

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) pada Variasi Pelarut Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

*Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Test of Puring Leaf Extract (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) in Various Solvents Using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) Method*

Putu Sanitha Jayanti^{1*}, Dewi Puspita Apsari², I Putu Gede Adi Purwa Hita³, I Gusti Ngurah Agung Dharma Randika Putra⁴

¹Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Jalan P.B. Sudirman, Dangin Puri Klod, Kec. Denpasar Bar., Kota Denpasar, Bali 80234, Indonesia. jayantisnitha@gmail.com

^{2,3}Program Studi Farmasi Klinis, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Bali Internasional, Jalan Seroja, Gang Jeruk, Tonja, Kec. Denpasar Utara, Kota Denpasar, Bali 80234, Indonesia. dewipuspitaapsari@gmail.com

⁴Seksi Kedokteran Kesehatan, FKTP Bhayangkara Polres Gianyar, Jalan Ngurah Rai No. 6, Gianyar, Bali 80511, Indonesia. dharmarp12@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang: Radikal bebas adalah molekul atau senyawa tunggal yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh, menyerang sel-sel sehat, dan memicu gangguan degeneratif. Zat antioksidan dapat mengurangi efek buruk tersebut. Antioksidan adalah zat yang menghambat oksidasi molekul dan dapat menetralkan radikal bebas, bahkan dalam jumlah minimal. Salah satu tanaman di Indonesia yang memiliki potensi antioksidan adalah daun kroton (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.). **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) menggunakan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana. **Metode:** Aktivitas antioksidan dinilai dengan teknik DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang puncak 516,5 nm. **Hasil:** Ekstrak etil asetat dari daun croton menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,31 ppm, sedangkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol 96% dan n-heksana masing-masing adalah 13,55 ppm dan 13,16 ppm. **Kesimpulan:** Hasil penelitian menyimpulkan bahwa ekstrak daun puring dengan pelarut etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat secara in vitro, sebagaimana ditentukan dengan metode DPPH, mendekati efektivitas kontrol positif, vitamin C, sehingga menunjukkan potensi penangkapan radikal bebas yang substansial dibandingkan dengan etanol 96% dan n-heksana.

Kata kunci: *Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.; DPPH; Antioksidan.

Abstract

Background: Free radicals are molecules or compounds that exist independently and possess one or more unpaired electrons. Free radicals may infiltrate the body and damage healthy cells, leading to degenerative disorders. The detrimental effects they induce can be mitigated using antioxidant substances. Antioxidants are substances that inhibit the oxidation of molecules and can neutralize free radicals, even in minimal quantities. The croton leaf (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) is a plant in Indonesia with putative antioxidant properties. **Purpose:** To ascertain the composition of secondary metabolite chemicals and the antioxidant activity present in croton leaf extract (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) using 96% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane solvents. **Methods:** The antioxidant activity was assessed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) technique and quantified via UV-Vis spectrophotometry at a peak wavelength of 516.5 nm. **Results:** The ethyl acetate extract of croton leaves exhibited the highest antioxidant activity, with an IC₅₀ of 11.31 ppm, whereas the IC₅₀ values for the 96% ethanol and n-hexane extracts were 13.55 ppm and 13.16 ppm, respectively. **Conclusion:** This study's results indicate that croton leaf extract, derived with ethyl acetate as the solvent, displays significant in vitro antioxidant activity as proven by the DPPH assay, with IC₅₀ values close to those of the positive control, vitamin C, highlighting its remarkable free radical scavenging capability relative to extracts obtained with 96% ethanol and n-hexane.

Keywords: *Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.; DPPH; Antioxidant

*Corresponding author: Putu Sanitha Jayanti, Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Indonesia

E-mail : jayantisnitha@gmail.com

Doi : 10.35451/w0x19h76

Received : January 5, 2026, Accepted: April 15, 2026, Published: April 30, 2026

Copyright: © 2026 Putu Sanitha Jayanti (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang ada secara independen dan memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan [1]. Konsentrasi radikal bebas dalam tubuh manusia saat ini sangat berbeda dari zaman dahulu. Hal ini disebabkan oleh kemajuan teknologi dan sains di zaman modern, yang mengakibatkan perubahan gaya hidup yang berdampak buruk pada kesehatan [2]. Selain itu, paparan radiasi dari barang elektronik seperti televisi, telepon seluler, dan komputer sangat dekat dengan kehidupan sehari-hari, menyebabkan tubuh terus-menerus terpapar radikal bebas [3]. Paparan radikal bebas yang berkepanjangan, jika tidak ditangani, dapat mengakibatkan kondisi seperti kanker, penuaan dini, dan banyak gangguan degeneratif. Antioksidan sangat penting untuk menetralkan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas [4].

Antioksidan adalah zat yang dapat menghambat oksidasi suatu zat kimia dan menetralkan radikal bebas, bahkan dalam jumlah minimal [5]. Antioksidan dapat dikategorikan menjadi dua jenis: antioksidan alami dan antioksidan sintetis (buatan), berdasarkan sumbernya [6]. Menurut [7], penggunaan antioksidan sintesis yang umum digunakan adalah *Butylated Hydroxyl Toluene (BHT)*, *Butylated Hydroxyl Anisole (BHA)*, *Butylated Hydroxyl Quinone (BHQ)* dan *Propylgallate (PG)*. Penggunaan antioksidan sintetis semakin dibatasi karena penelitian menunjukkan bahwa “senyawa seperti *Butylated Hydroxyl Toluene (BHT)* mungkin berbahaya dan bersifat karsinogenik [8]. Hal ini telah menginspirasi beberapa penelitian untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman dari sumber alami. Metabolit sekunder antioksidan meliputi alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid, dan terpenoid [9]. Indonesia memiliki beragam flora yang berfungsi sebagai sumber antioksidan alami [10].

Keanekaragaman flora Indonesia yang berfungsi sebagai sumber antioksidan alami mencakup tanaman croton, yang juga disebut sebagai croton (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph*) [11]. Puring termasuk ke dalam daftar tanaman obat dan tanaman untuk upacara adat umat hindu di Bali [12]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh [11] dan [13], Ekstrak etanol 96% dari daun croton terbukti mengandung banyak metabolit sekunder, termasuk flavonoid, fenolik, terpenoid, tanin, dan steroid. Ekstrak daun croton menunjukkan aktivitas antioksidan pada konsentrasi penghambatan (IC50) sebesar 245,94 mg/L. Teknik ekstraksi maserasi digunakan untuk mendapatkan ekstrak daun puring [11].

Berdasarkan penelitian sebelumnya, metode remaserasi dilaporkan mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari bahan alam dibandingkan dengan metode maserasi tunggal. Metode ini memungkinkan kontak yang lebih optimal antara pelarut dan bahan tanaman sehingga senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan fenolik dapat terekstraksi lebih maksimal serta menghasilkan rendemen dan aktivitas biologis yang lebih baik [15]. Penelitian lain juga melaporkan bahwa penggunaan variasi pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dapat memengaruhi jumlah dan jenis metabolit sekunder yang diperoleh dari suatu tanaman [15]. Kemudian beberapa penelitian fitokimia, metabolit sekunder pada tanaman memiliki karakteristik kepolaran yang berbeda sehingga memengaruhi kelarutannya dalam pelarut tertentu. Alkaloid umumnya dilaporkan bersifat semi-polar, sedangkan flavonoid dan tanin cenderung bersifat lebih polar karena keberadaan gugus hidroksil dalam strukturnya [15][16]. Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa senyawa seperti saponin dan terpenoid memiliki karakteristik kepolaran yang bervariasi karena tersusun atas komponen polar dan non-polar dalam struktur molekulnya [17][18]. Perbedaan karakteristik kepolaran tersebut menyebabkan pemilihan jenis pelarut menjadi faktor penting dalam proses ekstraksi untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder secara optimal.

Tiga kategori pelarut digunakan untuk mengekstrak bahan kimia aktif dari tumbuhan: pelarut polar, semi-polar, dan non-polar [19]. Etanol, metanol, aseton, dan air adalah pelarut polar yang mampu melarutkan zat polar [20]. N-heksana adalah pelarut non-polar yang dapat melarutkan zat non-polar. Etil asetat adalah pelarut semi-polar yang hanya dapat melarutkan zat semi-polar [21]. Menurut penelitian Simorangkir et al. (2019), pelarut yang digunakan untuk melarutkan senyawa metabolit sekunder meliputi etanol (polar), etil asetat (semi-polar), dan n-heksana (non-polar). Oleh karena itu, penting untuk melakukan penelitian untuk mengidentifikasi kategori senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun croton (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) dengan menggunakan variasi pelarut polar, semi-polar, dan non-polar.

Beberapa penelitian menunjukkan, metode yang umum digunakan untuk mengukur aktivitas peredaman radikal bebas antara lain metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), dan ABTS (2,2'-Azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid] diammonium salt) [23]. Di antara metode tersebut, metode DPPH banyak digunakan karena memiliki radikal bebas yang stabil serta prosedur analisis yang relatif sederhana, cepat, dan ekonomis [24]. Metode DPPH bekerja berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron kepada radikal bebas DPPH sehingga terjadi perubahan dari bentuk radikal menjadi bentuk non-radikal yang lebih stabil [23]. Reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat yang dapat diukur secara spektrofotometri. Aktivitas antioksidan umumnya dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50). Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi senyawa antioksidan yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH, sehingga semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel [25].

Berdasarkan informasi yang diberikan di atas, perlu dilakukan penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan senyawa kimia dalam daun purin (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) menggunakan berbagai pelarut. Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan teknik DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

2. METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*), etanol 96% (Indo Acidatama) sebagai pelarut, etil asetat (Indo Acidatama), n-heksana (Indo Acidatama), serbuk DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (TCI), akuades, asam klorida (HCl) pekat (Merck), serbuk magnesium (Mg) (Merck), larutan FeCl₃ 1% (Merck), metanol (Merck), etanol pro analysis (PA) (Merck), pereaksi Mayer, asam sulfat (H₂SO₄) (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), serta vitamin C (IPI).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pisau multifunctional vegetable cutter, grinder, ayakan 60 mesh (Retsch), timbangan digital (ACIS AD-2100H), rotary evaporator (Heidolph), toples, corong kaca (Pyrex), gelas beker (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet volume (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), sendok tanduk, labu ukur (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), batang pengaduk, kertas perkamen, kertas saring, aluminium foil, oven (Maksindo), cawan porselen, mortir dan stamper, kuvet, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), desikator (Normax), inkubator (Memmert), serta plastik wrap.

Prosedur

Pembuatan dan pengujian daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) diawali dengan pembuatan simplisia dari daun segar yang disortasi, dicuci, dirajang, dikeringkan melalui penganginan dan oven bersuhu ±50°C, kemudian dihaluskan dan diayak hingga diperoleh serbuk simplisia, yang selanjutnya dievaluasi melalui uji organoleptik, persentase rendemen, dan susut pengeringan. Simplisia kering diekstraksi dengan proses maserasi menggunakan tiga pelarut (etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana) selama dua tahap perendaman, diikuti dengan penguapan maserat dengan evaporator putar hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut dinilai menggunakan pengujian organoleptik, pengukuran rendemen, analisis kadar air, penentuan kadar abu total, dan evaluasi kadar abu tidak larut asam. Selain itu, dilakukan skrining fitokimia untuk memastikan keberadaan metabolit sekunder termasuk flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid. Aktivitas antioksidan ekstrak dievaluasi menggunakan metode DPPH, yang melibatkan pengukuran penurunan absorbansi larutan DPPH melalui spektrofotometri UV-Vis pada berbagai konsentrasi ekstrak. Selanjutnya, persentase penangkapan radikal bebas dan nilai IC₅₀ dihitung melalui analisis regresi linier untuk memastikan aktivitas antioksidan ekstrak daun puring.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menyajikan hasil skrining fitokimia dalam bentuk tabel dan deskripsi. Aktivitas antioksidan ditentukan melalui nilai IC₅₀ yang diperoleh dari regresi linier antara persentase inhibisi (y) dan konsentrasi sampel (x) dengan persamaan $y = bx + a$, menggunakan Microsoft Excel 2016. Data disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi dari tiga replikasi. Perbedaan aktivitas antioksidan antar variasi pelarut dianalisis

menggunakan uji ANOVA satu arah pada tingkat signifikansi $P < 0,05$ setelah uji normalitas *Shapiro–Wilk* dan homogenitas *Levene*. Jika terdapat perbedaan signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* BNJ (Tukey HSD). Apabila asumsi tidak terpenuhi, digunakan uji nonparametrik *Kruskal–Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney*.

3. HASIL

Hasil Determinasi Tanaman Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Determinasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bedugul, Bali. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar tanaman puring yang digunakan merupakan spesies *Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.* sehingga sesuai dengan klasifikasi tanaman yang diinginkan. Adapun sinonim dari tanaman puring yaitu sebagai berikut *Codiaeum albicans* G.Nicholson, *Codiaeum angustifolium* G.Nicholson, *Codiaeum burtonii* G.Nicholson, *Codiaeum chelsonii* G.Nicholson, *Codiaeum chrysophyllum* G.Nicholson, *Codiaeum chrysosticton* Rumph. ex Spreng., *Codiaeum cooperi* G.Nicholson, *Codiaeum crispum* Rumph. ex Müll.Arg., *Codiaeum cuneifolium* Zipp. ex Span., *Codiaeum dodgona* G.Nicholson.

Hasil Simplisia Daun Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Penelitian ini menggunakan daun dari tanaman croton (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*), yang diperoleh di Desa Buruan, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali. Daun puring yang dikumpulkan disaring dengan cermat untuk memisahkan spesimen yang tidak sesuai atau busuk, menghasilkan total berat 23,9 kg daun puring segar. Daun dibilas, ditiriskan secara menyeluruh, dan kemudian diparut untuk mempercepat proses pengeringan. Daun puring dikeringkan di udara sebelum dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah dipanaskan dalam oven, dilakukan prosedur penyortiran pengeringan untuk menghilangkan kontaminan sisa dalam simplisia. Daun puring yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan lebih lanjut dengan penggilingan dan disaring melalui saringan 60 mesh, menghasilkan simplisia sebanyak 4,7 kg.

Hasil Evaluasi Simplisia Daun Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Penelitian ini mengevaluasi simplisia daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) melalui penilaian organoleptik, analisis persentase hasil, dan uji penentuan kehilangan kering. Hasil penilaian organoleptik simplisia daun puring disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik Simplisia Daun Puring

Pengamatan Organoleptik	Hasil Pemeriksaan
Bentuk	Daun kering
Aroma	Khas daun puring
Rasa	Pahit
Warna	Hijau, kuning kecoklatan

Selanjutnya, persentase hasil simplisia daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) adalah 19,67%, dihitung dengan membandingkan berat bahan kering 4,7 kg dengan berat basah 23,9 kg. Sementara itu, Tabel 2 menunjukkan hasil uji penyusutan pengeringan untuk simplisia daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*).

Tabel 2. Hasil Uji Susut Pengeringan Simplisia Daun Puring

Sampel	Susut Pengeringan (%)	Pustaka
Simplisia Daun Puring	8,92	Kurang dari atau sama dengan 10% (Saifudin <i>et al.</i> , 2011)

Hasil Ekstraksi Daun Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Penelitian ini menggunakan teknik ekstraksi maserasi dengan rasio 1:5 (w/v). Satu kilogram bubuk daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) yang telah diayak diukur dan dimasukkan ke dalam wadah, kemudian ditambahkan 5 liter etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana secara terpisah ke dalam wadah yang berbeda. Maserasi dilakukan selama tiga periode 24 jam berturut-turut, dengan pengadukan setiap 6 hingga 8 jam pada suhu ruang. Larutan kemudian disaring untuk menghasilkan filtrat I dan residu sebagai ampas. Residu dimaserasi ulang selama tiga periode 24 jam dengan menambahkan 2,5 liter pelarut, diikuti dengan penyaringan untuk mendapatkan

filtrat II. Hasil filtrat I dan filtrat II digabungkan dan kemudian disaring melalui kertas saring. Filtrat dipekatkan dengan evaporator putar pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak pekat yang diperoleh diukur, dan persentase hasil ditentukan. Hasil ekstrak daun puring disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Rendemen Ekstrak Daun Puring

Pelarut	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak Kental (gram)	Rendemen(%)	Pustaka
Etanol 96%	1000	180	18	18,8%
Etil Asetat	1000	166	16,6	(Sahara et
n-heksana	1000	109	10,9	al.,2021)

Didapatkan hasil persentase rendemen ekstrak etanol 96% daun puring, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut yaitu 18%, 16,6%, dan 10,9%.

Hasil Evaluasi Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Penelitian ini mengevaluasi ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) melalui pengujian organoleptik, persentase hasil, analisis kadar air, penilaian kadar abu total, dan pengukuran kadar abu tidak larut asam. Tabel 4 menampilkan hasil evaluasi organoleptik ekstrak daun puring.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Daun Puring

Ekstrak	Ekstrak kental			
	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
Etanol 96%	Ekstrak kental	Hijau pekat	Bau khas daun puring	Pahit
Etil Asetat	Ekstrak kental	Hijau pekat	Bau khas daun puring	Pahit
n-Heksana	Ekstrak kental	Hijau pekat	Bau khas daun puring	Pahit

Selain itu, kadar air baik pada simplisia maupun ekstrak sesuai dengan standar kualitas, yaitu < 10%. Penilaian kadar air juga berkaitan dengan kualitas ekstrak. Kadar air yang berlebihan (> 10%) mendorong perkembangbiakan mikroba, sehingga membahayakan stabilitas ekstrak (Saifudin et al., 2011). Tabel 5 menyajikan nilai uji kadar air untuk ekstrak kental daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*).

Tabel 5. Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Daun Puring

Pelarut	Kadar Air (%)	Pustaka
Etanol 96%	9,20	Kurang dari atau sama dengan 10% (Saifudin et al., 2011)
Etil Asetat	6,74	
n-Heksana	9,44	

Selain itu, analisis kadar abu dilakukan untuk menilai tingkat pengotor akibat polutan senyawa anorganik (Sahara et al., 2021). Data kadar abu ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) pada tiga replikasi disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Kadar Abu Total Ekstrak Daun Puring

Pelarut	Kadar Abu Total (%)	Pustaka
Etanol 96%	3,31	Semakin kecil kadar abu yang diperoleh pada hasil analisis akan meningkatkan mutu dari hasil ekstrak (Margaretta et al.,2013)
Etil Asetat	1,01	
n-Heksana	1,40	

Uji kadar abu tak larut asam yang dilakukan menghasilkan temuan untuk ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*) pada tiga replikasi, seperti yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Kadar Abu Tidak Larut Asam Ekstrak Daun Puring

Pelarut	Abu Tidak Larut Asam (%)	Pustaka
Etanol 96%	0,014	Semakin tinggi hasil menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah, pasir, timbal, dan merkuri juga semakin tinggi (Guntarti et al., 2015)
Etil Asetat	0,036	
n-Heksana	0,009	

Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum (L.) Rumph. ex A. Juss.*)

Studi ini meneliti metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, terpenoid, dan steroid. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Puring

Senyawa	Etanol 96%	Etil Asetat	n-Heksana	Pustaka [32]
Alkaloid	(-)	(-)	(-)	Endapan putih
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	Hijau menjadi hijau kekuningan
Tanin	(+)	(+)	(+)	Hijau kehitaman
Fenol	(+)	(+)	(+)	Hijau kehitaman
Saponin	(-)	(-)	(-)	Terbentuk busa stabil
Terpenoid	(-)	(+)	(-)	Terbentuk cincin kecoklatan
Steroid	(-)	(+)	(+)	Terbentuk cincin biru atau hijau

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif, dengan memanfaatkan ekstrak daun croton 96% etanol, etil asetat, dan n-heksana pada lima konsentrasi berbeda untuk sampel uji. Larutan kontrol positif dan sampel uji direproduksi tiga kali untuk meningkatkan ketelitian penilaian aktivitas antioksidan. Panjang gelombang maksimum larutan standar DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan DPPH 40 ppm pada rentang panjang gelombang 400-800 nm, menggunakan etanol PA sebagai blanko. Pengukuran larutan standar DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 516,5 nm. Pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan teknik DPPH bergantung pada penurunan warna ungu yang dihasilkan dari penurunan DPPH oleh zat antioksidan. Panjang gelombang dalam penelitian ini sesuai dengan rentang pengukuran optimal untuk teknik DPPH, yaitu dari 515 nm hingga 520 nm (Budilaksono *et al.*, 2014). Panjang gelombang maksimum larutan standar DPPH pada konsentrasi 40 ppm ditentukan sebesar 516,5 nm dalam spektrofotometri UV-Vis, yang sesuai dengan absorbansi DPPH sebesar 0,429. Hasil evaluasi ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana dari disajikan pada Tabel 9-12.

Tabel 9. Hasil Absorbansi Ekstrak Etanol 96% Daun Puring

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel Uji		
		R1	R2	R3
2,5	0,429	0,388	0,385	0,382
5	0,429	0,356	0,357	0,361
7,5	0,429	0,305	0,308	0,302
10	0,429	0,285	0,282	0,281
12,5	0,429	0,227	0,222	0,222

Tabel 10. Hasil Absorbansi Ekstrak Etil Asetat Daun Puring

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel Uji		
		R1	R2	R3
2,5	0,429	0,343	0,347	0,340
5	0,429	0,306	0,303	0,301
7,5	0,429	0,261	0,268	0,264
10	0,429	0,225	0,225	0,226
12,5	0,429	0,202	0,209	0,205

Tabel 11. Hasil Absorbansi Ekstrak n-Heksana Daun Puring

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel Uji		
		R1	R2	R3
2,5	0,429	0,380	0,374	0,379
5	0,429	0,339	0,323	0,339
7,5	0,429	0,288	0,299	0,288
10	0,429	0,250	0,252	0,276
12,5	0,429	0,226	0,227	0,236

Tabel 12. Hasil Absorbansi Kontrol Positif (Vitamin C)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel Uji		
		R1	R2	R3
2,5	0,429	0,315	0,312	0,311
5	0,429	0,288	0,285	0,286
7,5	0,429	0,251	0,246	0,249
10	0,429	0,222	0,225	0,221
12,5	0,429	0,207	0,204	0,208

Perhitungan persentase reduksi DPPH menunjukkan bahwa persentase tersebut meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi masing-masing ekstrak daun puring. Hal ini menandakan bahwa setiap ekstrak daun croton memiliki sifat anti-radikal bebas. Kurva regresi linier dibuat untuk menentukan nilai IC₅₀ untuk setiap ekstrak. Berdasarkan persentase reduksi DPPH yang dihitung, dapat disimpulkan bahwa persentase reduksi DPPH meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi masing-masing ekstrak daun croton. Ini berarti bahwa setiap ekstrak daun puring mengandung aksi anti-radikal bebas. Tabel 13 menunjukkan hasil IC₅₀ untuk ekstrak daun croton etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana, serta kontrol positif (Vitamin C).

Tabel 13. Hasil IC₅₀ Ekstrak Daun Puring dan Vitamin C

Sampel	Nilai IC ₅₀			Rata-rata ± SD	Aktivitas Antioksidan	P-value
	R1	R2	R3			
Etanol 96%	13,72	13,50	13,44	13,55 ± 0,142	Sangat Kuat	0,000
Etil Asetat	11,14	11,45	11,32	11,31 ± 0,152	Sangat Kuat	
n-Heksana	12,67	13,01	13,88	13,16 ± 0,624	Sangat Kuat	
Vitamin C (Kontrol +)	11,23	11,11	11,24	11,19 ± 0,069	Sangat Kuat	

Menurut Tabel 13, hasil ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana dari daun croton termasuk dalam kelompok yang sangat kuat, hampir sama dengan kontrol positif, vitamin C, dengan etil asetat memberikan hasil yang paling mendekati. Nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol 96% dari daun croton adalah 13,55, untuk ekstrak etil asetat adalah 11,31, untuk ekstrak n-heksana adalah 13,16, dan untuk kontrol positif adalah 11,19. Analisis data statistik dilakukan untuk melihat apakah data menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Analisis Data

Data yang digunakan terdiri dari nilai IC₅₀ rata-rata untuk setiap replikasi. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari setiap sampel selanjutnya dievaluasi menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 15.0. Ringkasan hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Ringkasan Analisis Statistik

Uji	Nilai Sig.	Interpretasi
Shapiro-Wilk	>0,05	Normal
Levene	0,052	Homogen
One Way ANOVA	0,000	Berbeda signifikan
Tukey HSD	p<0,05 (antar pelarut tertentu)	Ada perbedaan signifikan

Analisis pendahuluan mencakup penilaian normalitas dan homogenitas. Studi normalitas dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal jika nilai signifikansi P > 0,05. Output SPSS untuk “*Test Homogeneity of Variance*” menunjukkan nilai signifikansi 0,052 (P>0,05), yang mengarah pada kesimpulan bahwa varians dari keempat sampel yang dibandingkan bersifat homogen. Asumsi homogenitas dalam uji ANOVA Satu Arah terpenuhi.

Nilai signifikansi yang diperoleh dari uji *One Way ANOVA* untuk setiap sampel adalah 0,000. Nilai signifikansi yang diperoleh dari uji *One Way ANOVA* kurang dari 0,05 (P<0,05), menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik dalam aktivitas antioksidan rata-rata antara sampel ekstrak daun croton dan kontrol. Analisis data selanjutnya adalah uji Post-Hoc. Untuk memastikan perbedaan sebenarnya di antara setiap tingkat perlakuan, dilakukan uji Tukey's HSD (*Honestly Significant Difference*), seperti yang terlihat pada Tabel 14. Hasil perbandingan uji Tukey's HSD yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada aktivitas antioksidan rata-rata.

4. PEMBAHASAN

Penilaian aktivitas antioksidan ekstrak daun puring dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena sederhana, cepat, sensitif, dan membutuhkan sampel sedikit [26]. Prinsipnya adalah reduksi radikal DPPH oleh antioksidan melalui donasi hidrogen yang ditandai perubahan warna ungu menjadi kuning [27]. Aktivitas dinyatakan sebagai IC_{50} , yaitu konsentrasi untuk menghambat 50% radikal bebas; semakin kecil nilainya maka semakin kuat aktivitasnya, dan $IC_{50} < 50$ ppm tergolong sangat kuat [28][29].

Hasil menunjukkan semua ekstrak (etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana) termasuk antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} masing-masing 13,55 ppm; 11,31 ppm; dan 13,16 ppm. Ekstrak etil asetat paling tinggi aktivitasnya dan mendekati vitamin C (11,19 ppm), yang digunakan sebagai kontrol positif karena efektif menangkap radikal bebas dan umum sebagai standar [30][31]. Tingginya aktivitas etil asetat dikaitkan dengan kandungan metabolit sekunder yang lebih lengkap (flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, tanin) sehingga memberi efek sinergis [32]. Sebagai pelarut semi-polar, etil asetat mampu melarutkan senyawa polar dan non-polar secara optimal [28], sesuai dengan laporan Huliselan [33].

Ekstrak etanol 96% dan n-heksana memiliki aktivitas serupa, diduga karena sama-sama mengandung flavonoid, fenol, dan tanin. Aktivitas n-heksana juga dipengaruhi steroid non-polar yang berperan sebagai antioksidan melalui perlindungan oksidasi lipid dan stabilisasi membran [34][35], termasuk fitosterol yang mampu menghambat oksidasi lipid dan menangkap ROS [36][37]. Aktivitas etanol yang sedikit lebih rendah kemungkinan karena dominasi flavonoid glikosida yang kurang efektif dalam donasi hidrogen dibandingkan aglikon [38], sedangkan n-heksana cenderung mengekstraksi bentuk aglikon yang lebih aktif [39]. Secara keseluruhan, variasi pelarut memengaruhi komposisi metabolit dan aktivitas antioksidan, dengan etil asetat menunjukkan potensi terbaik sebagai sumber antioksidan alami berdasarkan metode DPPH.

5. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. ex A. Juss.) dalam pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana mengandung berbagai metabolit sekunder dengan komposisi yang berbeda. Secara khusus, ekstrak etil asetat menunjukkan susunan metabolit sekunder yang paling lengkap, sementara ekstrak etanol 96% dan n-heksana juga mengandung senyawa aktif yang signifikan, termasuk flavonoid, fenol, dan tanin. Semua ekstrak yang dihasilkan telah memenuhi kriteria kualitas padatan dan ekstrak, termasuk rendemen, kualitas organoleptik, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam. Ketiga jenis ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, ditandai dengan nilai IC_{50} sebesar 13,55 ppm (etanol 96%), 11,31 ppm (etil asetat), dan 13,16 ppm (n-heksana), dengan ekstrak etil asetat menunjukkan kemanjuran antioksidan tertinggi. Selain itu, terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan secara statistik ($P < 0,05$) antara ketiga jenis pelarut. Aktivitas antioksidan yang diperoleh pada penelitian ini didasarkan pada uji in vitro metode DPPH, sehingga diperlukan pengujian lanjutan menggunakan metode antioksidan lain serta pendekatan in vivo untuk memastikan relevansi biologisnya. Berdasarkan temuan ini, disarankan untuk melakukan penelitian tambahan dengan menggunakan teknik skrining fitokimia yang lebih tepat dan kuantitatif, seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan standar yang telah ditetapkan, penilaian konsentrasi metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan, evaluasi aktivitas antioksidan melalui metode alternatif seperti FRAP dan ABTS, dan formulasi sediaan topikal atau aplikasi lain yang diuji secara in vivo dan klinis, sehingga memaksimalkan potensi daun puring sebagai sumber obat alami alternatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa, para pembimbing, serta seluruh pihak yang telah memberikan dukungan dan kontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] E. R. Yuslianti, *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Deepublish, 2018.
- [2] Q. P. Arnanda and R. F. Nuwarda, "Penggunaan radiofarmaka teknesium-99m dari senyawa glutation dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker," *Farmaka*, vol. 17, no. 2, pp.

- 236–243, 2019.
- [3] J. Jumingin, A. Atina, J. Iswan, N. Haziza, and B. Ashari, “Radiasi gelombang elektromagnetik yang ditimbulkan peralatan listrik di lingkungan universitas PGRI Palembang,” *J. Online Phys.*, vol. 7, no. 2, pp. 48–53, 2022.
- [4] R. F. Trasia, F. M. Hawa, H. F. Putri, S. N. A. Panjaitan, and A. Aryatama, “Aplikasi Sifat Antioksidan Ekstrak Tanaman Turi Terhadap Biolistrik Sebagai Penunjang Regenerasi Kulit,” *EMPIRIS J. Sains, Teknol. dan Kesehat.*, vol. 1, no. 2, pp. 97–103, 2024.
- [5] I. Zeouk *et al.*, “Isolation, identification, and activity evaluation of antioxidant components from *Inula viscosa*: A bioguided approach,” *Bioorg. Chem.*, vol. 119, p. 105551, 2022.
- [6] W. Agustina, N. Nurhamidah, and D. Handayani, “Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa fraksi dari kulit batang jarak (*Ricinus communis* L.),” *J. Pendidik. dan Ilmu Kim.*, vol. 1, no. 2, pp. 117–122, 2017.
- [7] R. Tristanto, M. A. Putri, A. P. Situmorang, and S. Suryanti, “Optimalization Use of Seagrass Leaf *Thalassia hemprichii* As Natural Antioxidant Source,” *Saintek Perikan. Indones. J. Fish. Sci. Technol.*, vol. 10, no. 1, pp. 26–29, 2014.
- [8] V. Aprilia, S. K. L. Bhima, and A. Ismail, “Pengaruh Pemberian Butylated Hydroxytoluene (2, 6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol) Per Oral Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal,” *J. Kedokt. Diponegoro (Diponegoro Med. Journal)*, vol. 7, no. 2, pp. 1154–1165, 2018.
- [9] S. Rahmat, N. Nadila, D. Deswita, S. P. Hairani, Y. Yeyen, and E. Ensu, “Identifikasi senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa kompleks pada tanaman tradisional,” *Polyg. J. Ilmu Komput. dan Ilmu Pengetah. Alam*, vol. 3, no. 5, pp. 17–26, 2025.
- [10] Maulidia A, Wijayanti S, Mustamin F, Ubrusun J. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol pada biji buah terap (*Artocarpus odoratissimus*) menggunakan metode DPPH. *J Farmasimed*. 2024;7(1):73–80. doi:10.35451/jfm.v7i1.2350.
- [11] S. Seri, “Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Kandungan Fenolik Total dari Daun Puring Merah (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph).” Universitas Andalas, 2018.
- [12] W. Sujarwo and S. G. Lestari, “Studi etnobotani tumbuhan obat dan upacara adat Hindu di Bali,” *Bul. Kebun Raya*, vol. 21, no. 2, pp. 117–139, 2018.
- [13] F. U. Sahara, S. Slamet, U. Waznah, and W. Wirasti, “Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. Ex. A. Juss) Secara In Vitro,” in *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 2021, pp. 487–498.
- [14] N. Nursamsiar, A. Fadri, M. Marwati, F. J. Sami, N. S. H. R. Ismail, and H. Kasmawati, “Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*. L) Asal kabupaten Gowa,” *J. Mandala Pharmacoon Indones.*, vol. 9, no. 2, pp. 253–261, 2023.
- [15] W. S. Putri, N. K. Warditiani, and L. P. F. Larasanty, “Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.),” *J. Pharmacoon*, vol. 9, no. 4, pp. 56–59, 2013.
- [16] C. N. Gupita and A. Rahayuni, “Pengaruh berbagai pH sari buah dan suhu pasteurisasi terhadap aktivitas antioksidan dan tingkat penerimaan sari kulit buah manggis,” *J. Nutr. Coll.*, vol. 1, no. 1, pp. 209–215, 2012.
- [17] M. Sangi, M. R. J. Runtuwene, H. E. I. Simbala, and V. M. A. Makang, “Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara,” 2019.
- [18] Ramadhani, M. A., A. K. Hati, N. F. Lukitasari, and A. H. Jusman, “Skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total serta fenolik total ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%,” *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, vol. 3, no. 1, pp. 1–7, 2020.
- [19] D. Ali, “Pemanfaatan Ekstrak Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*,” 2021.
- [20] M. Verdiana, I. W. R. Widarta, and I. Permana, “Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.),” *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*, vol. 7, no. 4, pp. 213–222, 2018.
- [21] S. Rahayu, N. Amaliah, and R. Patimah, “Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea*) terhadap bakteri *Bacillus substillis* dengan tingkatan polaritas pelarut,” *J. Ris. Kefarmasian*

- Indones.*, vol. 4, no. 1, pp. 34–45, 2022.
- [22] M. Simorangkir, B. Nainggolan, and S. Silaban, “Potensi Antibakteri Ekstrak n-Hexana, Etil Asetat, Etanol Daun Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans* V.W.) Terhadap *Salmonella enterica*,” *J. Biosains Unimed*, vol. 5, no. 02, pp. 92–98, 2019.
- [23] F. Setiawan, O. Yunita, and A. Kurniawan, “Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP,” *Media Pharm. Indones.*, vol. 2, no. 2, pp. 82–89, 2018.
- [24] Z. Theafelicia and S. N. Wulan, “Perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*),” *J. Teknol. Pertan.*, vol. 24, no. 1, pp. 35–44, 2023.
- [25] E. Yunita and D. R. A. P. Sari, “Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat dan Fraksi N-Heksan Daun Pegagan (*Centella Asiatica* L.),” *J. Mandala Pharmacoon Indones.*, vol. 8, no. 1, pp. 58–66, 2022.
- [26] D. Fitriani, R. N. A. Utami, and R. N. A. Ta’ati, “Phenolic Assay and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate and Water Fractions of Ethanol Extract of Butterfly Pea Flower by DPPH and FRAP Methods,” *J. Kesehat. dr. Soebandi*, vol. 13, no. 2, pp. 218–226, 2025.
- [27] E. I. Ayudia, H. Dewi, and D. T. Hardiningsih, “Antioxidant activity potential of 96% ethanol extract from jackfruit (*Artocarpus integer*) peel based on IC50 value,” *Proc. Acad. Univ. Jambi*, vol. 1, no. 2, pp. 722–727, 2025.
- [28] I. Isnindar, S. Luliana, and M. Zahid, “Effect of extraction, ratio, and solvent concentration on total flavonoid content and antioxidant activit of singkel (*prema serratifolia* linn.) using dpph method,” *J. Teknosains*, vol. 14, no. 2, pp. 103–114.
- [29] A. F. Supyan, L. R. Rizkulloh, and S. Adlina, “Aktivitas Antioksidan dan Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Serum Wajah Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus logan* L.),” *J. Ilm. Farm. Farmasyifa*, vol. 8, no. 2, pp. 155–164, 2025.
- [30] I. Subekti, T. A. Sujono, and A. Suhendi, “Antioxidant activity of DPPH and ABTS methods, from jackfruit leaf extract and fraction (*Artocarpus heterophyllum*) with ELISA reader,” *Pharmacoon J. Farm. Indones.*, pp. 27–34, 2025.
- [31] C. U. Kemas, N. C. Ngwuluka, N. A. Ochekepe, and E. I. Nep, “Starch-based xerogels: Effect of acetylation on Physicochemical and rheological properties,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 98, pp. 94–102, 2017.
- [32] N. Rusmiyati, D. A. I. Permatasari, and I. N. Khasanah, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil asetat, dan Air Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode DPPH (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil),” *Detect. J. Inov. Ris. Ilmu Kesehat.*, vol. 1, no. 4, pp. 183–206, 2023.
- [33] Y. M. Huliselan, “Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.),” *Pharmacoon*, vol. 4, no. 3, pp. 155–163, 2015.
- [34] P. Fernandes and J. M. S. Cabral, “Phytosterols: applications and recovery methods,” *Bioresour. Technol.*, vol. 98, no. 12, pp. 2335–2350, 2019.
- [35] M. T. Dolorosa, P. S. Nurjanah, E. Anwar, and T. Hidayat, “Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit,” *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones.*, vol. 20, no. 3, pp. 633–644, 2017.
- [36] V. A. Timoshnikov, O. Y. Selyutina, N. E. Polyakov, V. Didichenko, and G. J. Kontoghiorghes, “Mechanistic insights of chelator complexes with essential transition metals: antioxidant/pro-oxidant activity and applications in medicine,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 3, p. 1247, 2022.
- [37] N. T. Bui, T.-L. T. Pham, K. T. Nguyen, P. H. Le, and K.-H. Kim, “Effect of extraction solvent on total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity of *Avicennia officinalis*,” *Res. Appl. Chem*, vol. 12, pp. 2678–2690, 2021.
- [38] A. N. Panche, A. D. Diwan, and S. R. Chandra, “Flavonoids: an overview,” *J. Nutr. Sci.*, vol. 5, p. e47, 2016.