

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN, BUNGA, BUAH DAN AKAR SENDUDUK
(*Melastoma malabathricum L*) SECARA IN-VITRO**

SKRIPSI



Oleh :

SOFI ALFIANI

NIM : 1904004

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Melastoma malabathricum L atau yang biasa disebut tanaman senduduk merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat sebagai obat tradisional, tanaman ini mudah ditemukan di lereng gunung, semak belukar, dan pada lapangan yang tidak gersang (Gholib & Djaenudin, 2009). Menurut Dalimartha, Angela dan Nusatya (1999), bagian tumbuhan senduduk seperti buah, daun, akar dan biji dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Di wilayah Sulawesi Selatan, daun dan buah senduduk dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar untuk penyembuhan luka, sakit perut, dan batuk dengan cara merebus daunnya sebagai obat batuk, mengunyah daunnya sebagai obat sakit perut, dan getahnya digunakan sebagai obat sakit gigi. (Tambaru, 2017). Selain itu, sebagian masyarakat di Sumatera Barat khususnya di daerah Lubuk minturun dan Kuranji mengkonsumsi daun muda senduduk sebagai pelengkap kari, dipercaya baik untuk kesehatan jantung.

Daun senduduk mengandung senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan, dan senyawa lain seperti triterpen, steroid, saponin, dan tanin. Senyawa tersebut merupakan senyawa fitokimia dengan fungsi khusus dalam kesehatan manusia. Penelitian bioaktivitas senduduk telah banyak dilakukan, Zakaria *et al.* (2006) menyatakan bahwa ekstrak kloroform daun senduduk memiliki bioaktivitas sebagai antiseptik, antiinflamasi dan antipiretik sedangkan Joffry *et al.* (2012) melaporkan bioaktivitasnya sebagai antiseptik, antiinflamasi, penyembuhan luka, antidiare, sitotoksik, dan antioksidan. Pemanfaatan tumbuhan senduduk sebagai obat tradisional berhubungan dengan

senyawa bioaktifnya. Sebagai contoh bioaktivitas sebagai antioksidan banyak dihubungkan dengan kandungan senyawa fenolik (Zakaria *et al* 2011).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang menghambat laju oksidasi molekul lain atau juga bisa menetralkan radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara menyediakan elektron bagi radikal bebas sehingga memutus reaksi berantai yang dapat merusak makromolekul di dalam tubuh. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan fenolik alami yang ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, tanaman, dan produk yang memiliki manfaat bagi kesehatan contohnya mengurangi risiko penyakit arteri koroner. Hal ini disebabkan adanya beberapa vitamin A, C, E, asam folat, serat dan komponen kimia lainnya seperti polifenol yang dapat mengikat radikal bebas (Siagian 2002)

Penelitian yang telah dilakukan oleh Fransiska (2017), menunjukkan hasil aktivitas antioksidan buah senduduk dengan metode DPPH pada ekstrak etil asetat 8,785 mg/L, ekstrak metanol 14,33 mg/L, ekstrak n-heksan 57,51 mg/L, ekstrak aquades 129,823 mg/L dan yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat terletak pada ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol buah senduduk. Berbagai metode pengukuran telah dikembangkan untuk mengukur karakteristik total antioksidan. Metode pengukuran aktivitas antioksidan tersebut akan mendeteksi karakteristik yang berbeda dari antioksidan dalam sampel, hal ini menjelaskan mengapa metode pengukuran aktivitas yang berbeda akan mengacu pada pengamatan mekanisme kerja antioksidan yang berbeda pula (Hasan Baglou, *et al.*, 2012). Beberapa metode yang dilakukan yaitu DPPH, CUPRAC, FRAP.

Berdasarkan penjelasan diatas maka peneliti tertarik untuk menguji antioksidan dari beberapa bagian tanaman senduduk yaitu daun, bunga, buah, dan akar. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara in vitro menggunakan reagen DPPH dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis

1.2 Rumusan masalah

Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak daun, bunga, buah, dan akar tumbuhan senduduk.

1.3 Tujuan penelitian

Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun, bunga, buah, dan akar tumbuhan senduduk.

1.4 Manfaat penelitian

1. Dapat mengetahui berapa nilai antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun, bunga, buah, dan akar pada tumbuhan senduduk.
2. Peneliti mampu menerapkan ilmu kefarmasian khususnya bidang biologi farmasi

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun senduduk (*Melastoma malabathrium* L)

2.1.1 Tinjauan botani



Gambar 1. Tumbuhan senduduk (Ahmad supardi 2022)

Kingdom :Plantae

Superdivision :Angiospermae

Divisio :Spermatophyta

Kelas :Dicotyledoneae

Ordo :Myrtales

Familia :Melastomataceae

Genus :Melastoma

Spesies :*Melastoma malabathricum* L

2.1.2 Nama daerah

Nama daerah tanaman ini adalah Harendong (Sunda), Kluruk, Senggani (Jawa), Kemanden (Madura) (Liana, 2010).

2.1.3 Morfologi

Daun senduduk berupa perdu atau pohon kecil. Batangnya berkayu, coklat, tegak, tinggi 1,5–5 m, dengan cabang seperti simposium. Daunnya tunggal, bertangkai, dan letaknya berseberangan. Daun berwarna hijau yang memiliki panjang 2-20 cm, lebar 1-8 cm, bentuk elips, dengan ujung runcing. Tekstur daun keras dan kasar saat disentuh memiliki tiga tulang daun yang melengkung yang memiliki panjang 5–12mm. (Starr dan Loope, 2003 dalam Liana, 2010). Bunga senduduk berupa bunga majemuk, kelopak berlekatan, berbulu, bagian ujung pendek dari pangkal, ujung meruncing, daun pelindung bersisik, ungu kemerahan, benang sari delapan sampai dua belas, panjang ± 3 cm, merah muda, putik satu, kepala putik berbintik hijau, bakal buah beruang empat sampai enam, mahkota lima, bulat telur, ungu.

2.1.4 Tinjauan kimia

Senyawa kimia yang terdapat pada daun senduduk meliputi saponin, flavonoid, dan tanin terhidrolisis (biasa disebut novo tanin B). Bunga senduduk mengandung kaempferol, antosianin, tanin, asam lemak dan sterol. (Liana, 2010). Senduduk mengandung flavonoid, saponin, tanin, glikosida, steroid/triterpenoid.

2.2 Tinjauan farmakologi

Tumbuhan senduduk merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat. Bagian yang digunakan adalah daun, akar, buah, dan biji. Senduduk ini bermanfaat untuk gangguan pencernaan (dispepsia), shigellosis, diare, hepatitis, keputihan (leukemia), stomatitis, perdarahan menstruasi berlebihan, perdarahan uterus ekstra menstruasi,

epistaksis, tinja berdarah (melena), wasir berdarah, dan thromboangiitis. Senduduk juga bisa dijadikan obat penyembuh luka. Zat aktif yang terkandung dalam daun senduduk yang berfungsi sebagai penyembuh luka adalah flavonoid memiliki efek anti-inflamasi, anti-alergi dan antioksidan. Steroid bertindak sebagai agen anti-inflamasi. Saponin bertindak sebagai agen pembersih dan antiseptik, membunuh mikroorganisme dan untuk mencegah pertumbuhannya. Tanin bertindak sebagai astringen yang menyempitkan pori-pori kulit, mengeraskan kulit, menghentikan sekresi yang menyebabkan pendarahan ringan.

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan elektron (donor elektron) atau reduktor. Senyawa ini menonaktifkan kemajuan reaksi oksidasi dan mencegah pembentukan radikal. Antioksidan juga dapat didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menghambat oksidasi senyawa tersebut bila terdapat pada konsentrasi rendah dengan substrat yang dapat teroksidasi (Sunardi, 2007).

Antioksidan dibagi menjadi dua kategori berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan pencegah bekerja dengan menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) seperti enzim katalase, peroksidase, superoksida dismutase dan transferrin. Antioksidan pemutus rantai adalah senyawa yang mengais radikal oksigen dan memutus rantai reaksi radikal. Contohnya termasuk vitamin C, vitamin E, asam urat, bilirubin, dan polifenol. Antioksidan pemutus rantai memiliki dua reaksi. Jalur pertama adalah jalur

transfer atom hidrogen dengan mekanisme radikal oksigen yang menghilangkan hidrogen dari antioksidan untuk membentuk kompleks radikal antioksidan yang stabil. Jalur kedua, antioksidan, menginaktivasi radikal bebas melalui transfer elektron tunggal. Transfer elektron tunggal sangat dipengaruhi oleh kestabilan pelarut pada muatan tertentu. (Ou, Huang, Woodill, Flanagan, dan Deemer, 2002).

Antioksidan berdasarkan fungsinya dapat dibedakan menjadi 3 yaitu:

1. Antioksidan primer

Berfungsi untuk menghentikan reaksi berantai radikal dengan bertindak sebagai atom H atau radikal donor elektron, sehingga mempengaruhi pembentukan produk yang lebih stabil yaitu oksidan (Halim, 2011). Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentuk senyawa radikal bebas baru. Ia mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang dampak negatifnya lebih sedikit, sebelum sempat bereaksi. Contoh antioksidan ini adalah enzim SOD, yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan yang menghambat kerja peroksida melalui mekanisme penyerapan radiasi ultraviolet dan menonaktifkan ion logam (Pokorny et al., 2011). Antioksidan sekunder dibutuhkan untuk menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Yang termasuk di antioksidan sekunder adalah beta karoten, retinol, vitamin C dan vitamin E.

3. Antioksidan tersier,

Antioksidan yang fungsinya memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. (Pribadi, 2009). antioksidan tersier diperlukan untuk memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah metionin sulfoksidan reduktase, enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami)

1. Antioksidan sintetik

Di antara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diperbolehkan digunakan dalam makanan, yaitu Butyl Hydroxy Anisole (BHA), Butyl Hydroxy Toluene (BHT), Propyl Gallate, Tert-Butyl Hydroxy Quinone (TBHQ).) dan tokoferol. Antioksidan ini merupakan antioksidan alami yang diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Buck, 1991).

2. Antioksidan alami

Antioksidan yang secara alami terdapat dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua bahan makanan, atau dari senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama pengolahan, senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan pada makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

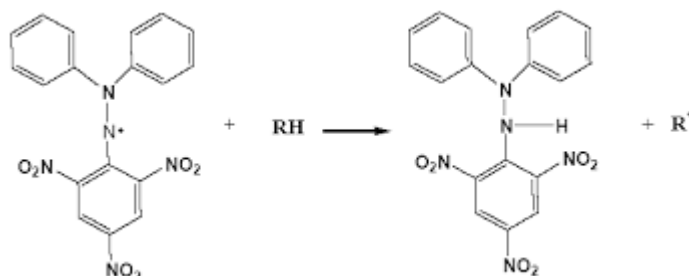
2.4 Radikal bebas

Radikal bebas itu merupakan molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluar (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Radikal bebas dapat terbentuk sebagai akibat dari peristiwa metabolisme sel normal, kekurangan nutrisi, dan reaksi terhadap agresi eksternal seperti polusi dan radiasi UV (Valko et al., 2006). Sasaran utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan Lipoprotein dan elemen DNA termasuk karbohidrat. Efek dari radikal bebas adalah misalnya gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, perubahan molekul yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, bahkan mutasi gen, akibat dari segala bentuk gangguan tersebut adalah munculnya berbagai penyakit seperti aterosklerosis, kanker, katarak dan lain-lain. (Winarsi H., 2007).

2.5 Metode DPPH

DPPH merupakan senyawa radikal yang dapat digunakan sebagai indikator proses reduksi senyawa antioksidan (Alam *et al.*, 2013). Prinsip pengujiannya adalah mereaksikan senyawa antioksidan dengan senyawa radikal bebas. Mekanisme pengujian aktivitas antioksidan ini adalah dengan cara mengidentifikasi senyawa radikal bebas yang dapat direduksi oleh sampel (Chanda dan Dave, 2009). Metode DPPH adalah metode yang cepat, sederhana, dan murah. Untuk mengukur kapasitas antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini telah banyak digunakan untuk menguji senyawa yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas atau donor, mengevaluasi aktivitas

antioksidannya, dan menghitung jumlah kompleks radikal bebas-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padat atau cair (Prakash, Rigelhof & Miller, 2001)

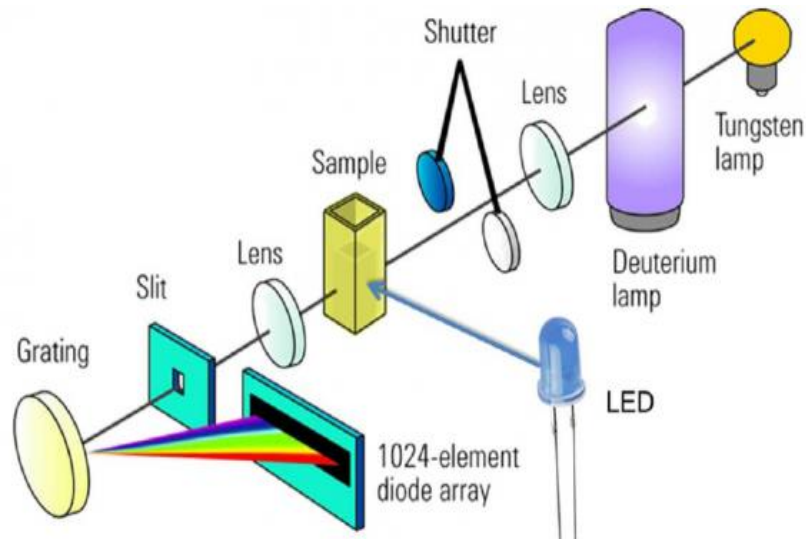


Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan(prakash dkk, 2001)

2.6 Spektrofotometer UV-Vis

2.6.1 Pengertian Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri adalah salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk menganalisis sifat-sifat bahan dengan menganalisis spektrum yang dihasilkan oleh bahan yang merupakan hasil interaksi antara energi radiasi dengan atom atau molekul penyusun materi, deskripsi spektral materi dinyatakan sebagai perubahan intensitas radiasi atau absorbansi sebagai fungsi panjang gelombang (Maknurah, 2015). Prinsip kerja spektrofotometer adalah mengukur jumlah cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh molekul dalam larutan. Ketika cahaya dengan panjang gelombang ditransmisikan melalui larutan. Karena energi cahaya diserap. Ukuran kemampuan molekul terlarut untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu disebut absorbansi (A), (Rusli, 2009).



Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis (Sentra kalibrasi industry)

2.6.2 Tipe Instrument dari Spektrofotometer UV-Vis (Rusli, 2009)

Tipe instrumen spektrofotometer UV-Vis ada dua yaitu yang pertama tipe single Beam, Pada spektrofotometer UV-Vis tipe single beam absorpsi berdasarkan pada sinar tunggal dimana sampel akan ditentukan jumlahnya pada suatu panjang gelombang atau fix wavelength. Hasil biasanya dibandingkan dengan blanko (pelarut). Yang kedua ada Double Beam, absorpsinya mempunyai variable panjang gelombang atau multi wavelength. Hasilnya bisa langsung dibandingkan dengan blanko.

2.6.3 Hukum Lambert Beer

Hubungan linier menurut hukum Lambert-Beer absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi sampel dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum Lambert-Beer.

$$A = (I_0 / I_t) = abc$$

Keterangan :

I_o : Intensitas sinar datang

I_t : Intensitas sinar yang diteruskan

a : Absorptivitas

b : Panjang sel

c : Konsentrasi

A : Absorban

BAB III. METODA PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan maret sampai juli tahun 2023 di Laboratorium kimia farmasi, fakultas farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Botol maserasi, gelas piala, gelas ukur, rotary evaporator, batang pengaduk, furnace, krus, porselen, desikator tabung reaksi, pipet tetes, corong, plat tetes, labu ukur, Spektrofotometer UV-Vis, vial, corong pisah, aluminium foil, timbangan analitik, kertas saring, vakum, kapas, cawan penguap, pipet mikro, water bath, sudip, spatel.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah akar, daun, bunga, dan buah dari tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L), etanol 96%, aquades, DPPH, methanol.

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun, akar, buah, dan bunga pada tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L) yang di ambil di daerah Solok-Selatan.

3.3.2 Identifikasi sampel

Identifikasi sampel tanaman senduduk dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang (UNAND).

3.3.3 Penyiapan sampel

Daun, bunga, buah dan akar senduduk masing-masing bagian diambil sebanyak 2 kg dan dibersihkan dengan air mengalir, bagian tanaman yang telah dibersihkan setelah itu dikeringkan dengan cara dikering anginkan, tidak terkena panas sinar matahari langsung. Dikeringkan selama 3-4 hari atau sampai kering. Setelah kering masing masing bagian sampel dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang berat dan hasil yang didapat yaitu 250 g

3.3.4 Pembuatan ekstrak

Sebanyak 250 g dari masing- masing ekstrak akar, daun, bunga, dan buah senduduk dibuat dengan cara maserasi, sampel halus masing-masing bagian tanaman dimasukkan kedalam botol maserasi kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 3x24 jam. Lalu disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung, setelah direndam 72 jam, kemudian saring dengan kertas saring maka didapatkan maserat, ampasnya direndam lagi dengan etanol 96% selama 72 jam. Proses ekstraksi dilakukan beberapa kali pengulangan sampai didapatkan larutan bening. Semua maserat digabungkan dan diuapkan menggunakan penguap vakum, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak (Badan POM RI, 2004).

3.4 Uji Karakteristik Ekstrak

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak

Penetapan organoleptik, yaitu dengan pengenalan secara fisik dengan menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau.

3.4.2 Penentuan Rendemen Ekstrak

Rendemen dari ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\%Rendemen = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100 \%$$

3.4.3 Pembuatan Larutan DPPH 35 µg/mL (Molyneux, 2004)

Serbuk dari DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dan masukkan kedalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian larutan dipipet sebanyak 17,5 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 35 µg/mL.

3.5 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

3.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH (Mosquera dkk., 2007)

sebanyak 4 mL larutan DPPH 35 µg/mL yang baru dibuat dipipet dan dimasukkan kedalam vial, lalu tambahkan 2 mL campuran metanol dan aquades (1 : 1) dan diamkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

3.5.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun, Buah, dan Bunga.

Larutan sampel ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, hingga diperoleh larutan induk konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan induk pipet 2,5 ml kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas hingga diperoleh larutan konsentrasi 100 µg/mL. Dari larutan induk pipet (0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5) mL. Kemudian tambahkan metanol : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 25) µg/mL. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 mL dengan menggunakan pipet mikro dan masukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan 4 mL DPPH 35 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit di tempat gelap, ukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan).

3.5.3 Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar.

Larutan sampel ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, hingga diperoleh larutan induk konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan induk pipet 2,5 ml kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas hingga diperoleh larutan konsentrasi 100 µg/mL. Dari larutan induk pipet (1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5) mL. Kemudian tambahkan metanol : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50) µg/mL. Pipet masing-

masing konsentrasi sebanyak 2 mL dengan menggunakan pipet mikro dan masukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit di tempat gelap, ukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan).

3.5.4 Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan % inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100\%$$

3.5.5 Nilai IC₅₀

IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat atau mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier yang diperoleh. Untuk menentukan IC₅₀ diperlukan persamaan kurva standar dari %inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. nilai IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% kedalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004).