rata
1	0,122	0,062	0,058	0,055	0,058	49,180	52,459	54,918	52,185
2	0,122	0,057	0,057	0,047	0,053	53,278	53,278	61,475	56,010
3	0,122	0,052	0,050	0,046	0,049	57,377	59,016	62,295	59,562
4	0,122	0,040	0,043	0,030	0,037	67,213	64,754	75,409	69,125
5	0,122	0,036	0,037	0,029	0,034	70,491	69,672	76,229	72,130

Berdasarkan data pada Tabel 4.2 dan Tabel 4.3, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi sampel, baik ekstrak daun kumis kucing maupun vitamin C sebagai kontrol positif, menyebabkan penurunan nilai absorbansi yang diikuti oleh peningkatan persentase inhibisi radikal bebas DPPH.

Hubungan linier antara konsentrasi dan persentase inhibisi terlihat dari persamaan regresi yang diperoleh, yang kemudian digunakan sebagai dasar penentuan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan sebagai konsentrasi yang mampu menghasilkan inhibisi sebesar 50%, sebagaimana disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC₅₀ Larutan Uji

Replikasi	Ekstrak Daun Kumis Kucing		Vitamin C	
	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Replikasi 1	$y = 1,0656x + 18,689$ $R^2 = 0,9374$	29,38	$y = 5,6557x + 42,541$ $R^2 = 0,9693$	1,31
Replikasi 2	$y = 1,3525x + 4,8361$ $R^2 = 0,9691$	33,39	$y = 4,5902x + 46,066$ $R^2 = 0,962$	0,85
Replikasi 3	$y = 0,9754x + 20,738$ $R^2 = 0,9903$	30,36	$y = 5,6557x + 49,098$ $R^2 = 0,9135$	0,15

Gambar 4.2 Perbandingan IC₅₀ Sampel

Gambar 4.2 menunjukkan perbandingan nilai IC₅₀ antara sampel ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C sebagai kontrol positif dalam uji antioksidan.

Perbandingan statistik dua kelompok dianalisis menggunakan uji *Independent Sample t-test*. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data IC₅₀ pada kelompok ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C berdistribusi normal. Uji *Shapiro–Wilk* menunjukkan nilai signifikansi 0,452 untuk ekstrak dan 0,773 untuk vitamin C. Nilai signifikansi pada kedua kelompok menunjukkan $p > 0,05$, sehingga data dinyatakan berdistribusi normal. Selanjutnya, pengujian homogenitas menggunakan *Levene's Test* dengan nilai p sebesar 0,087 ($p > 0,05$), yang menandakan varians antar kelompok bersifat homogen. Oleh karena itu,

analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji *Independent Sample t-test* dengan asumsi varians yang sama (*equal variances assumed*).

Tabel 4.5 Hasil uji *Independent Sample t-test*

<i>Variable</i>	<i>Sig.</i>	<i>Mean Difference</i>
Ekstrak Daun Kumis Kucing dan Vitamin C	<0,001	-30,27333

Hasil uji *Independent Sample t-test* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,001$ dengan nilai selisih rerata (*mean difference*) sebesar $-30,27$. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif menunjukkan adanya perubahan warna pada larutan ekstrak daun kumis kucing maupun vitamin C setelah penambahan reagen DPPH. Gambar 4.1 menunjukkan larutan DPPH yang pada awalnya berwarna ungu mengalami pemudaran warna hingga menjadi kuning pucat, yang menandakan adanya reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan dalam sampel. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH telah mengalami proses reduksi akibat penerimaan elektron atau atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa antioksidan. Proses ini mengakibatkan terbentuknya senyawa DPPH dalam bentuk tereduksi (DPPH-H) yang bersifat lebih stabil dan tidak lagi bersifat radikal.²⁹

Berdasarkan hasil uji kuantitatif, peningkatan konsentrasi sampel uji menyebabkan terjadinya penurunan nilai absorbansi yang secara konsisten diikuti oleh peningkatan persentase inhibisi radikal bebas. Data yang disajikan pada Tabel 4.2 dan Tabel 4.3 menunjukkan adanya hubungan yang searah antara konsentrasi ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C dengan kemampuan penghambatan radikal bebas, dimana semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, semakin besar aktivitas antioksidan yang ditunjukkan. Pada konsentrasi 30 ppm, ekstrak daun kumis kucing menghasilkan persen inhibisi rata-rata sebesar 48,63%, yang mendekati nilai inhibisi 50%. Nilai ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi

tersebut, ekstrak daun kumis kucing telah menunjukkan kemampuan antioksidan yang kuat. Sebagai pembanding, vitamin C mencapai persen inhibisi sebesar 52,19% pada konsentrasi 1 ppm. Meskipun vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dan bekerja efektif pada konsentrasi yang jauh lebih rendah, ekstrak daun kumis kucing pada konsentrasi 30 ppm mampu memberikan aktivitas antioksidan yang mendekati vitamin C pada konsentrasi 1 ppm. Aktivitas ekstrak daun kumis kucing ini didukung oleh keberadaan senyawa bioaktif yang telah diidentifikasi pada penelitian sebelumnya, seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, sinensetin, eupatorin, *orthosiphol*, dan *rosmarinic acid*, yang diketahui berperan dalam mekanisme penangkapan radikal bebas.^{17,18} Hal ini diperkuat oleh penelitian-penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron ataupun transfer atom hidrogen.^{35,36}

Senyawa bioaktif dalam ekstrak daun kumis kucing, terutama fenolik dan flavonoid seperti *rosmarinic acid*, sinensetin, dan eupatorin, memiliki kemampuan dalam menetralkan radikal bebas melalui dua mekanisme utama, yaitu mekanisme transfer elektron dan mekanisme transfer atom hydrogen. Dalam mekanisme transfer elektron, antioksidan mentransfer satu elektron ke radikal bebas, sehingga radikal menjadi kurang reaktif. Sedangkan dalam transfer atom hidrogen, antioksidan menyumbangkan atom hidrogen yang terdiri dari proton dan elektron ke radikal bebas, menghasilkan molekul radikal antioksidan yang baru namun lebih stabil. Kedua mekanisme ini sering terjadi bersamaan dalam banyak senyawa fenolik alami.³⁷

Pada larutan vitamin C sebagai kontrol positif memberikan respon yang konsisten dan linear terhadap peningkatan konsentrasi. Pada kisaran konsentrasi 1–5 ppm, absorbansi larutan menurun dari 0,058 hingga 0,034, yang kemudian diikuti dengan peningkatan persen inhibisi dari sekitar 52% menjadi lebih dari 72%. Penurunan absorbansi ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi vitamin C, semakin banyak radikal bebas yang berhasil dinetralkan. Hal ini sesuai dengan teori bahwa vitamin C merupakan antioksidan kuat yang bekerja dengan mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas,

sehingga menyebabkan absorbansi larutan DPPH menurun secara signifikan.³⁸ Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa vitamin C secara konsisten menghasilkan nilai inhibisi tinggi pada konsentrasi rendah, menjadikannya standar dalam pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai senyawa bioaktif.³⁹

Meskipun efektivitas ekstrak daun kumis kucing masih lebih rendah dibandingkan vitamin C, aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak daun kumis kucing tetap menunjukkan potensi bioaktivitas yang kuat dan konsisten. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa bioaktif di dalam ekstrak mampu berinteraksi secara efektif dengan radikal bebas dan menurunkan tingkat reaktivitasnya, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing berada pada kisaran 29,38; 33,39; dan 30,36 ppm, juga menunjukkan potensi antioksidan kategori sangat kuat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak mampu secara efektif mendonorkan elektron maupun atom hidrogen sehingga radikal DPPH dapat dinetralkan dan menghambat terjadinya reaksi oksidatif berantai.⁴⁰ Perbedaan nilai IC_{50} antar replikasi dapat disebabkan oleh variasi konsentrasi senyawa bioaktif, kestabilan radikal selama uji, serta kondisi fisik-kimia ekstrak, namun secara keseluruhan tetap menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat.⁴¹ Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan daun kumis kucing sebagai sumber antioksidan potensial dengan kemampuan scavenging radikal yang baik.⁴²

Sebaliknya, diperoleh nilai IC_{50} vitamin C sebesar 1,31; 0,85; dan 0,15 ppm, yang menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} yang rendah menandakan bahwa hanya diperlukan konsentrasi kecil untuk mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH.²⁹ Temuan ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa vitamin C merupakan antioksidan standar dengan potensi sangat kuat karena sifatnya sebagai donor elektron dan hidrogen yang efisien.³⁷ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam askorbat memiliki nilai IC_{50} sangat rendah yaitu 1,238 ppm sehingga

dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat dan digunakan sebagai kontrol positif dalam uji DPPH.⁴³

Hasil pengujian *Independent Sample t-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C, ditunjukkan dengan nilai $p < 0,001$. Nilai *mean difference* sebesar – 30,27 mengindikasikan bahwa nilai IC_{50} vitamin C lebih rendah dibandingkan ekstrak daun kumis kucing, sehingga aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun kumis kucing. Artinya, ekstrak membutuhkan konsentrasi yang lebih besar untuk menurunkan 50% radikal bebas DPPH, sehingga aktivitas antioksidannya jauh lebih rendah.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan:

1. Ekstrak daun kumis kucing menunjukkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Meskipun tingkat aktivitasnya masih berada di bawah vitamin C, ekstrak ini tetap memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.
2. Hasil uji *Independent Sample t-test* menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C ($p < 0,001$).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis kandungan fitokimia ekstrak daun kumis kucing, misalnya menggunakan *GC-MS* atau *LC-MS*, untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.
2. Menguji aktivitas biologis lain, misalnya antibakteri atau antiinflamasi, untuk melihat potensi penggunaan ekstrak secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*. 2022; 2(2): 48-78.
2. Pruteanu LL, Bailey DS, Grădinaru AC, Jäntschi L. The Biochemistry and Effectiveness of Antioxidants in Food, Fruits, and Marine Algae. *Antioxidants*. 2023; 12(4).
3. Chandimali N, Bak SG, Park EH, Lim HJ, Won YS, Kim EK, et al. Free Radicals and Their Impact on Health and Antioxidant Defenses: A Review. *Cell Death Discov*. 2025; 11(1).
4. Messages K. Non-Communicable Diseases Watch Bur den of Non-communicable Diseases : An Update Bur den of Non-communicable Diseases : An Update. 2024; 4.
5. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Razis AFA, Modus B, et al. Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidants: Potential Crosstalk in The Pathophysiology of Human Diseases. *Front Chem*. 2023; 11(May): 1-24.
6. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11(July): 1-21.
7. Norazizah S, Wibisono N, Wahyuningsih D. Systematic Literature Review : Pomegrante Improves Nitric Oxide Level in Oxidative Stress. *Proseding Konferensi Nasional Life Science dan Teknologi*. Published online 2020.
8. Jamshidi-Kia F, Wibowo JP, Elachouri M, Masumi R, Salehifard-Jouneghani A, Abolhassanzadeh Z, et al. Battle Between Plants as Antioxidants With Free Radicals in Human Body. *Journal of Herbmed Pharmacology Battle*. 2020; 9(3): 191-199.
9. Rafi M, W NS, Wahyuni WT, Arif Z, Heryanto R. Autentikasi Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Menggunakan Kombinasi Spektrum Ultraviolet-Tampak dan *Partial Least Square Regression*. *Indones J Cheometrics Pharm Anal*. 2021; 1(2): 93-101.
10. Nurcholis W, Mahendra FR, Gultom MF, Khoirunnisa S, Kurnia MAC, Harahap HH. Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Screening of *Orthosiphon stamineus* Leaf Extract Two Phenotypes. *J Jamu Indones*. 2022; 7(3): 121-129.
11. Prasetyo DA. Uji Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometri Uv-Vis Dengan Metode DPPH Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *J Wiyata Penelit Sains dan Kesehat*. 2023; 10(1): 46.
12. ovita W D, Amalia Falyani S. Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *J Kesehat Islam Islam Heal J*. 2021; 10(2): 53.
13. Layly SF, Hisyamuddin I, Anjani SD, Putri HA, Dewi N, Anggrayni R, et al. Studi Fitokimia Dan Farmakologi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Sebagai Antikanker. 2023; 01(01): 1-9.

14. Kelurahan DI, Kecamatan P. Karakteristik Morfologi Jenis-Jenis Tanaman Obat. 2023; 5(2): 56-65.
15. Faramayuda F, Mariani TS. Plant Tissue Culture of Cat Whiskers (*Orthosiphon aristatus* Blume Miq): A review of secondary metabolite production and micropropagation. 2022; 22: 92-97.
16. Jannah H, Safnowandi. Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat Tradisional Di Kawasan Hutan Olat Cabe Desa Batu Bangka Kecamatan Moyo Hilir Kabupaten Sumbawa Besar. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 2018; 6(2): 145-172.
17. Faramayuda F, Riyanti S, Syam AK. Standardization of *Orthosiphon Aristatus*, Blume Miq. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2022; 14(5): 72-79.
18. Arianti V, Fikriyan F, Lakoan MR, Binawan U. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kumis Kucing Antibakteri Terhadap *Propionibacterium Acnes* Dengan Menggunakan Dua Pelarut. 2024; 4(4): 315-323.
19. Tumilaar SG, Hardianto A, Dohi H, Kurnia D. 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. *J Chem*. 2023; 2024.
20. Ayu IW, Putu Nyoman N, Udayani W, Putri GA. Artikel Review : Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *J Syifa Sci Clin Res*. 2024; 6(2): 188-197.
21. Nakai K, Tsuruta D. What Are Reactive Oxygen Species, Free Radicals, and Oxidative Stress in Skin Diseases? *Int J Mol Sci*. 2021; 22(19).
22. Terapan I, Karneli Y. Analisis Aktivitas Antioksi dalam Menghambat Radikal Bebas Sains dan Ilmu Terapan. 2024; 2: 55-59.
23. Gunawan U, Nathaniel F, Bunawan SJ, Lukman M, Wening AT. Studi Kinetika dan Mekanisme Reaksi Polimerisasi Radikal Bebas pada Senyawa Organik. *Journal of Mandalika Literature*. 2024; 6(2): 371-378.
24. Tripathi R. Antioxidants : Types, Functions and Usage. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*. 2024: 442-454.
25. Handito D, Basuki E, Saloko S, Dwikasari LG, Triani E. Analisis Komposisi Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Antioksidan Alami Pada Produk Pangan. 2022; 4: *Prosiding SAINTEK LPPM Universitas Mataram*. 23-24.
26. Kurniawati IF, Sutoyo S. Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis* Fosberg) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *Unesa J Chem*. 2021; 10(1): 1-11.
27. Andriani D, Murtisiwi L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*. 2020; 1(1): 70-76.
28. Theafelicia Z, Wulan SN. Comparison of Various Methods for Testing Antioxidant Activity (DPPH, ABTS, and FRAP) on Black Tea (*Camellia sinensis*). 2023; 24(1): 35-44.
29. G Gulcin İ, Alwasel SH. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*. 2023; 11(8).
30. Yamauchi M, Kitamura Y, Nagano H, Kawatsu J, Gotoh H. DPPH Measurements and Structure-Activity Relationship Studies on the

- Antioxidant Capacity of Phenols. *Antioxidants*. 2024; 13(3).
31. Safnowandi S. Pemanfaatan Vitamin C Alami sebagai Antioksidan pada Tubuh Manusia. *Biocaster J Kaji Biol*. 2022; 2(1): 6-13.
 32. Abriyani E, Khoirun Nissa A, Nurcahyani I, Haniatin K, Andriyani N. Analisis Hasil Penentuan Struktur Kimia Senyawa Asam Askorbat Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS Sebagai Bahan Ajar Kimia Analitik. *J Ilm Wahana Pendidik*. 2024; 10(11): 134-138.
 33. Omer GA, Mohammed LY. Total Phenolic, Flavonoids and Vitamin C Contents with Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. Leaves Growing in Zakho, Kurdistan. *Baghdad Science Journal*. 2024; 21(5): 1592-1608.
 34. Kusumanti Y, Ilmawati EM, Hasibuan UFH. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode DPPH (2,2 DIliphenyl 1-1 Pickrylhydrzyl). *J Pharm Sci*. 2023; 6(4): 1658-1664.
 35. Ramadhani NP, Murti YB, Gani AP. Profiling Rosmarinic Acid and Sinensetin Content of *Orthosiphon aristatus* from Three Different Locations with Variety Ethanol Concentration. *Journal of Food and Pharmateutical Sciences*. 2024; 12(2): 116-124.
 36. Arif Z, Zalukhu A, Karomah AH, Rafi M. Kapasitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Ekstrak Air dan Etanol Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*). 2022; 7(3): 93-101.
 37. Charlton NC, Mastuyugin M, Török B, Török M. Structural Features of Small Molecule Antioxidants and Strategic Modifications to Improve Potential Bioactivity. *Molecules*. 2023; 28: 1057.
 38. Anu OS, Ahmed S, Islam T, Shah VK, Ahmed MI, Rahman MA. Comparative Investigation of Free Radical Scavenging and Cyclic Voltammetric Analyses to Evaluate The Antioxidant Potential of Selective Green Vegetables Extracts. *Scientific Reports*. 2025: 1-11.
 39. Habib R, Rahman M, Mannan A, Zulfiker AH, Uddin ME, Sayeed MA. Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic, Antibacterial Potential and Phytochemical Screening of Chloroform Extract of *Phyllanthus Acidus*. 2021; 2:(1).
 40. Firnanda EE, Atila HD, Hamid N, Susilo F, Ramadhan NI. Review : Bioaktivitas dari Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*). 2023; 6(2): 19-31.
 41. Brummelhaus B, Menezes D, Mironuk L, Duarte R, Antonio M, Barcellos M. Analytica Chimica Acta A critical examination of the DPPH method : Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV e Vis spectroscopy. *Anal Chim Acta*. 2021; 1157: 338398.
 42. Novita D, Falyani SA. Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2021; 10(2): 53.
 43. Ahyani IN, Mahbub F, Kanalung ATP, Kusumaningtyas FA. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat dengan Metode DPPH dan FRAP. *Farmaseutik*. 2025; 21(2): 213-220.

Lampiran 1. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 1588/KEPK/FKUMSU/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Nurul Aisyah
Principal in investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah of Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"PERBANDINGAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon aristatus*) DENGAN VITAMIN C MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)"

"COMPARISON OF ANTIOXIDANTS METHANOL EXTRACTS OF CAT'S WHISKER LEAVES (*Orthosiphon aristatus*) WITH VITAMIN C USING THE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) METHOD"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 15 Agustus 2025 sampai dengan tanggal 15 Agustus 2026
The declaration of ethics applies during the periode August 15, 2025 until August 15, 2026



Medan, 15 August, 2025
Ketua
(Signature)
Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 2. Surat Izin Penelitian



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Bila menandatangani surat ini, harap selesaikan nomor dan tanggalnya.

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

UMSU Terakreditasi Unggul Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 174/SK/BAN-PT/AK.Pp/PT/III/2024
Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488
🌐 <https://fk.umsu.ac.id> ✉ fk@umsu.ac.id 📱 [umsuMEDAN](#) 📺 [umsuMEDAN](#) 📺 [umsuMEDAN](#) 📺 [umsuMEDAN](#)

Nomor : 1355/II.3.AU/UMSU-08/F/2025
Lampiran : -
Perihal : Peminjaman Tempat Penelitian

Medan, 27 Safar 1447 H
21 Agustus 2025 M

Kepada Yth.
Kepala Bagian Lab Biokimia
Fakultas Kedokteran UMSU
di-
Tempat

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Schubungan dengan surat permohonan peminjaman tempat untuk melakukan penelitian pada Laboratorium di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, yaitu:

Nama : Nurul Aisyah
NPM : 2208260243
Judul Penelitian : Perbandingan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing
(*Orthosiphon aristatus*) Dengan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH
(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

maka kami memberikan izin kepada yang bersangkutan, untuk melakukan penelitian di Lab Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Selama proses pemakaian laboratorium, jika terdapat pemakaian alat yang rusak maka akan menjadi tanggungjawab peneliti dan pemakaian Bahan Habis Pakai (BHP) ditanggung oleh peneliti. Peneliti wajib mengikuti peraturan yang berlaku di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian kami ucapkan terima kasih.
Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh



dr. Siti Masfiana Siregar, Sp.THTBKL, Sub.sp .Rino(K)
NIDN: 0106098201

Tembusan Yth :
1. Ad hoc KTI Mahasiswa FK UMSU
2. Pertiinggal



Lampiran 3. Surat Hasil Identifikasi Tanaman



**LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)**

UNIVERSITAS SUMATERA UTARA

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail.nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 15 September 2025

No. : 1154/MEDA/2025
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada Yth.

Sdr/i : Nurul Aisyah
NIM : 2208260243
Instansi : Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : Orthosiphon
Spesies : *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.
Nama Lokal: Kumis Kucing

Demikian, semoga berguna bagi saudara.



Kepala Herbarium Medanense.

Prof. Dr. Eti Sartina Siregar, S.Si., M.Si.
NIP. 197211211998022001

Lampiran 4. Surat Keterangan Selesai Penelitian



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN**

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7353488
Website : www.umsu.ac.id E-mail : fk.umsu@yahoo.com
Bankir : Bank Syariah Mandiri, Bank Bukopin, Bank Mandiri, Bank BTH 1946, Bank Sumut

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN

Nomor : 04 / Lab.Biokimia FKIK-UMSU / Khusus / 12 / 2025

Nama : NURUL AISYAH
NPM : 2208260243
Program Studi : Pendidikan Dokter
Judul Proposal : Perbandingan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus) Dengan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
Jenis Kegiatan : Ekstraksi Herbal dan Uji Antioksidan

Menyatakan bahwa mahasiswa/i yang bersangkutan telah menyelesaikan penelitian di Laboratorium Biokimia FKIK UMSU pada tanggal 14 Oktober 2025 s/d 1 Desember 2025.

Medan, 8 Desember 2025
Kepala Bagian Lab Biokimia

dr. Isra Thristy, M.Biomed

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji

1. Pengenceran Seri Konsentrasi Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing

Diketahui:

$$M_1 = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL (stok)}$$

$$M_2 = 10, 20, 30, 40, 50 \text{ } \mu\text{g/mL (yang ingin dibuat)}$$

$$V_2 = 10 \text{ mL (total volume akhir)}$$

$$\text{Rumus} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

a. Konsentrasi 10 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL}}{1000 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,1 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 20 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL}}{1000 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,2 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 30 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 30 \text{ } \mu\text{g/mL}}{1000 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,3 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 40 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 40 \text{ } \mu\text{g/mL}}{1000 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,4 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 50 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 50 \text{ } \mu\text{g/mL}}{1000 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,5 \text{ mL}$$

(lanjutan)

2. Pengenceran Seri Konsentrasi Larutan Vitamin C

Diketahui:

$$M_1 = 200 \text{ } \mu\text{g/mL (stok)}$$

$$M_2 = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ } \mu\text{g/mL (yang akan dibuat)}$$

$$V_2 = 10 \text{ mL (total volume akhir)}$$

$$\text{Rumus} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

a. Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 3 \text{ } \mu\text{g/mL}}{200 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,05 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 2 \text{ } \mu\text{g/mL}}{200 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,1 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 3 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 3 \text{ } \mu\text{g/mL}}{200 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,15 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 4 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 4 \text{ } \mu\text{g/mL}}{200 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,2 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 5 ppm

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{10 \text{ mL} \times 5 \text{ } \mu\text{g/mL}}{200 \text{ } \mu\text{g/mL}} = 0,25 \text{ mL}$$

Lampiran 6. Perhitungan Persen Inhibisi Larutan Uji

1. Perhitungan Persen Inhibisi Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi (mg/L)		% inhibisi
		Ekstrak	Blanko	$\frac{(Abs_0 - Abs_{sampel})}{Abs_0 \times 100\%}$
10 ppm	1	0,092	0,122	$\frac{0,122 \times 0,092}{0,122 \times 100\%} = 24,590\%$
	2	0,103	0,122	$\frac{0,122 \times 0,103}{0,122 \times 100\%} = 15,573\%$
	3	0,087	0,122	$\frac{0,122 \times 0,087}{0,122 \times 100\%} = 28,688\%$
20 ppm	1	0,069	0,122	$\frac{0,122 \times 0,069}{0,122 \times 100\%} = 43,442\%$
	2	0,078	0,122	$\frac{0,122 \times 0,078}{0,122 \times 100\%} = 36,065\%$
	3	0,070	0,122	$\frac{0,122 \times 0,070}{0,122 \times 100\%} = 42,623\%$
30 ppm	1	0,057	0,122	$\frac{0,122 \times 0,057}{0,122 \times 100\%} = 53,278\%$
	2	0,070	0,122	$\frac{0,122 \times 0,070}{0,122 \times 100\%} = 42,623\%$
	3	0,061	0,122	$\frac{0,122 \times 0,061}{0,122 \times 100\%} = 50,00\%$
40 ppm	1	0,043	0,122	$\frac{0,122 \times 0,043}{0,122 \times 100\%} = 64,754 \%$
	2	0,045	0,122	$\frac{0,122 \times 0,045}{0,122 \times 100\%} = 63,114 \%$
	3	0,049	0,122	$\frac{0,122 \times 0,049}{0,122 \times 100\%} = 59,836 \%$
50 ppm	1	0,040	0,122	$\frac{0,122 \times 0,040}{0,122 \times 100\%} = 67,213 \%$
	2	0,037	0,122	$\frac{0,122 \times 0,037}{0,122 \times 100\%} = 69,672\%$
	3	0,038	0,122	$\frac{0,122 \times 0,038}{0,122 \times 100\%} = 68,852\%$

(lanjutan)

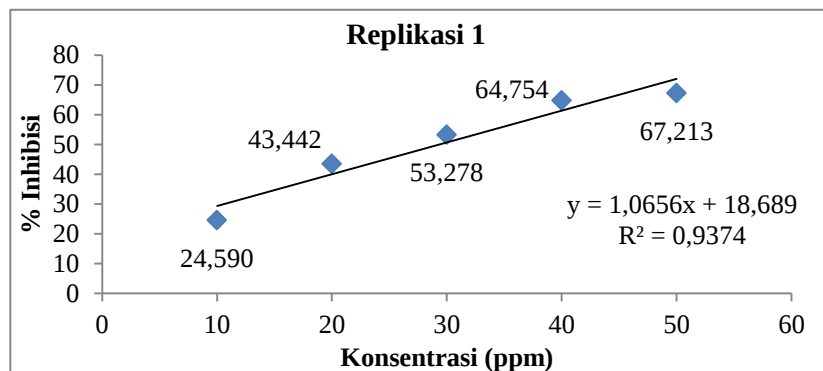
2. Perhitungan Persen Inhibisi Larutan Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi (mg/L)		% Inhibisi $\frac{(Abs_0 - Abs_{smpel})}{Abs_0} \times 100\%$
		Vitamin C	Blanko	
1 ppm	1	0,062	0,122	$\frac{0,122 \times 0,062}{0,122 \times 100\%} = 49,180\%$
	2	0,058	0,122	$\frac{0,122 \times 0,058}{0,122 \times 100\%} = 52,459\%$
	3	0,055	0,122	$\frac{0,122 \times 0,055}{0,122 \times 100\%} = 54,918\%$
2 ppm	1	0,057	0,122	$\frac{0,122 \times 0,057}{0,122 \times 100\%} = 53,278\%$
	2	0,057	0,122	$\frac{0,122 \times 0,057}{0,122 \times 100\%} = 53,278\%$
	3	0,047	0,122	$\frac{0,122 \times 0,047}{0,122 \times 100\%} = 61,475\%$
3 ppm	1	0,052	0,122	$\frac{0,122 \times 0,052}{0,122 \times 100\%} = 57,377\%$
	2	0,050	0,122	$\frac{0,122 \times 0,050}{0,122 \times 100\%} = 59,016\%$
	3	0,046	0,122	$\frac{0,122 \times 0,046}{0,122 \times 100\%} = 62,295\%$
4 ppm	1	0,040	0,122	$\frac{0,122 \times 0,040}{0,122 \times 100\%} = 67,213\%$
	2	0,043	0,122	$\frac{0,122 \times 0,043}{0,122 \times 100\%} = 64,754\%$
	3	0,030	0,122	$\frac{0,122 \times 0,030}{0,122 \times 100\%} = 75,409\%$
5 ppm	1	0,036	0,122	$\frac{0,122 \times 0,036}{0,122 \times 100\%} = 70,491\%$
	2	0,037	0,122	$\frac{0,122 \times 0,037}{0,122 \times 100\%} = 69,672\%$
	3	0,029	0,122	$\frac{0,122 \times 0,029}{0,122 \times 100\%} = 76,229\%$

Lampiran 7. Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC₅₀ Larutan Uji

1. Persamaan Regresi Linier Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing

a. Replikasi 1



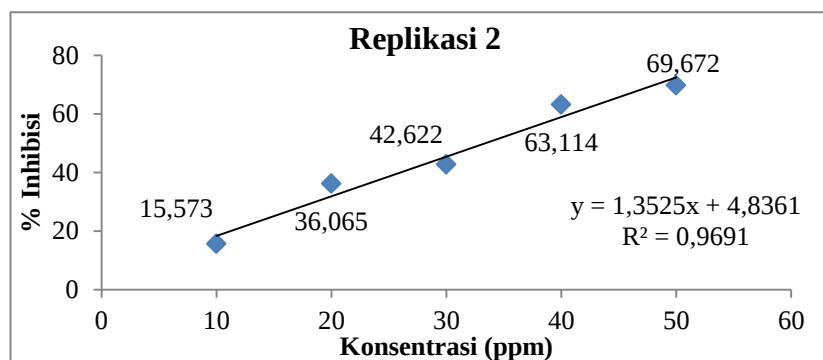
Perhitungan Nilai IC₅₀ Melalui Persamaan Regresi Linier

$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 18,689}{1,0656} = 29,38 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 2



Perhitungan Nilai IC₅₀ Melalui Persamaan Regresi Linier

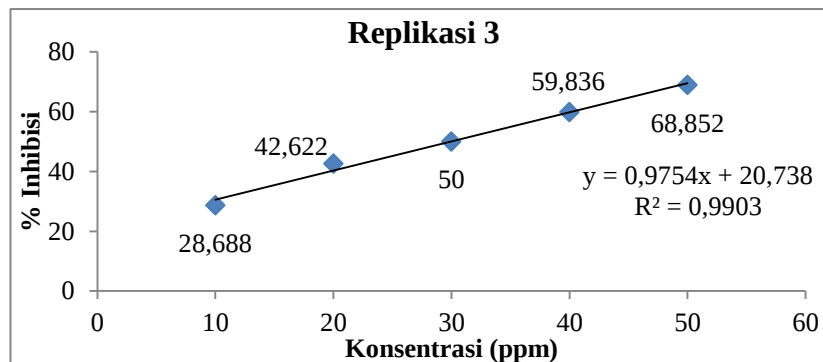
$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 4,8361}{1,3525} = 33,39 \text{ ppm}$$

(lanjutan)

c. Replikasi 3

Perhitungan Nilai IC_{50} Melalui Persamaan Regresi Linier

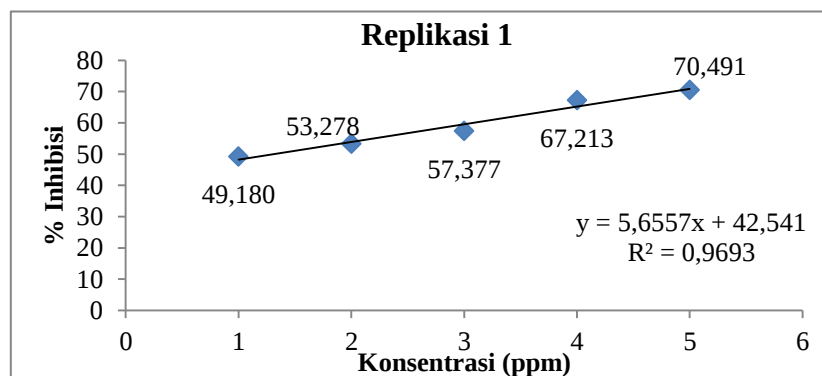
$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 20,738}{0,9754} = 30,36 \text{ ppm}$$

2. Persamaan Regresi Linier Larutan Vitamin C

a. Replikasi 1

Perhitungan Nilai IC_{50} Melalui Persamaan Regresi Linier

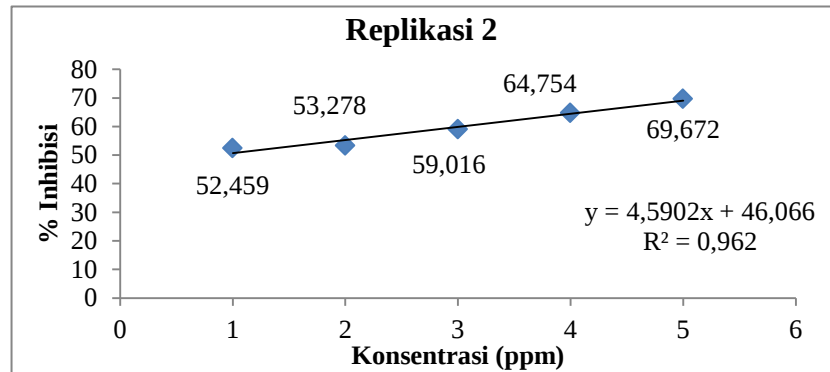
$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 42,541}{5,6557} = 1,31 \text{ ppm}$$

(lanjutan)

b. Replikasi 2

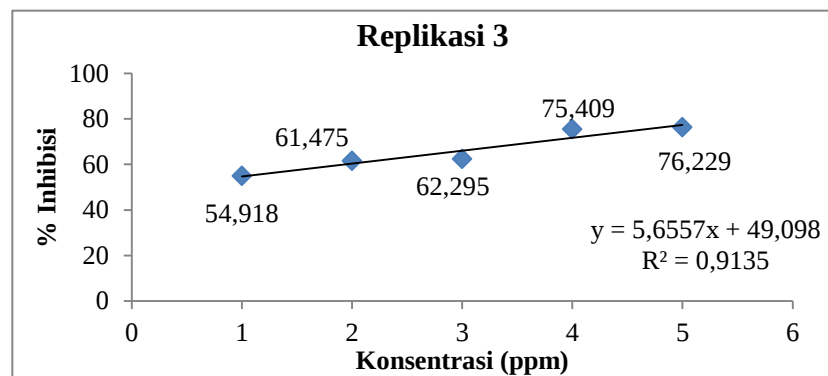
Perhitungan Nilai IC_{50} Melalui Persamaan Regresi Linier

$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 46,066}{4,5902} = 0,85 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 3

Perhitungan Nilai IC_{50} Melalui Persamaan Regresi Linier

$$y = ax + b$$

$$ax = y - b$$

$$x = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 49,098}{5,6557} = 0,15 \text{ ppm}$$

Lampiran 8. Analisis Data SPSS

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Vitamin C	.221	3	.	.986	3	.773
Ekstrak	.295	3	.	.920	3	.452

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Vitamin C & Ekstrak	Based on Mean	5.071	1	4	.087
	Based on Median	1.076	1	4	.358
	Based on Median and with adjusted df	1.076	1	2.211	.400
	Based on trimmed mean	4.602	1	4	.099

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Significance		Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
						One-Sided p	Two-Sided p			Lower	Upper
Vitamin C & Ekstrak	Equal variances assumed	5.071	.087	-24.157	4	<.001	<.001	-30.27333	1.25319	-33.75274	-26.79393
	Equal variances not assumed			-24.157	2.310	<.001	<.001	-30.27333	1.25319	-35.02733	-25.51934

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian



Daun kumis kucing 500 mg



Pencucian daun kumis kucing



Pengirisan daun menjadi ukuran kecil



Pengeringan daun menggunakan oven



Daun yang sudah kering



Daun yang sudah diblender kemudian diayak untuk mendapat simplisia halus



Maserasi ekstrak selama 3 hari



Penyaringan hasil maserasi

(lanjutan)



Penguapan pelarut menggunakan
rotary evaporator



Ekstrak hasil *rotary evaporator*



Pembuatan larutan induk DPPH, ekstrak, dan vitamin C



Pembuatan larutan uji dengan
berbagai seri konsentrasi



Pengukuran absorbansi menggunakan
spektrofotometer UV-Vis

(lanjutan)

Quantitative Test

No	Abs	Conc. (mg/L)
1	0.122	0.122
2	0.042	0.062
3	0.047	0.057
4	0.042	0.052
5	0.042	0.040
6	0.036	0.036
7	0.092	0.092
8	0.069	0.069
9	0.057	0.057
10	0.043	0.043

C = 1.000 * A¹ r = 1.000

Hasil Uv-Vis Replikasi 1

Quantitative Test

No	Abs	Conc. (mg/L)
1	0.038	0.058
2	0.037	0.057
3	0.040	0.050
4	0.033	0.043
5	0.037	0.037
6	0.103	0.103
7	0.078	0.078
8	0.037	0.070
9	0.045	0.045
10	0.070	0.037

C = 1.000 * A¹ r = 1.000

Hasil Uv-Vis Replikasi 2

Quantitative Test

No	Abs	Conc. (mg/L)
1	0.035	0.055
2	0.037	0.047
3	0.036	0.046
4	0.030	0.030
5	0.029	0.029
6	0.037	0.087
7	0.061	0.070
8	0.070	0.051
9	0.049	0.049
10	0.078	0.038

C = 1.000 * A¹ r = 1.000

Hasil Uv-Vis Replikasi 3

**PERBANDINGAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus*) DENGAN VITAMIN C MENGGUNAKAN
METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
Nurul Aisyah¹, Yenita^{2*}**

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Sumatera Utara

^{2*}Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah
Sumatera Utara

*Penulis korespondensi: yenita@umsu.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang dapat memicu stres oksidatif ketika produksinya melebihi kapasitas sistem pertahanan tubuh. Kondisi ini dapat merusak komponen seluler dan berperan dalam proses terjadinya berbagai penyakit degeneratif, seperti penuaan dini, kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular. Antioksidan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah atau memperlambat kerusakan oksidatif. Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dikenal sebagai tanaman herbal yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional dan mengandung senyawa bioaktif, termasuk flavonoid dan fenolik, yang memiliki aktivitas antioksidan. Namun, tingkat efektivitasnya perlu dibandingkan dengan antioksidan standar seperti vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing dengan vitamin C menggunakan metode DPPH. **Metode:** Penelitian dilakukan secara eksperimental dimulai dengan pembuatan ekstrak daun kumis kucing, larutan uji dengan konsentrasi 10–50 ppm untuk ekstrak dan 1–5 ppm untuk vitamin C, serta pengukuran absorbansi larutan uji pada panjang gelombang 517 nm sebanyak tiga replikasi. Nilai IC₅₀ diperoleh menggunakan analisis regresi linear, dan perbandingan antara kedua kelompok dilakukan dengan *Independent Sample t-test*. **Hasil:** Ekstrak daun kumis kucing memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 29,38 ppm; 33,39 ppm; dan 30,36 ppm. Vitamin C juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,31 ppm; 0,85 ppm; dan 0,15 ppm. Uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan antara kedua kelompok ($p < 0,001$). **Kesimpulan:** Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan ekstrak metanol daun kumis kucing.

Kata Kunci: Antioksidan, DPPH, IC₅₀, *Orthosiphon aristatus*, Vitamin C

ABSTRACT

Introduction: Free radicals are reactive molecules that induce oxidative stress when their production exceeds the body's antioxidant defense capacity, leading to cellular damage and the development of degenerative diseases such as premature aging, cancer, diabetes, and cardiovascular disorders. Antioxidants are required to neutralize free radicals and reduce oxidative damage. Cat's whiskers leaves (*Orthosiphon aristatus*) are widely used in traditional medicine and contain bioactive compounds, including flavonoids and phenolics, which possess antioxidant activity. However, their antioxidant effectiveness compared to standard antioxidants such as vitamin C remains unclear. This study aimed to compare the antioxidant activity of methanolic extract of cat's whiskers leaves with vitamin C using the DPPH method. **Methods:** This

experimental study prepared a methanolic extract of cat's whiskers leaves and test solutions at concentrations of 10–50 ppm for the extract and 1–5 ppm for vitamin C. Absorbance was measured at 517 nm using a UV–Vis spectrophotometer in triplicate. IC_{50} values were determined by linear regression analysis, and statistical comparison between groups was performed using an independent sample t-test. **Results:** The methanolic extract of cat's whiskers leaves exhibited very strong antioxidant activity, with IC_{50} values of 29.38 ppm, 33.39 ppm, and 30.36 ppm. Vitamin C showed stronger antioxidant activity, with IC_{50} values of 1.31 ppm, 0.85 ppm, and 0.15 ppm. A significant difference was observed between the two groups ($p < 0.001$). **Conclusion:** Vitamin C demonstrates significantly higher antioxidant activity than the methanolic extract of cat's whiskers leaves.

Keywords: Antioxidants, DPPH, IC_{50} , *Orthosiphon aristatus*, Vitamin C

PENDAHULUAN

Kesehatan manusia saat ini semakin terancam oleh berbagai faktor, termasuk paparan radikal bebas yang muncul akibat polusi, stres, dan pola makan yang tidak sehat.¹ Radikal bebas diperkirakan menyebabkan hingga 10.000 kali kerusakan pada satu sel setiap harinya.² Akumulasi radikal bebas dalam tubuh berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit tidak menular, seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, penyakit degeneratif, dan kanker.³

Pada tahun 2021, penyakit tidak menular (PTM) diperkirakan menjadi penyebab kematian pada 43 juta orang di seluruh dunia. Angka ini setara dengan tiga per empat atau sekitar 75% dari total kematian yang tidak berkaitan dengan pandemi. Lebih dari 18 juta dari kematian tersebut tergolong sebagai kematian dini, yaitu meninggal sebelum mencapai usia 70 tahun, dan hampir seluruhnya (sebanyak 82%) terjadi di negara-negara dengan pendapatan rendah hingga menengah.⁴

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga membuatnya tidak stabil dan sangat reaktif secara kimia dan dapat menyebabkan kerusakan pada komponen seluler, termasuk protein, lipid, dan DNA.⁵ Kondisi di mana terdapat radikal bebas tingkat tinggi yang tidak dapat diatasi akan menyebabkan stres oksidatif.⁶ Stres oksidatif merupakan suatu kondisi yang menunjukkan ketidakseimbangan antara pro-oksidan atau radikal bebas dan antioksidan yang

berfungsi menjaga kondisi agar tidak terjadi kerusakan jaringan. Kondisi patologis stres oksidatif dalam tubuh dapat memicu berbagai penyakit akut hingga kronis. Bukti epidemiologis menunjukkan adanya hubungan antara berkurangnya simpanan antioksidan dan peningkatan kerentanan terhadap berbagai penyakit, termasuk kanker, penyakit jantung, percepatan penuaan, dan penyakit neurodegeneratif.⁷ Oleh karena itu, pencarian senyawa antioksidan yang efektif menjadi sangat penting dalam usaha mencegah dan mengobati penyakit-penyakit ini.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dan mencegah kerusakan sel dengan mengikat radikal bebas. Secara alami, tubuh manusia memproduksi antioksidan enzimatis seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase untuk melawan radikal bebas. Namun, dalam situasi tertentu, produksi radikal bebas melebihi kapasitas pertahanan tubuh, sehingga memerlukan asupan antioksidan dari luar.⁵ Meskipun tersedia antioksidan dalam bentuk sintesis seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA), penggunaannya sering kali dibatasi karena dapat menimbulkan efek samping bersifat karsinogenik jika digunakan dalam dosis tinggi. Sebaliknya, antioksidan alami yang berasal dari tanaman obat lebih banyak diminati karena dianggap lebih aman dan memiliki potensi biologis yang kuat.⁸

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tanaman obat

yang sudah cukup familiar di masyarakat Indonesia, terutama sebagai antidiabetes, antiradang, dan diuretik.⁹ Meskipun lebih dikenal untuk pengobatan penyakit ginjal dan diabetes, analisis fitokimia menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain flavonoid, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, dan triterpenoid, yang diketahui berperan penting sebagai sumber antioksidan alami.¹⁰

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu teknik yang umum diterapkan dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena memiliki tingkat sensitivitas yang baik serta didukung oleh prosedur analisis yang sederhana dan efisien. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀, di mana nilai yang lebih kecil mencerminkan kemampuan antioksidan yang lebih kuat.¹¹ Penelitian terdahulu melaporkan bahwa uji aktivitas penangkap radikal bebas secara *in vitro* menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dipadukan dengan pereaksi DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak. Aktivitas tersebut ditunjukkan oleh munculnya perubahan warna bercak pada plat KLT menjadi kuning pucat, yang mengindikasikan terjadinya reduksi radikal bebas.¹² Penelitian lain menggunakan metode ABTS dan CUPRAC pada fenotipe putih menghasilkan aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 127,89 dan 87,67 µmol TE/g DW.¹⁰

Meski demikian, penelitian-penelitian sebelumnya terkait aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) masih terbatas, karena umumnya bersifat kualitatif atau semikuantitatif dan belum menggambarkan secara akurat kekuatan antioksidan masing-masing senyawa. Selain itu, tidak dilakukan perbandingan sistematis antara respons spektrofotometri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan standar antioksidan seperti vitamin C, yang merupakan kontrol positif yang sering digunakan dalam uji aktivitas antioksidan. Hal ini menyebabkan kurangnya validasi ilmiah terhadap potensi bioaktivitas ekstrak secara kuantitatif dan

memperkecil daya banding hasil penelitian dengan standar referensi yang telah terbukti efektif. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan analisis yang lebih mendalam dengan kombinasi uji aktivitas antioksidan berbasis spektrofotometri, analisis regresi linear, serta perbandingan langsung terhadap vitamin C sebagai pembanding baku.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Pengolahan Sampel

Sebanyak 500 g daun kumis kucing dicuci, lalu dikeringkan pada suhu 50°C, dan dihaluskan hingga diperoleh simplisia.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 150 gram simplisia dimaserasi selama 3 hari, kemudian disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak metanol kental.

Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

Sebanyak 25 mg DPPH dilarutkan dalam metanol hingga 25 mL (1000 µg/mL), kemudian 5 mL larutan stok diencerkan hingga 25 mL untuk memperoleh larutan DPPH 200 µg/mL.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C sebanyak 50 mg ditimbang, kemudian dilarutkan dan diencerkan hingga volumenya 50 mL (konsentrasi 1000 µg/mL).¹³

Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kumis Kucing

Sebanyak 25 mg DPPH dilarutkan dalam metanol hingga 25 mL (1000 µg/mL) kemudian 5 mL larutan stok diencerkan hingga 25 mL untuk memperoleh konsentrasi 200 µg/mL.

Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH konsentrasi 200 µg/mL diambil sebanyak 2 mL, lalu dimasukkan ke dalam *beaker glass*, dan ditambahkan metanol hingga volume 10 mL (konsentrasi 40 µg/mL).

Pengukuran Serapan Blanko

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 200 µg/mL diencerkan dengan metanol hingga volume 10 mL (40 µg/mL), kemudian diukur absorbansinya pada 400–800 nm untuk menentukan λ maksimum DPPH.

Pengukuran Absorbansi DPPH dan Vitamin C

Sebanyak 10 mL larutan stok vitamin C (1000 µg/mL) diencerkan dengan metanol hingga volume 50 mL untuk memperoleh konsentrasi 200 µg/mL. Larutan ini kemudian dipipet masing-masing 0,05 mL; 0,1 mL; 0,15 mL; 0,2 mL; dan 0,25 mL, diencerkan dengan metanol hingga 10 mL, lalu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 200 µg/mL sehingga diperoleh konsentrasi akhir vitamin C 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, dan 5 µg/mL. Setelah inkubasi selama 30 menit, absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan tiga kali replikasi.

Pengukuran Absorbansi DPPH dan Daun Kumis Kucing

Larutan ekstrak metanol 1000 µg/mL dipipet masing-masing 0,1 mL; 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; dan 0,5 mL, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 200 µg/mL dan metanol hingga volume akhir 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi uji 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, dan 50 µg/mL. Setelah inkubasi selama 30 menit, absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan tiga kali replikasi.

Analisis Data

Persentase inhibisi DPPH dihitung berdasarkan penurunan absorbansi DPPH setelah penambahan sampel dibandingkan dengan kontrol dengan rumus:¹⁴

%Inhibisi

$$= \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel (tanpa ekstrak atau vitamin C)

A_{Sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel (dengan ekstrak atau vitamin C)

Data inhibisi antioksidan dianalisis menggunakan persamaan regresi linier $Y = bX + a$. Setiap sampel diuji dalam tiga replikasi sehingga diperoleh tiga nilai IC_{50} pada masing-masing kelompok.

Data IC_{50} dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Uji Shapiro–Wilk digunakan untuk menilai normalitas data, diikuti uji homogenitas varians dengan Levene’s Test. Data yang berdistribusi normal dan homogen dianalisis menggunakan Independent Sample t-test, sedangkan data yang tidak berdistribusi normal dianalisis dengan uji Mann–Whitney U. Seluruh pengujian dilakukan pada tingkat signifikansi $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Determinasi tanaman kumis kucing dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar yaitu spesies *Orthosiphon aristatus*.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Daun Kumis Kucing

Metode ekstraksi	Berat serbuk yang diekstraksi	Berat ekstrak hasil ekstraksi	Nilai rendemen (%)
Maserasi	150 g	21,6 g	14,4%

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing dan vitamin c menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan perubahan warna larutan DPPH setelah inkubasi. Setelah uji kualitatif, dilakukan

pengukuran kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 517 nm dengan tiga replikasi, kemudian nilai absorbansi digunakan untuk menghitung persen inhibisi dan penentuan nilai IC_{50} .

Tabel 2. Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Ekstrak Daun Kumis Kucing

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (mg/L)					% Inhibisi				
	Blanko	R1	R2	R3	Rata-rata	R1	R2	R3	Rata-rata	

10	0,122	0,092	0,103	0,087	0,094	24,590	15,573	28,688	22,950
20	0,122	0,069	0,078	0,070	0,072	43,442	36,065	42,623	40,71
30	0,122	0,057	0,070	0,061	0,062	53,278	42,623	50	48,633
40	0,122	0,043	0,045	0,049	0,045	64,754	63,114	59,836	62,568
50	0,122	0,040	0,037	0,038	0,038	67,213	69,672	68,852	68,579

Tabel 3. Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Vitamin C

Konsentra si (ppm)	Absorbansi (mg/L)					% Inhibisi			
	Blanko	R1	R2	R3	Rata- rata	R1	R2	R3	Rata- rata
1	0,122	0,062	0,058	0,055	0,058	49,180	52,459	54,918	52,185
2	0,122	0,057	0,057	0,047	0,053	53,278	53,278	61,475	56,010
3	0,122	0,052	0,050	0,046	0,049	57,377	59,016	62,295	59,562
4	0,122	0,040	0,043	0,030	0,037	67,213	64,754	75,409	69,125
5	0,122	0,036	0,037	0,029	0,034	70,491	69,672	76,229	72,130

Berdasarkan data pada Tabel 2 dan Tabel 3, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi sampel, baik ekstrak daun kumis kucing maupun vitamin C sebagai kontrol positif, menyebabkan penurunan nilai absorbansi yang diikuti oleh peningkatan persentase inhibisi radikal bebas DPPH.

Hubungan linier antara konsentrasi dan persentase inhibisi terlihat dari persamaan regresi yang diperoleh, yang selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan sebagai konsentrasi yang mampu menghasilkan inhibisi sebesar 50%, sebagaimana disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC_{50} Larutan Uji

Replikasi	Ekstrak Daun Kumis Kucing		Vitamin C	
	Persamaan Regresi Linier	IC_{50} (ppm)	Persamaan Regresi Linier	IC_{50} (ppm)
Replikasi 1	$y = 1,0656x + 18,689$ $R^2 = 0,9374$	29,38	$y = 5,6557x + 42,541$ $R^2 = 0,9693$	1,31
Replikasi 2	$y = 1,3525x + 4,8361$ $R^2 = 0,9691$	33,39	$y = 4,5902x + 46,066$ $R^2 = 0,962$	0,85
Replikasi 3	$y = 0,9754x + 20,738$ $R^2 = 0,9903$	30,36	$y = 5,6557x + 49,098$ $R^2 = 0,9135$	0,15

Tabel 4 menunjukkan perbandingan nilai IC_{50} antara sampel ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C sebagai kontrol positif dalam uji antioksidan.

Perbandingan statistik dua kelompok dianalisis menggunakan uji *Independent Sample t-test*. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data IC_{50} pada kelompok ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C berdistribusi normal. Uji *Shapiro-Wilk*

menunjukkan nilai signifikansi 0,452 untuk ekstrak dan 0,773 untuk vitamin C. Kedua nilai $> 0,05$ sehingga data berdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas dengan *Levene's Test* yang menghasilkan nilai $p = 0,087$ ($p > 0,05$), sehingga varians kedua kelompok dinyatakan homogen. Analisis dilanjutkan dengan *Equal variances assumed* pada uji *Independent Sample t-test*.

Tabel 5. Hasil uji *Independent Sample t-test*

<i>Variable</i>	<i>Sig.</i>	<i>Mean Difference</i>
Ekstrak Daun Kumis Kucing dan Vitamin C	<0,001	-30,27333

Hasil uji *Independent Sample t-test* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,001$ dengan nilai selisih rerata (*mean difference*) sebesar -30,27.

Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan metode DPPH memperlihatkan terjadinya perubahan warna pada larutan vitamin C dan ekstrak daun kumis kucing setelah penambahan reagen DPPH. Gambar 4.1 menunjukkan larutan DPPH yang pada awalnya berwarna ungu mengalami pemudaran warna hingga menjadi kuning pucat, yang menandakan adanya reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan dalam sampel. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH telah mengalami proses reduksi akibat penerimaan elektron atau atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa antioksidan. Proses ini mengakibatkan terbentuknya senyawa DPPH dalam bentuk tereduksi (DPPH-H) yang bersifat lebih stabil dan tidak lagi bersifat radikal.¹⁵

Berdasarkan hasil uji kuantitatif, peningkatan konsentrasi sampel uji menyebabkan terjadinya penurunan nilai absorbansi yang secara konsisten diikuti oleh peningkatan persentase inhibisi radikal bebas. Data yang disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3 menunjukkan adanya hubungan yang searah antara konsentrasi ekstrak daun kumis kucing dan vitamin c dengan kemampuan penghambatan radikal bebas, dimana semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, semakin besar aktivitas antioksidan yang ditunjukkan. Pada konsentrasi 30 ppm, ekstrak daun kumis kucing menghasilkan persen inhibisi rata-rata sebesar 48,63%, yang mendekati nilai inhibisi 50%. Nilai ini menunjukkan bahwa pada

konsentrasi tersebut, ekstrak daun kumis kucing telah menunjukkan kemampuan antioksidan yang kuat. Sebagai pembanding, vitamin C mencapai persen inhibisi sebesar 52,19% pada konsentrasi 1 ppm. Meskipun vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dan bekerja efektif pada konsentrasi yang jauh lebih rendah, ekstrak daun kumis kucing pada konsentrasi 30 ppm mampu memberikan aktivitas antioksidan yang mendekati vitamin C pada konsentrasi 1 ppm.

Aktivitas ekstrak daun kumis kucing ini didukung oleh keberadaan senyawa bioaktif yang telah diidentifikasi pada penelitian sebelumnya, seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, sinensetin, eupatorin, *orthosiphol*, dan *rosmarinic acid*, yang diketahui berperan dalam mekanisme penangkapan radikal bebas.^{16,17} Hal ini diperkuat oleh penelitian-penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron ataupun transfer atom hidrogen.^{18,19}

Senyawa bioaktif dalam ekstrak daun kumis kucing, terutama fenolik dan flavonoid seperti *rosmarinic acid*, sinensetin, dan eupatorin, memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas melalui dua mekanisme utama: transfer elektron (*electron transfer*) dan transfer atom hidrogen (*hydrogen atom transfer*). Dalam mekanisme transfer elektron, antioksidan mentransfer satu elektron ke radikal bebas, sehingga radikal menjadi kurang reaktif. Sedangkan dalam transfer atom hidrogen (HAT), antioksidan menyumbangkan atom hidrogen yang terdiri dari proton dan elektron ke radikal bebas, menghasilkan molekul radikal antioksidan yang baru namun lebih stabil. Kedua mekanisme ini sering terjadi bersamaan dalam banyak senyawa fenolik alami.²⁰

Pada larutan vitamin C sebagai kontrol positif memberikan respon yang konsisten dan

linear terhadap peningkatan konsentrasi. Pada kisaran konsentrasi 1–5 ppm, absorbansi larutan menurun dari 0,058 hingga 0,034, yang kemudian diikuti dengan peningkatan persen inhibisi dari sekitar 52% menjadi lebih dari 72%. Penurunan absorbansi ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi vitamin C, semakin banyak radikal bebas yang berhasil dinetralkan. Hal ini sesuai dengan teori bahwa vitamin C merupakan antioksidan kuat yang bekerja dengan mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas, sehingga menyebabkan absorbansi larutan DPPH menurun secara signifikan.²¹ Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa vitamin C secara konsisten menghasilkan nilai inhibisi tinggi pada konsentrasi rendah, menjadikannya standar dalam pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai senyawa bioaktif.²²

Meskipun efektivitas ekstrak daun kumis kucing masih lebih rendah dibandingkan vitamin C, aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak daun kumis kucing tetap menunjukkan potensi bioaktivitas yang kuat dan konsisten. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa bioaktif di dalam ekstrak mampu berinteraksi secara efektif dengan radikal bebas dan menurunkan tingkat reaktivitasnya, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing berada pada kisaran 29,38; 33,39; dan 30,36 ppm, juga menunjukkan potensi antioksidan kategori sangat kuat. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak, efektif dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal DPPH, sehingga menghambat terjadinya reaksi oksidatif berantai.²³ Perbedaan nilai IC_{50} antar replikasi dapat disebabkan oleh variasi konsentrasi senyawa bioaktif, kestabilan radikal selama uji, serta kondisi fisik-kimia ekstrak, namun secara keseluruhan tetap menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat.²⁴ Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan daun kumis kucing sebagai sumber antioksidan

potensial dengan kemampuan scavenging radikal yang baik.²⁵

Sebaliknya, diperoleh nilai IC_{50} vitamin C sebesar 1,31; 0,85; dan 0,15 ppm, yang menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} yang rendah menandakan bahwa hanya diperlukan konsentrasi kecil untuk mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH.¹⁵ Temuan ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa vitamin C merupakan antioksidan standar dengan potensi sangat kuat karena sifatnya sebagai donor elektron dan hidrogen yang efisien.²⁰ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam askorbat memiliki nilai IC_{50} sangat rendah yaitu 1,238 ppm sehingga dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat dan digunakan sebagai kontrol positif dalam uji DPPH.²⁶

Hasil pengujian *Independent Sample t-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C, ditunjukkan dengan $p < 0,001$. Nilai *mean difference* sebesar -30,27 mengindikasikan bahwa nilai IC_{50} vitamin C lebih rendah dibandingkan ekstrak daun kumis kucing, sehingga aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun kumis kucing. Artinya, ekstrak membutuhkan konsentrasi yang lebih besar untuk menurunkan 50% radikal bebas DPPH, sehingga aktivitas antioksidannya jauh lebih rendah. Hal ini juga diperkuat oleh hasil interval kepercayaan 95% (CI 95%) yang tidak melintasi angka nol, menunjukkan bahwa perbedaan antara kedua kelompok bersifat signifikan secara statistik.

SIMPULAN

Ekstrak daun kumis kucing memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat berdasarkan nilai IC_{50} , meskipun masih lebih rendah dibandingkan vitamin C, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

Hasil uji *Independent Sample t-test* menunjukkan adanya perbedaan yang sangat

signifikan antara nilai IC₅₀ ekstrak daun kumis kucing dan vitamin C ($p < 0,001$).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis kandungan fitokimia ekstrak daun kumis kucing, misalnya menggunakan GC-MS atau LC-MS, untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas biologis lain, misalnya antibakteri atau antiinflamasi, untuk melihat potensi penggunaan ekstrak secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*. 2022; 2(2): 48-78.
2. Pruteanu LL, Bailey DS, Grădinaru AC, Jäntschi L. The Biochemistry and Effectiveness of Antioxidants in Food, Fruits, and Marine Algae. *Antioxidants*. 2023; 12(4).
3. Chandimali N, Bak SG, Park EH, Lim HJ, Won YS, Kim EK, et al. Free Radicals and Their Impact on Health and Antioxidant Defenses: A Review. *Cell Death Discov*. 2025; 11(1).
4. Messages K. Non-Communicable Diseases Watch Bur den of Non- communicable Diseases : An Update Bur den of Non-communicable Diseases : An Update. 2024; 4.
5. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Razis AFA, Modus B, et al. Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidants: Potential Crosstalk in The Pathophysiology of Human Diseases. *Front Chem*. 2023; 11(May): 1-24.
6. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11(July): 1-21.
7. Norazizah S, Wibisono N, Wahyuningsih D. Systematic Literature Review : Pomegrante Improves Nitric Oxide Level in Oxidative Stress. *Proseding Konferensi Nasional Life Science dan Teknologi*. Published online 2020.
8. Jamshidi-Kia F, Wibowo JP, Elachouri M, Masumi R, Salehifard-Jouneghani A, Abolhassanzadeh Z, et al. Battle Between Plants as Antioxidants With Free Radicals in Human Body. *Journal of Herbmmed Pharmacology Battle*. 2020; 9(3): 191-199.
9. Rafi M, W NS, Wahyuni WT, Arif Z, Heryanto R. Autentikasi Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Menggunakan Kombinasi Spektrum Ultraviolet-Tampak dan *Partial Least Square Regression*. *Indones J Cheometrics Pharm Anal*. 2021; 1(2): 93-101.
10. Nurcholis W, Mahendra FR, Gultom MF, Khoirunnisa S, Kurnia MAC, Harahap HH. Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Screening of *Orthosiphon stamineus* Leaf Extract Two Phenotypes. *J Jamu Indones*. 2022; 7(3): 121-129.
11. Prasetyo DA. Uji Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometri Uv-Vis Dengan Metode DPPH Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *J Wiyata Penelit Sains dan Kesehat*. 2023; 10(1): 46.
12. Novita W D, Amalia Falyani S. Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *J Kesehat Islam Islam Heal J*. 2021; 10(2): 53.
13. Omer GA, Mohammed LY. Total Phenolic, Flavonoids and Vitamin C Contents with Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. Leaves Growing in Zakho, Kurdistan. *Baghdad Science Journal*. 2024; 21(5): 1592-1608.
14. Kusumanti Y, Ilmawati EM, Hasibuan UFH. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode DPPH (2,2 Diiphenyl 1-1 Pickrylhydrazyl). *J Pharm Sci*. 2023; 6(4): 1658-1664.

15. G Gulcin İ, Alwasel SH. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*. 2023; 11(8).
16. Faramayuda F, Riyanti S, Syam AK. Standardization of Orthosiphon Aristatus, Blume Miq. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2022; 14(5): 72-79.
17. Arianti V, Fikriyan F, Lakoan MR, Binawan U. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kumis Kucing Antibakteri Terhadap Propionibacterium Acnes Dengan Menggunakan Dua Pelarut. 2024; 4(4): 315-323.
18. Ramadhani NP, Murti YB, Gani AP. Profiling Rosmarinic Acid and Sinensetin Content of Orthosiphon aristatus from Three Different Locations with Variety Ethanol Concentration. *Journal of Food and Pharmateutical Sciences*. 2024; 12(2): 116-124.
19. Arif Z, Zalukhu A, Karomah AH, Rafi M. Kapasitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Ekstrak Air dan Etanol Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus). 2022; 7(3): 93-101.
20. Charlton NC, Mastyugin M, Török B, Török M. Structural Features of Small Molecule Antioxidants and Strategic Modifications to Improve Potential Bioactivity. *Molecules*. 2023; 28: 1057.
21. Anu OS, Ahmed S, Islam T, Shah VK, Ahmed MI, Rahman MA. Comparative Investigation of Free Radical Scavenging and Cyclic Voltammetric Analyses to Evaluate The Antioxidant Potential of Selective Green Vegetables Extracts. *Scientific Reports*. 2025: 1-11.
22. Habib R, Rahman M, Mannan A, Zulfiker AH, Uddin ME, Sayeed MA. Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic, Antibacterial Potential and Phytochemical Screening of Chloroform Extract of Phyllanthus Acidus. 2021; 2:(1).
23. Firnanda EE, Atila HD, Hamid N, Susilo F, Ramadhan NI. Review : Bioaktivitas dari Tanaman Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus). 2023; 6(2): 19-31.
24. Brummelhaus B, Menezes D, Mironuk L, Duarte R, Antonio M, Barcellos M. Analytica Chimica Acta A critical examination of the DPPH method : Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV e Vis spectroscopy. *Anal Chim Acta*. 2021; 1157: 338398.
25. Novita D, Falyani SA. Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2021; 10(2): 53.
26. Ahyani IN, Mahbub F, Kanalung ATP, Kusumaningtyas FA. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat dengan Metode DPPH dan FRAP. *Farmaseutik*. 2025; 21(2): 213-220.