

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
TOTAL PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia
sinensis* L.) DAN DAUN MINT (*Mentha piperita* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
IZZA NAILATUL FITRIYAH
NIM. 220602110005**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
TOTAL PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia
sinensis* L.) DAN DAUN MINT (*Mentha piperita* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
IZZA NAILATUL FITRIYAH
NIM. 220602110005**

**Diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

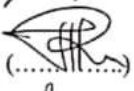
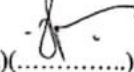
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Izza Nailatul Fitriyah
NIM : 220602110005
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dan Daun Mint (*Mentha piperita* L.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 5 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I :	Dr. Kiptiyah, M.Si. NIP. 19731005 200212 2 003	
Pembimbing II :	Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIP. 19821120 2025 211035	
Tim Penguji :	Azizatur Rahmah, M.Sc. NIP. 19860930 201903 2 011	
	Fitriyah, M. Si. NIP. 19860725 201903 2 013	

(Ketua) (.....)
(Anggota)(.....)

Program Studi Biologi



Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur selalu dipanjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia serta hidayah-Nya yang diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang menuntun kepada jalan kebenaran. Skripsi ini dipersembahkan kepada semua pihak yang memberikan motivasi, dukungan, dan doa dalam penelitian penulis, khususnya kepada:

1. Orang tua, Ayah dan Ibu yang mendidik, merawat, memberikan cinta dan kasih, serta doa kepada penulis.
2. Kakak tersayang yang mendukung dan senantiasa memberi semangat penulis dalam menyelesaikan studi.
3. Paman, Bibi, dan Keluarga Besar yang telah memberikan semangat, doa, dan motivasi kepada penulis.
4. Adlie Arrifahie, teman seperjuangan yang mendukung, memotivasi, dan menjadi tempat berbagi cerita penulis.
5. Bella, sebagai sahabat penulis yang selalu menemani, meberikan semangat, dan menjadi partner selama masa studi penulis.
6. Teman-teman angkatan 2022 yang telah banyak membantu, memberikan dukungan, dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan studi.
7. Lana Del Rey, Taylor Swift, LANY, dan Justin Bieber yang telah menemani penulis dalam menuntut ilmu dan membuat penulis semangat dalam menyelesaikan studi.

Malang, 12 Juni 2026

Izza Nailatul Fitriyah

MOTTO

لَا تَحْزَنُ إِنَّ اللَّهَ مَعَنَا

“Janganlah engkau bersedih, sesungguhnya Allah Bersama kita”

(QS. At-Taubah:40)

“Kamu yang menentukan skenario hidupmu, jangan biarkan orang lain menulisnya”

(Oprah Winfrey)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Izza Nailatul Fitriyah
NIM : 220602110005
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dan Daun Mint (*Mentha piperita* L.)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Juni 2026
Yang membuat pernyataan,



Izza Nailatul Fitriyah
NIM. 220602110005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
TOTAL PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia
sinensis* L.) DAN DAUN MINT (*Mentha piperita* L.)**

Izza Nailatul Fitriyah, Kiptiyah, M. Mukhlis Fahrudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana
Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Stress oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas dapat berkontribusi terhadap munculnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes melitus, gangguan kardiovaskular, serta penuaan dini. Salah satu upaya untuk mengurangi dampak tersebut adalah melalui pemanfaatan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) diketahui mengandung senyawa katekin, terutama epigallocatechin gallate (EGCG), yang memiliki kemampuan antioksidan tinggi. Sementara itu, daun mint (*Mentha piperita* L.) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid seperti asam rosmarinat yang berpotensi dalam menangkal radikal bebas. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada ekstrak tunggal maupun kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint dengan variasi rasio 1:1, 1:2, dan 2:1. Penelitian menggunakan metode eksploratif dengan pendekatan deskriptif kuantitatif. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% melalui metode maserasi. Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) melalui pengukuran persen inhibisi dan nilai IC_{50} , sedangkan kadar flavonoid total ditentukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$ dan standar kuersetin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint pada rasio 1:2 memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 3,37 ppm, yang lebih optimal dibandingkan ekstrak tunggal. Selain itu, kombinasi ekstrak juga menghasilkan kadar flavonoid total yang tinggi, sehingga menunjukkan adanya keterkaitan antara kandungan flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Berdasarkan hasil tersebut, kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami yang efektif dan aman.

Kata kunci: antioksidan, DPPH, daun teh hijau, daun mint, flavonoid

TESTING ANTIOXIDANT ACTIVITY USING THE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) METHOD AND DETERMINING THE TOTAL FLAVONOID CONTENT IN A COMBINATION OF GREEN TEA LEAF EXTRACT (*Camellia sinensis* L.) AND MINT LEAF (*Mentha piperita* L.)

Izza Nailatul Fitriyah, Kiptiyah, M. Mukhlis Fahrudin

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University
of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Oxidative stress triggered by free radicals can contribute to the development of various degenerative diseases, such as cancer, diabetes mellitus, cardiovascular disorders, and premature aging. One way to mitigate these effects is through the use of natural antioxidants derived from plants. Green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) are known to contain catechin compounds, particularly epigallocatechin gallate (EGCG), which possess high antioxidant capacity. Meanwhile, peppermint leaves (*Mentha piperita* L.) contain phenolic compounds and flavonoids such as rosmarinic acid, which have the potential to neutralize free radicals. This study was conducted to determine the antioxidant activity and total flavonoid content in both single extracts and combinations of green tea and mint leaf extracts at varying ratios of 1:1, 1:2, and 2:1. The study employed an exploratory method with a quantitative descriptive approach. The extraction process was performed using 96% ethanol via the maceration method. Antioxidant activity was analyzed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method through the measurement of inhibition percentage and IC_{50} values, while total flavonoid content was determined using a colorimetric method with $AlCl_3$ reagent and quercetin standard. The results of the study show that a combination of green tea leaf extract and mint leaf extract in a 1:2 ratio exhibits antioxidant activity with an IC_{50} value of 3.37 ppm, which is more effective than either extract alone. In addition, the extract combination also yielded high levels of total flavonoids, suggesting a correlation between flavonoid content and antioxidant activity. Based on these results, the combination of green tea and mint leaf extracts has the potential to be developed as an effective and safe source of natural antioxidants.

Keywords: antioxidants, DPPH, green tea leaves, mint leaves, flavonoids

اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH (2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل) وتحديد المحتوى الإجمالي للفلافونويد في مزيج من مستخلص أوراق الشاي الأخضر (*Camellia sinensis* L.) وأوراق النعناع (*Mentha piperita* L.)

إيزا نايلاتول فيتري، كيبتيية، م. مختلس فخر الدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية «مولانا مالك إبراهيم» في مالانغ

الملخص

يمكن أن يسهم الإجهاد التأكسدي الناجم عن الجذور الحرة في ظهور العديد من الأمراض التنكسية، مثل السرطان، والسكري، واضطرابات القلب والأوعية الدموية، بالإضافة إلى الشيخوخة المبكرة. ومن بين الجهود الرامية إلى الحد من هذه الآثار استخدام مضادات الأكسدة الطبيعية المستمدة من النباتات. من المعروف أن أوراق الشاي الأخضر (*Camellia sinensis* L.) تحتوي على مركبات الكاتشين، ولا سيما إيغالوكاتشين غالات (EGCG)، التي تتمتع بقدرة عالية على مقاومة الأكسدة. من ناحية أخرى، تحتوي أوراق النعناع (*Mentha piperita* L.) على مركبات فينولية وفلافونويد مثل حمض الروزمارينات الذي يتمتع بقدرة على مقاومة الجذور الحرة. أجريت هذه الدراسة لتحديد النشاط المضاد للأكسدة ومستوى الفلافونويدات الإجمالي في المستخلصات المنفردة وكذلك في المستخلصات المركبة من أوراق الشاي الأخضر وأوراق النعناع بنسب متنوعة هي 1:1 و 1:2 و 2:1. استخدمت الدراسة منهجاً استكشافياً مع نذج وصفي كمي. أجريت عملية الاستخلاص باستخدام مذيب الإيثانول بنسبة 96% من خلال طريقة النقع. تم تحليل النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH (2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل) من خلال قياس نسبة التثبيط وقيمة IC_{50} ، بينما تم تحديد محتوى الفلافونويد الإجمالي باستخدام طريقة القياس اللوني مع مادة $AlCl_3$ الكاشفة ومعياري الكيرسيتين. أظهرت نتائج البحث أن مزيج مستخلص أوراق الشاي الأخضر وأوراق النعناع بنسبة 1:2 يتمتع بنشاط مضاد للأكسدة بقيمة IC_{50} تبلغ 3,37 جزء في المليون، وهو ما يعتبر أفضل مقارنة بالمستخلصات المنفردة. بالإضافة إلى ذلك، أنتج المزيج أيضاً مستويات عالية من الفلافونويد الإجمالي، مما يشير إلى وجود علاقة بين محتوى الفلافونويد والنشاط المضاد للأكسدة. بناءً على هذه النتائج، يمكن تطوير مزيج مستخلصات أوراق الشاي الأخضر وأوراق النعناع كمصدر طبيعي فعال وآمن لمضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، الفلافونويد، أوراق الشاي الأخضر، أوراق النعناع، DPPH

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Bismillahirrohmaanirrohim. Pertama-tama, penulis panjatkan puji dan Syukur kehadirat Allah Swt atas segala Rahmat dan hidayah-Nya sehingga proposal skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dan Daun Mint (*Mentha piperita* L.)” dapat diselesaikan dengan baik. Kedua, sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menghantarkan manusia ke jalan kebenaran.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si., CAHRM., CRMP selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Agus Mulyono, M.Kes selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Kiptiyah, M.Si dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku Dosen Pembimbing I dan II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Seluruh Dosen dan Laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang membantu dalam memberikan arahan dan masukan kepada penulis selama penyusunan tugas akhir.
6. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd. selaku Dosen Wali yang telah membimbing, memberikan masukan dan motivasi sehingga penulis dapat Menyusun skripsi dengan baik.
7. Segenap sivitas akademik Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Keluarga, sahabat dan teman-teman seperjuangan Biologi yang senantiasa memberikan do’a, dukungan, dan motivasi kepada penulis.
9. Semua pihak terlibat yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, atas keikhlasan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Tiada yang dapat penulis lakukan selain berdo’a semoga Allah Swt membalas kebaikan semuanya. Proposal skripsi ini ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
الملخص	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i> L.)	8
2.2 Daun Mint (<i>Mentha piperita</i> L.).....	10
2.3 Antioksidan	12
2.3.1 Pengertian dan Mekanisme Kerja Antioksidan	12
2.3.2 Jenis dan Sumber Antioksidan.....	14
2.3.3 Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>) dan Daun Mint (<i>Mentha piperita</i>)	16
2.4 Radikal Bebas.....	18
2.5 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).....	20
2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Perspektif Islam.....	22
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3 Alat dan Bahan	27
3.3.1 Alat.....	27
3.3.2 Bahan	27
3.4 Prosedur Penelitian.....	27
3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau dan Daun Mint	27

3.4.2 Penetapan Kadar Flavonoid dengan Metode Kolorimetri	28
3.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	30
3.5 Analisis Data	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	34
4.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total	40
4.3 Hubungan Kadar Flavonoid Total Terhadap Aktivitas Antioksidan.....	43
4.4 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Al-Qur'an	46
BAB V PENUTUP.....	50
5.1 Simpulan.....	50
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i> L.)	9
Gambar 2. 2 Daun Mint (<i>Mentha piperita</i> L.)	11
Gambar 2. 3 Struktur Molekul Senyawa Flavonoid	16
Gambar 2. 4 Struktur Molekul EGCG dan Asam Rosmarinat	18
Gambar 2. 5 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan	21
Gambar 4. 1 Grafik kurva standar asam askorbat	35
Gambar 4. 2 Grafik persen inhibisi DPPH sampel tunggal dan kombinasi	36
Gambar 4. 3 Grafik kurva baku kuersetin	41

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Nilai IC ₅₀ sampel dan pembanding.....	376
Tabel 4. 2 Kadar Flavonoid Total pada Sampel.....	421

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Hasil Rendemen Sampel	57
Lampiran 2. Data % inhibisi DPPH	57
Lampiran 3. Kurva Regresi Nilai IC ₅₀	58
Lampiran 4. Data Kadar Flavonoid Total	59
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Meningkatnya aktivitas industri, penggunaan kendaraan bermotor yang padat, serta praktik pembakaran sampah yang tidak terkendali telah menyebabkan tingkat pencemaran udara di Indonesia terus bertambah dari waktu ke waktu (Candrasari dkk., 2023). Kondisi lingkungan tersebut berpotensi meningkatkan pembentukan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga dapat memicu terjadinya stres oksidatif (Khutami *et al.*, 2022). Penumpukan radikal bebas secara berlebihan dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel penting seperti lipid, protein, dan DNA, yang selanjutnya berkontribusi terhadap munculnya berbagai penyakit degeneratif, antara lain kanker, penyakit jantung koroner, diabetes mellitus, serta penuaan dini. Dengan demikian, upaya untuk mengendalikan jumlah radikal bebas menjadi aspek penting dalam menjaga kesehatan dan mencegah berbagai gangguan degeneratif (Rahman *et al.*, 2012).

Tubuh manusia memiliki mekanisme pertahanan alami yang bekerja melalui keberadaan senyawa antioksidan. Antioksidan berfungsi membantu menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron, sehingga dapat mengurangi potensi kerusakan sel akibat reaksi oksidatif (Hermawan & Frans, 2023). Peran utama antioksidan adalah menekan aktivitas radikal bebas dengan menjaga keseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh agar molekul menjadi lebih stabil (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). Berdasarkan asalnya, antioksidan diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu endogen dan eksogen.

Antioksidan endogen dihasilkan secara alami oleh tubuh, seperti enzim katalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), serta senyawa melatonin dan glutathione (GSH). Sementara itu, antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh melalui konsumsi makanan atau suplemen, misalnya vitamin C, vitamin E, karotenoid, polifenol, sulforafan, dan antosianin yang banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan (Korczowska-Lacka *et al.*, 2023).

Tumbuhan memiliki peranan penting sebagai sumber utama antioksidan alami karena kaya akan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin, dan alkaloid yang berfungsi menetralkan radikal bebas (Asih dkk., 2022). Pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber antioksidan alami dianggap lebih aman serta ramah lingkungan dibandingkan penggunaan antioksidan sintetis yang berpotensi menimbulkan efek samping. Keanekaragaman hayati yang melimpah di Indonesia menjadi peluang besar dalam pengembangan potensi tanaman sebagai bahan alami penangkal radikal bebas (Safnowandi, 2022). Hal ini sejalan dengan ajaran Islam yang menekankan bahwa tumbuh-tumbuhan merupakan ciptaan Allah yang diperuntukkan bagi kemaslahatan manusia, sebagaimana dijelaskan dalam Q.S Asy-Syu'ara [26]: 7 sebagai berikut.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik”

Dalam Tafsir Al-Misbah, frasa “*zaujan kariim*” pada Surah Asy-Syu'ara ayat 7 dijelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik di bumi. Tumbuhan yang dimaksud dengan *thayyib* ialah tumbuhan yang memberikan manfaat bagi makhluk hidup. Allah SWT menciptakan tumbuhan agar

dimanfaatkan manusia dengan sebaik-baiknya, termasuk sebagai bahan pengobatan alami melalui pemanfaatan obat herbal yang dapat membantu mengatasi berbagai penyakit. Dengan demikian, keberadaan tumbuhan memberikan manfaat yang besar bagi kelangsungan hidup manusia (Shihab, 2005). Beberapa jenis tumbuhan yang diketahui mengandung banyak senyawa antioksidan dan berperan dalam menetralkan radikal bebas antara lain daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan daun mint (*Mentha piperita*).

Kandungan utama daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) berupa senyawa polifenol, khususnya golongan flavonoid seperti katekin, epikatekin, epigallocatekin, dan epigallocatekin galat (EGCG), berperan penting dalam aktivitas antioksidan yang kuat untuk menetralkan radikal bebas. Di antara senyawa tersebut, EGCG merupakan komponen paling aktif dengan nilai IC_{50} yang rendah, menunjukkan kemampuan tinggi dalam menangkalkan radikal bebas. Senyawa polifenol pada teh hijau juga berfungsi melindungi sel dari stres oksidatif dengan menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) yang bersifat merusak (Fadhilah dkk., 2021). Sementara itu, daun mint (*Mentha piperita* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti asam rosmarinat, flavonoid, dan terpenoid. Kandungan tersebut berperan sebagai antioksidan alami yang mampu menekan aktivitas radikal bebas sekaligus memberikan efek biologis lain seperti antiinflamasi dan imunomodulator (Endriyatno dkk., 2023). Senyawa terpenoid pada daun mint juga berperan dalam menghambat proses oksidasi berantai dan menstabilkan radikal bebas melalui struktur hidrokarbon tidak jenuh yang dimilikinya (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2021).

Kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint terbukti menghasilkan efek sinergis yang memperkuat aktivitas antioksidan (Kurin *et al.*, 2025). Interaksi antar-polifenol seperti epigallocatechin gallate (EGCG), quercetin, terpenoid, dan asam rosmarinat berperan penting dalam peningkatan aktivitas tersebut (Arumsari dkk., 2019). EGCG merupakan senyawa yang mudah teroksidasi akibat polimerisasi fenolik dan stres oksidatif, namun lebih stabil pada kondisi asam karena senyawa ini sensitif terhadap cahaya, suhu, dan kondisi basa (Tan *et al.*, 2018). Kondisi asam dari antioksidan alami membantu menghambat pembentukan radikal bebas serta mencegah degradasi EGCG (Widyaningrum dkk., 2019). Aktivitas antioksidan kombinasi kedua ekstrak tersebut dapat diuji menggunakan metode DPPH untuk menilai kemampuan senyawa dalam mereduksi radikal bebas (Kedare & Singh, 2011). Selain itu, analisis kadar flavonoid dengan menggunakan metode kolorimetri merupakan salah satu metode yang paling efektif untuk mengetahui kontribusi senyawa bioaktif terhadap tingkat aktivitas antioksidan dan efek sinergis yang dihasilkan.

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengkaji aktivitas antioksidan dari berbagai ekstrak tanaman, baik secara tunggal maupun dalam bentuk kombinasi. Fadhillah dkk. (2021) menunjukkan bahwa teh hijau memiliki kandungan katekin dan epigallocatekin galat (EGCG) yang tinggi, sehingga memberikan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Penelitian oleh Endriyatno *et al.* (2023) mengemukakan bahwa daun mint memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong tinggi, seiring dengan kandungan senyawa fenolik seperti asam rosmarinat dan flavonoid. Sementara itu, Kurin *et al.* (2025) menemukan bahwa kombinasi ekstrak teh hijau dan daun mint menghasilkan efek sinergis terhadap aktivitas antioksidan

yang lebih efisien dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua tanaman tersebut berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai formulasi kombinasi bahan alami yang efektif sebagai sumber antioksidan (Kurin *et al.*, 2025).

Penelitian oleh Kurin *et al.* (2025) merupakan studi aktivitas antioksidan dari kombinasi daun teh hijau dan daun mint dalam bentuk infusa. Namun, penelitian tersebut berfokus terhadap bagaimana metode preparasi dapat mempengaruhi sinergi dari kombinasi keduanya. Penelitian tersebut tidak menghubungkan aktivitas antioksidan dengan kadar flavonoid, serta tidak menganalisisnya dalam bentuk IC₅₀. Selain itu, penelitian tersebut belum mengevaluasi potensi variasi rasio kombinasi ekstrak etanol pada kedua ekstrak (Kurin *et al.*, 2025). Pelarut etanol merupakan jenis pelarut polar yang diketahui lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa polifenol dan flavonoid dibandingkan pelarut lain (Yunita & Khodijah, 2020). Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang membahas aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun teh hijau dan daun mint berdasarkan variasi rasio, serta keterkaitannya dengan kadar flavonoid total.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) dengan variasi rasio 1:1, 1:2, dan 2:1 menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Berdasarkan Joshi *et al.* (2022), kombinasi ekstrak dengan variasi rasio ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi sinergis atau antagonis antar senyawa bioaktif, serta mengidentifikasi rasio yang dapat memberikan aktivitas antioksidan paling optimal. Selain itu, penelitian ini juga menghitung kadar flavonoid total dan menganalisis hubungannya terhadap

aktivitas antioksidan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi sinergisme kedua ekstrak dalam meningkatkan aktivitas antioksidan, serta menjadi dasar pengembangan bahan alam sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi dikembangkan menjadi produk pangan atau obat herbal fungsional.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita*) menggunakan metode DPPH?
2. Berapa total kadar flavonoid pada kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) serta hubungannya dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita*) menggunakan metode DPPH?
2. Mengukur kadar flavonoid pada kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) menggunakan metode TFC, serta menganalisis hubungan antara kadar flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat teoritis berupa informasi ilmiah mengenai aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) sebagai sumber antioksidan alami yang ditinjau berdasarkan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.
2. Secara aplikatif, hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar dalam memahami peran senyawa bioaktif tumbuhan terhadap aktivitas antioksidan alami yang berpotensi menekan angka kejadian penyakit degeneratif akibat paparan radikal bebas, serta menjadi referensi bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan potensi tanaman sebagai agen antioksidan alami.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan daun mint (*Mentha piperita*) dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), dengan variasi rasio kombinasi 1:1, 1:2, dan 2:1.
2. Penetapan kadar flavonoid dari kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan daun mint (*Mentha piperita*) pada rasio 1:1, 1:2, dan 2:1 menggunakan metode kolorimetri dengan standar pembanding kuersetin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.)

Teh hijau (*Camellia sinensis* L.) merupakan anggota famili Theaceae dan banyak dibudidayakan di wilayah beriklim tropis maupun subtropis, termasuk di Indonesia. Jenis teh ini digemari masyarakat luas karena sering dikonsumsi sebagai minuman penyegar (Samosir dkk., 2024). Tanaman teh hijau berbentuk semak hijau yang umumnya dapat mencapai tinggi sekitar 1–3 meter. Daunnya memiliki bentuk lonjong dengan ukuran panjang mencapai 30 cm dan lebar sekitar 2–5 cm, berujung runcing serta bertepi bergerigi. Permukaan daunnya halus berbulu atau terkadang tampak licin (Khurshid *et al.*, 2016). Klasifikasi taksonomi dari teh hijau (*Camellia sinensis* L.) berdasarkan Khurshid *et al.*, (2016) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Theales

Family : Theaceae

Genus : *Camellia*

Species : *Camellia sinensis* L.



Gambar 2. 1 Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.), (a) Tumbuhan teh hijau; (b) daun teh hijau (Syahbudin *et al.*, 2019); (c) bunga daun teh hijau (Singh *et al.*, 2019)

Teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) merupakan tanaman yang kaya akan berbagai senyawa bioaktif yang memberikan banyak manfaat bagi kesehatan, seperti antioksidan, antikanker, antijamur, antibakteri, serta membantu menghambat proses penuaan. Daun teh hijau diketahui mengandung beragam senyawa polifenol, terutama dari golongan flavonoid, tanin, dan katekin, yang berperan besar dalam aktivitas antioksidannya. Senyawa katekin merupakan komponen utama dari kelompok flavonoid dengan beberapa turunan, yaitu epikatekin (EC), epigallocatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), dan epigallocatekin galat (EGCG) (Fitri & Kusumawardhani, 2023). Di antara turunan tersebut, EGCG dikenal memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi karena mengandung banyak gugus hidroksil dan struktur fenolik yang mampu menangkap radikal bebas secara efektif (Fadhilah dkk., 2021). Selain itu, daun teh hijau juga mengandung vitamin B, C, dan E, asam amino, serta mineral yang turut mendukung peranannya dalam melawan stres oksidatif (Khurshid *et al.*, 2016).

Mekanisme kerja antioksidan dari senyawa polifenol pada teh hijau terutama disebabkan oleh kemampuan katekin, khususnya epigallocatekin galat (EGCG), dalam menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas serta menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Senyawa EGCG juga dapat berinteraksi dengan ion logam transisi seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu), sehingga mencegah terjadinya reaksi oksidasi berantai yang menghasilkan ROS secara berlebihan. Dengan demikian, proses tersebut membantu menghentikan reaksi oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan DNA, lipid, dan protein di dalam sel (Khurshid *et al.*, 2016). Hasil penelitian oleh Setiawan *et al.* (2021) menunjukkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid dalam teh hijau memiliki nilai IC_{50} rendah, yang menandakan aktivitas antioksidan tinggi. Sementara itu, penelitian Fadhilah dkk. (2021) menunjukkan bahwa ekstrak daun teh hijau mengandung EGCG yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan dengan teh olong dan teh hitam.

2.2 Daun Mint (*Mentha piperita* L.)

Daun mint (*Mentha piperita* L.) merupakan salah satu tanaman herbal beraroma segar yang termasuk dalam famili Lamiaceae dan merupakan hasil persilangan antara *Mentha aquatica* dengan *Mentha spicata*. Tanaman ini dikenal luas karena aromanya yang menyegarkan serta banyak digunakan dalam bidang farmasi, pangan, dan kosmetik (Hudz *et al.*, 2023). Secara morfologis, *Mentha piperita* memiliki batang berbentuk segi empat, bercabang, berwarna hijau hingga ungu kemerahan dan dapat tumbuh mencapai tinggi 30–90 cm. Daunnya tersusun berhadapan, berbentuk oval hingga lanset dengan tepi bergerigi halus, berwarna hijau tua pada bagian atas dan lebih pucat pada bagian bawah. Pada permukaan

daun terdapat kelenjar minyak yang menghasilkan aroma khas mint yang kuat (Gupta *et al.*, 2024). Klasifikasi *Mentha piperita* berdasarkan Gupta *et al.* (2024) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Division : Angiosperms

Class : Magnoliopsida

Order : Lamiales

Family : Lamiaceae

Genus : *Mentha*

Species : *Mentha piperita*



Gambar 2. 2 Daun Mint (*Mentha piperita* L.), (a) Tumbuhan mint (El Hassani *et al.*, 2020); (b) batang daun mint (Fauziah dkk., 2024); (c) daun mint (Kieltyka-Dadasiewicz *et al.*, 2017)

Daun mint mengandung beragam senyawa bioaktif yang berperan penting dalam menunjang aktivitas biologisnya. Komponen utamanya adalah senyawa terpenoid, minyak atsiri yang tersusun atas mentol, menton, isomenton, mentil asetat, dan menthofuran, serta dilengkapi dengan flavonoid seperti eriocitrin, luteolin, dan hesperidin, dan senyawa fenolik seperti asam rosmarinat dan asam kafeat (Gupta *et al.*, 2024). Di antara berbagai senyawa tersebut, asam rosmarinat dan flavonoid memiliki peran utama sebagai antioksidan karena kemampuannya

dalam menetralkan radikal bebas serta menghambat oksidasi lipid. Selain itu, asam rosmarinat juga dapat mengurangi pembentukan ROS, memperbaiki kondisi stres oksidatif, serta meningkatkan aktivitas antioksidan dan kemampuan perbaikan DNA (Fachrurza dkk., 2019).

Aktivitas antioksidan pada *Mentha piperita* terutama dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik seperti asam rosmarinat dan flavonoid yang cukup tinggi. Kedua senyawa tersebut berperan dalam menetralkan radikal bebas, melindungi komponen seluler dari kerusakan akibat oksidasi, serta mempertahankan keseimbangan redoks yang penting untuk mencegah berbagai penyakit terkait stres oksidatif (Gupta *et al.*, 2024). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas serta menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS) melalui mekanisme pengikatan elektron dari ROS bebas, sehingga mampu menetralkan spesies oksigen reaktif menjadi bentuk yang lebih stabil. Proses ini berperan penting dalam menunda, mencegah, maupun mengurangi kerusakan oksidatif pada berbagai molekul target seperti protein, lipid, dan DNA yang disebabkan oleh paparan radikal bebas (Novita & Silvy, 2021).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian dan Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat atau memperlambat proses oksidasi dengan cara menetralkan radikal bebas melalui pemberian elektron atau atom hidrogen. Mekanisme kerjanya melibatkan perubahan radikal bebas yang bersifat tidak stabil menjadi molekul yang lebih stabil, sehingga mencegah kerusakan pada komponen penting sel seperti lipid, protein, dan DNA (Andarina &

Djauhari, 2017). Peran utama antioksidan adalah menjaga keseimbangan redoks tubuh dengan mengontrol pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan dan dapat menyebabkan stres oksidatif (Sayuti & Rina, 2015). Secara alami, tubuh manusia menghasilkan antioksidan endogen untuk mempertahankan kestabilan sistem biologisnya, namun ketika paparan oksidan eksternal meningkat, tubuh membutuhkan tambahan antioksidan dari luar. Antioksidan endogen meliputi enzim katalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), serta senyawa melatonin dan glutathione (GSH) yang diproduksi secara internal. Sementara itu, antioksidan eksogen diperoleh melalui asupan makanan atau suplemen yang mengandung vitamin C, vitamin E, karotenoid, polifenol, sulforafan, dan antosianin yang banyak terdapat dalam berbagai jenis tumbuhan (Korcowska-Lacka *et al.*, 2023).

Peran antioksidan tidak hanya sebatas menangkal radikal bebas, tetapi juga meliputi perlindungan terhadap proses penuaan dini serta pencegahan penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, dan gangguan kardiovaskular. Kondisi stres oksidatif yang muncul akibat ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan sistem antioksidan tubuh dapat memicu timbulnya berbagai penyakit kronis (Tumilaar *et al.*, 2024). Senyawa antioksidan, seperti flavonoid dan asam askorbat, mampu menstabilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dengan cara mendonorkan elektron dari gugus hidroksilnya, sehingga menghentikan reaksi oksidatif berantai. Selain itu, antioksidan berfungsi menjaga aktivitas enzim dan integritas membran sel agar tidak mengalami kerusakan akibat peroksidasi lipid. Melalui mekanisme tersebut, antioksidan berperan penting dalam mempertahankan

sistem pertahanan tubuh terhadap dampak merugikan dari stres oksidatif (Asih dkk., 2022).

Mekanisme kerja antioksidan terbagi menjadi dua jenis utama, yaitu mekanisme enzimatik dan non-enzimatik. Mekanisme enzimatik melibatkan enzim-enzim seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) yang berfungsi mengubah spesies oksigen reaktif (ROS) menjadi senyawa yang tidak berbahaya seperti air dan oksigen (Korcowska-Łacka *et al.*, 2023). Sebaliknya, mekanisme non-enzimatik melibatkan molekul kecil seperti vitamin C, vitamin E, karotenoid, asam urat, dan flavonoid yang secara langsung menetralkan radikal bebas melalui proses transfer elektron (Sayuti & Rina, 2015). Kedua mekanisme ini saling melengkapi, di mana mekanisme enzimatik berperan sebagai garis pertahanan pertama dalam mencegah pembentukan ROS, sedangkan mekanisme non-enzimatik bertindak sebagai pelindung tambahan dengan menangkap sisa radikal bebas yang terbentuk. Keseimbangan antara kedua sistem ini sangat krusial dalam menjaga stabilitas seluler dan mencegah kerusakan oksidatif yang dapat mengganggu fungsi biologis tubuh (Rahmadi & Bohari, 2018).

2.3.2 Jenis dan Sumber Antioksidan

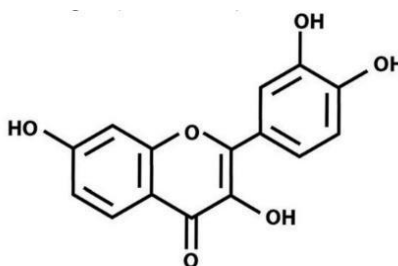
Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis utama berdasarkan asalnya, yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan senyawa yang secara alami diproduksi oleh tubuh, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, yang berperan dalam menguraikan oksidan menjadi senyawa yang tidak berbahaya (Korcowska-Łacka dkk., 2023). Sementara itu, antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh dan

diperoleh melalui konsumsi makanan yang mengandung vitamin, mineral, serta senyawa fitokimia seperti polifenol dan flavonoid. Senyawa aktif tersebut berfungsi memberikan perlindungan terhadap stres oksidatif yang diakibatkan oleh meningkatnya kadar metabolit sekunder. Dengan demikian, asupan bahan alami yang kaya antioksidan eksogen sangat diperlukan untuk membantu memperkuat sistem pertahanan tubuh dalam melawan radikal bebas (Hermawan & Frans, 2023).

Berdasarkan komponen penyusunnya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori utama, yaitu vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif seperti polifenol. Vitamin C, E, dan A termasuk antioksidan penting yang bekerja dengan cara mendonorkan elektron serta menghambat reaksi berantai pada proses oksidasi lipid (Sayuti & Rina, 2015). Mineral seperti seng (Zn), mangan (Mn), dan selenium (Se) berfungsi sebagai kofaktor bagi enzim-enzim antioksidan dalam menetralkan radikal bebas (Rahmadi & Bohari, 2018). Sementara itu, polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan berperan sebagai pengkelat ion logam dan penangkap radikal bebas yang efektif. Sinergi antara vitamin dan polifenol dapat memperkuat kapasitas antioksidan total suatu bahan alami karena keduanya berperan saling melengkapi dalam mekanisme reduksi spesies oksigen reaktif (ROS) (Asih dkk., 2022).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok utama dari senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada berbagai jenis tumbuhan dan memiliki potensi antioksidan yang tinggi. Menurut Tumilaar dkk. (2024), flavonoid bekerja dengan menetralkan radikal bebas melalui mekanisme transfer elektron atau atom hidrogen, serta menghambat reaksi oksidasi berantai yang dapat memicu peroksidasi lipid. Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid terbagi menjadi beberapa subkelompok,

yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, dan isoflavon, dengan aktivitas antioksidan yang bervariasi pada tiap jenisnya. Flavonoid seperti luteolin dan katekin diketahui memiliki kemampuan antioksidan yang lebih kuat dibandingkan vitamin C, vitamin E, maupun β -karoten. Senyawa ini banyak terkandung dalam tanaman seperti teh, cokelat, kopi, sayuran, dan buah-buahan. Selain itu, flavonoid juga berperan dalam meningkatkan kestabilan antioksidan lain seperti vitamin C dan E, sehingga kombinasi antar senyawa tersebut menghasilkan efek sinergis yang lebih optimal dalam menangkal radikal bebas (Rahmadi & Bohari, 2018).



Gambar 2. 3 Struktur Molekul Senyawa Flavonoid (Gloriana dkk., 2011)

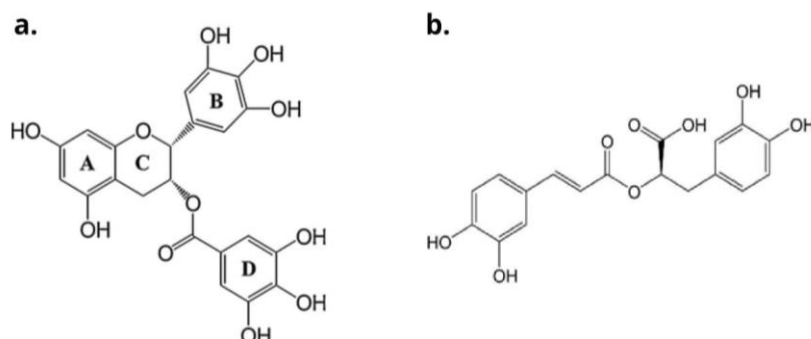
2.3.3 Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dan Daun Mint (*Mentha piperita*)

Daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dikenal sebagai salah satu sumber antioksidan alami yang kaya akan senyawa polifenol, terutama kelompok katekin seperti epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin, dan epicatechin gallate. Senyawa-senyawa tersebut berperan dalam menetralkan radikal bebas melalui mekanisme pemberian elektron dan atom hidrogen, sehingga mampu menghambat proses oksidasi di dalam tubuh (Fadhilah dkk., 2021). Meskipun demikian, EGCG memiliki keterbatasan dari sisi kestabilan karena mudah mengalami degradasi

ketika terpapar suhu tinggi, kondisi basa, maupun oksigen, yang menyebabkan penurunan aktivitas antioksidannya. Senyawa ini diketahui lebih stabil pada lingkungan yang bersifat asam (Tan *et al.*, 2018). Di sisi lain, daun mint (*Mentha piperita* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti asam rosmarinat, mentol, menton, serta flavonoid seperti luteolin dan hesperidin, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi (Dhaouadi *et al.*, 2015).

Kombinasi antara dua atau lebih senyawa antioksidan dapat memberikan efek sinergis dalam menetralkan radikal bebas serta menjaga kestabilan senyawa yang telah mengalami oksidasi (Khurin *et al.*, 2025). Flavonoid seperti epigallocatechin gallate (EGCG) dari daun teh hijau memiliki kemampuan tinggi dalam mendonorkan elektron, tetapi senyawa ini mudah terdegradasi setelah proses donasi elektron akibat ketidakstabilannya (Tan *et al.*, 2018). Penambahan asam rosmarinat dari daun mint berperan penting dalam menstabilkan radikal flavonoid yang terbentuk melalui mekanisme delokalisasi elektron pada dua gugus orto-dihidroksi (katekol) yang dimilikinya (Czerwinska & Radziejewska, 2024). Asam rosmarinat mampu mendonorkan elektron kembali kepada radikal flavonoid, mengembalikannya ke bentuk aktif, sementara radikal rosmarinat yang terbentuk tetap stabil karena sistem aromatiknya. Kestabilan radikal hasil donasi elektron menjadi faktor utama dalam mempertahankan aktivitas antioksidan yang kuat dan berkelanjutan. Gugus hidroksil atau amino pada posisi orto berperan penting dalam meningkatkan stabilitas radikal fenoksil melalui efek resonansi dan induktif (Ali *et al.*, 2013). Dengan demikian, kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint

diperkirakan mampu menghasilkan efek sinergis yang efektif dalam menghambat reaksi oksidasi berantai dan memperkuat perlindungan terhadap radikal bebas.



Gambar 2. 4 Struktur Molekul EGCG dan Asam Rosmarinat, (a) EGCG (epigallocatechin gallate) (Fadhilah dkk., 2021); (b) asam romarinat (Czerwinska & Radziejewska, 2024)

2.4 Radikal Bebas

Oksigen diperoleh manusia melalui proses pernapasan, di mana udara yang dihirup akan masuk ke paru-paru dan diserap oleh darah untuk kemudian disalurkan ke seluruh jaringan tubuh. Oksigen tersebut berperan penting dalam respirasi seluler sebagai sumber energi (Isrul dkk, 2025). Dalam proses fisiologis, terutama pada respirasi sel di mitokondria, oksigen dimanfaatkan dalam pembentukan energi melalui reaksi reduksi oksigen menjadi air. Namun, selama berlangsungnya transfer elektron pada rantai transpor elektron, sebagian kecil oksigen dapat mengalami reduksi yang tidak sempurna dan membentuk *reactive oxygen species* (ROS), seperti radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil ($\bullet OH$), serta singlet oksigen (1O_2) (Chaudhary *et al.*, 2023).

Radikal bebas merupakan atom, molekul, atau senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan tidak

stabil. Elektron oksigen yang tidak berpasangan akan berusaha mencari pasangan baru agar stabil, sehingga mudah bereaksi dengan molekul lain seperti protein, lemak, maupun DNA dalam tubuh (Rahman *et al.*, 2012). Meskipun dikenal dapat menimbulkan kerusakan, *reactive oxygen species* (ROS) dalam kadar fisiologis justru memiliki peranan penting bagi tubuh. Di antaranya berfungsi dalam sistem pertahanan terhadap mikroorganisme patogen, berperan dalam proses transduksi sinyal di dalam sel, serta membantu pengaturan tonus otot polos pada pembuluh darah dan organ. Dengan demikian, keberadaan radikal bebas dalam jumlah tertentu tetap diperlukan untuk menjaga keseimbangan dan fungsi fisiologis tubuh (Sayuti & Rina, 2015).

Ketika jumlah radikal bebas yang dihasilkan melebihi kemampuan sistem pertahanan tubuh untuk menetralkannya, terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang dikenal sebagai stres oksidatif. Keadaan ini dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada berbagai komponen seluler, termasuk lipid, protein, dan DNA, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap munculnya penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, diabetes melitus, serta penuaan dini (Rahman *et al.*, 2012). Peningkatan pembentukan radikal bebas juga dapat dipicu oleh berbagai aktivitas manusia yang menyebabkan pencemaran lingkungan, seperti emisi kendaraan bermotor, pembakaran sampah, asap rokok, serta penggunaan bahan kimia secara berlebihan. Aktivitas tersebut menghasilkan polutan yang dapat memicu pembentukan radikal bebas baik di udara maupun di dalam tubuh manusia (Hidajat dkk., 2023). Oleh karena itu, diperlukan solusi untuk menekan dampak oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Salah satu cara biologis yang efektif adalah melalui peran antioksidan, yaitu senyawa yang mampu

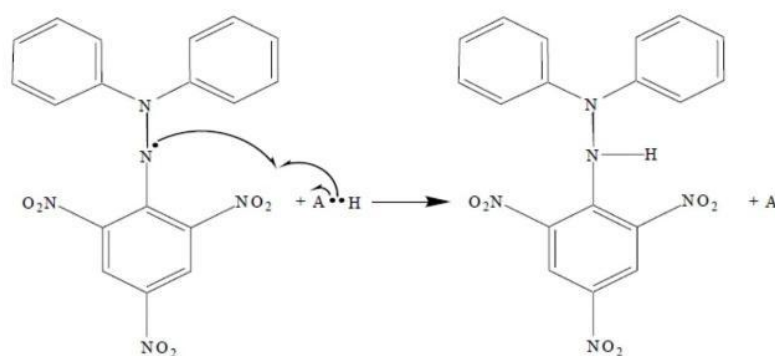
menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah kerusakan sel dan menjaga keseimbangan redoks dalam tubuh (Hermawan & Frans, 2023).

2.5 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan salah satu teknik in vitro yang paling sering digunakan untuk menilai kemampuan suatu senyawa dalam menangkal radikal bebas melalui mekanisme pemberian atom hidrogen atau elektron (Gulcin & Alwasel, 2023). Dasar dari metode ini yaitu terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dari ungu pekat menjadi kuning muda setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, yang menandakan terjadinya reduksi radikal $\text{DPPH}^\bullet$ menjadi bentuk stabil DPPH-H (Kedare & Singh, 2011). Pengukuran perubahan absorbansi dilakukan menggunakan *ELISA Reader*, dan hasil disesuaikan berdasarkan hukum Lambert–Beer, di mana semakin kecil nilai absorbansi menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Metode ini dianggap mudah, cepat, sensitif, serta dapat diterapkan untuk berbagai jenis ekstrak tumbuhan maupun senyawa fenolik (Gulcin & Alwasel, 2023).

Ketika larutan DPPH bereaksi dengan ekstrak atau senyawa yang memiliki sifat antioksidan, atom nitrogen pada DPPH yang mengandung elektron tidak berpasangan akan menangkap atom hidrogen dari senyawa donor (antioksidan), membentuk senyawa stabil DPPH-H berwarna kuning (Malik dkk., 2017). Reaksi tersebut menyebabkan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning, yang dapat diukur secara kuantitatif melalui penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Mekanisme ini menunjukkan kemampuan antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, dimana tingkat aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk persen inhibisi (% inhibisi). Nilai

inhibisi yang semakin tinggi menandakan semakin kuat kemampuan senyawa dalam mereduksi radikal bebas DPPH (Sibua dkk., 2022).



Gambar 2. 5 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Sayuti & Rina, 2015)

Aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH dinyatakan dalam nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang mampu menetralkan 50% radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi kemampuan antioksidan suatu senyawa (Kedare & Singh, 2011). Menurut kriteria yang dikemukakan oleh Phongphaichit (2007) dalam Malik dkk., (2017) aktivitas antioksidan digolongkan sangat kuat jika $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kuat pada rentang $10\text{--}50 \mu\text{g/mL}$, dan sedang pada $50\text{--}100 \mu\text{g/mL}$. Keunggulan metode DPPH terletak pada prosedurnya yang sederhana, cepat, ekonomis, dan tidak memerlukan pembentukan radikal baru karena DPPH sudah merupakan radikal stabil. Namun demikian, metode ini memiliki beberapa keterbatasan, seperti hanya larut dalam pelarut organik sehingga kurang cocok untuk senyawa yang bersifat hidrofilik, serta rentan terhadap pengaruh cahaya dan pH. Selain itu, hasil uji ini tidak sepenuhnya merepresentasikan kondisi biologis yang kompleks (Sibua dkk., 2022). Oleh sebab itu, untuk mendapatkan hasil yang

lebih komprehensif, metode DPPH sering dikombinasikan dengan metode lain seperti ABTS atau FRAP (Gulcin & Alwasel, 2023).

2.6 Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Perspektif Islam

Tubuh manusia dapat membentuk radikal bebas secara alami sebagai hasil dari proses metabolisme sel (Rahman *et al.*, 2012). Selain itu, radikal bebas juga dapat dipicu oleh faktor eksternal seperti polusi udara, asap rokok, radiasi, pestisida, serta bahan kimia berbahaya dapat meningkatkan jumlahnya secara signifikan (Hidajat dkk., 2023). Jika kadar radikal bebas melebihi kemampuan sistem pertahanan tubuh untuk menetralkannya, maka terjadi kondisi yang disebut stres oksidatif yang berperan dalam perkembangan berbagai penyakit degeneratif (Rahman *et al.*, 2012). Fenomena ini sejalan dengan firman Allah SWT yang menjelaskan bahwa kerusakan yang ada di bumi termasuk pencemaran udara merupakan dampak dari aktivitas manusia itu sendiri, sebagaimana dijelaskan dalam Q.S Ar-Rum [30]: 41 sebagai berikut.

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ
يَرْجِعُونَ ٤١

Artinya: “Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia. (Melalui hal itu) Allah membuat mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka agar mereka kembali (ke jalan yang benar).”

Menurut penafsiran Tafsir Al-Azhar, ayat tersebut menggambarkan bahwa kerusakan di darat dan laut dapat dikaitkan dengan kondisi dunia modern, seperti polusi udara akibat asap kendaraan bermotor, emisi industri, pembakaran bahan bakar fosil, serta tumpahan minyak di lautan yang mencemari ekosistem perairan. Berbagai aktivitas tersebut merupakan wujud nyata dari perbuatan manusia yang

menimbulkan pencemaran lingkungan dan meningkatkan paparan zat berbahaya yang dapat memicu pembentukan radikal bebas, baik di alam maupun di dalam tubuh (Hamka, 2021). Oleh karena itu, diperlukan langkah-langkah untuk menekan dampak oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Salah satu cara biologis yang efektif adalah melalui peran antioksidan, yaitu senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron guna menstabilkannya, sehingga dapat mencegah kerusakan sel dan menjaga keseimbangan redoks dalam tubuh.

Al-Qur'an menggambarkan bahwa berbagai tumbuhan yang diciptakan Allah SWT memiliki bentuk yang serupa, namun menyimpan manfaat dan kandungan yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan kebesaran Allah dalam menciptakan keragaman hayati yang memberi manfaat bagi kehidupan manusia. Sebagaimana firman Allah dalam Q.S Al-An'am [6]: 99 sebagai berikut.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ
حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا
وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ٩٩

Artinya: “Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman.”

Menurut penjelasan dalam Tafsir Al-Misbah, ayat tersebut menggambarkan kebesaran Allah yang menurunkan air hujan dari langit untuk menumbuhkan berbagai jenis tanaman di bumi. Dari tanaman-tanaman tersebut, Allah

menghadirkan beragam jenis hasil bumi seperti biji-bijian, buah, dan dedaunan hijau yang memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Tafsir ini menegaskan bahwa keberagaman bentuk, warna, dan rasa pada tumbuhan merupakan wujud dari kesempurnaan ciptaan Allah yang menunjukkan keagungan-Nya. Selain berfungsi sebagai sumber makanan, tumbuhan juga memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan manusia (Shihab, 2002). Secara ilmiah, tumbuhan yang disebutkan dalam dalam ayat tersebut, serta berbagai jenis tanaman lain juga diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, vitamin C, dan karotenoid yang berperan dalam menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif pada tubuh, sehingga membantu mempertahankan kesehatan dan keseimbangan fisiologis manusia secara menyeluruh (Efendi dkk., 2025).

Konsep fiqih lingkungan dalam Islam berakar pada keyakinan bahwa manusia diciptakan sebagai khalifah di bumi dengan tanggung jawab untuk menjaga, melestarikan, dan memakmurkan alam semesta. Sebagai khalifah, manusia diperintahkan untuk mengelola sumber daya alam secara baik, menghindari tindakan berlebihan, serta tidak menimbulkan kerusakan yang dapat mengganggu keseimbangan ekosistem. Islam memandang pelestarian lingkungan sebagai bentuk ibadah dan ketaatan kepada Allah, sebab alam merupakan ciptaan-Nya yang harus dipelihara dengan amanah. Salah satu wujud nyata penerapan nilai kekhalifahan tersebut adalah dengan upaya manusia dalam meneliti dan memanfaatkan tumbuhan sebagai antioksidan (Hermanto, 2021). Dalam konteks ini, penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan daun mint (*Mentha piperita*) mencerminkan integrasi antara nilai-nilai keislaman dengan ilmu pengetahuan. Melalui penelitian tersebut,

manusia tidak hanya memperluas wawasan ilmiah, tetapi juga menjalankan tanggung jawab spiritual untuk menjaga kesehatan dan kelestarian alam yang merupakan bagian dari amanah Allah Swt di muka bumi.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksploratif dengan pendekatan deskriptif kuantitatif. Penelitian bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan serta kadar flavonoid total ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan daun mint (*Mentha piperita*), baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan mengukur penurunan intensitas warna larutan yang dibaca menggunakan ELISA *Reader* pada panjang gelombang tertentu, sehingga diperoleh nilai persentase inhibisi (% inhibisi) dan nilai IC₅₀ sebagai indikator kekuatan aktivitas antioksidan. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃ dan kuersetin sebagai standar pembanding, kemudian absorbansi sampel diukur menggunakan ELISA *Reader* dan hasil dinyatakan dalam satuan mg QE/g ekstrak. Data hasil pengujian dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada ekstrak tunggal maupun kombinasi, sehingga dapat diketahui kombinasi dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2026 sampai Maret 2026 di Laboratorium Organik, Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Ruang Biokimia, Laboratorium Kimia Terpadu, Universitas Islam Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas beker 100 ml, tabung erlenmeyer 10 ml, tabung erlenmeyer 100 ml, spatula, mikropipet, pipet ukur 3 ml, gelas ukur 100 ml, botol kaca gelap 100 ml, vortex, timbangan analitik, rotary evaporator, oven, waterbath, dan mikroplate 96 well, dan *ELISA Reader Diatek DR-200BC*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain serbuk simplisia daun teh hijau dan daun mint yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, alumunium foil, kertas saring, etanol 96%, aquades, serbuk kuersetin, Alumunium Klorida (AlCl_3), Natrium asetat (CH_3COONa), serbuk asam askorbat, dan serbuk DPPH (1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau dan Daun Mint

Pembuatan ekstrak serbuk simplisia daun teh hijau dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun teh hijau ditimbang ± 300 g, dimasukkan ke dalam wadah kaca, dan dicampur dengan 3 liter etanol 96% (1:10), kemudian direndam selama 3x24 jam sambil diaduk sesekali untuk memaksimalkan ekstraksi senyawa aktif. Larutan hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring, kemudian rendaman di remaserasi 1x24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan rotary evaporator suhu 50°C dengan kecepatan 45 rpm selama 60 menit hingga terbentuk ekstrak kental.

Ekstraksi serbuk simplisia daun mint diawali dengan proses destilasi uap untuk memisahkan minyak atsiri. Proses destilasi uap dilakukan dengan memasukkan ± 30 gr serbuk simplisia daun mint yang dibungkus dalam kertas saring ke dalam labu destilasi, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 300 ml ke dalam labu destilasi. Dipanaskan alat destilasi hingga mendidih dan proses destilasi dilakukan selama 3-4 jam sampai didapatkan minyak atsiri. Proses destilasi dilakukan secara bertahap sebanyak 10 kali untuk 300 gr serbuk simplisia daun mint. Campuran minyak atsiri dan hidrosol yang diperoleh dari proses destilasi dibiarkan selama 10–15 menit hingga kedua fase terpisah secara jelas. Setelah itu, bagian minyak atsiri yang terlihat diambil dengan menggunakan pipet, lalu ditempatkan dalam wadah terpisah dan disimpan dalam botol kaca gelap suhu 4°C.

Ampas serbuk simplisia daun mint yang sudah terdestilasi dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C selama 6-8 jam. Serbuk simplisia daun mint yang sudah kering diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam. Larutan hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring, kemudian rendaman di remaserasi 1x24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan rotary evaporator suhu 50°C dengan kecepatan 45 rpm selama 60 menit hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian diwaterbath pada suhu 50°C untuk menguapkan sisa pelarut.

3.4.2 Penetapan Kadar Flavonoid dengan Metode Kolorimetri

3.4.2.1 Pembuatan Larutan Stok Kuersetin dan Larutan Blanko

Sebanyak 0,01 g kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% hingga volume 100 mL untuk menghasilkan larutan stok 1000 ppm. Dari larutan ini dibuat seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dengan pengenceran

menggunakan etanol 96% hingga volume 10 mL. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 300 μL etanol 96%, 20 μL AlCl_3 10%, 20 μL Natrium asetat 1 M, dan 660 μL aquades. Campuran dari larutan tersebut divorteks dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Diambil 200 μL dan dimasukkan kedalam microplate 96 well untuk diukur nilai absorbansinya dengan panjang gelombang 300-500 nm.

3.4.2.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan kuersetin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm masing-masing diambil sebanyak 100 μL , kemudian ditambahkan 300 μL etanol 96%, 20 μL AlCl_3 10%, 20 μL Natrium asetat 1 M, dan 560 μL akuades. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur dengan memasukkan 200 μL sampe kedalam sumur microplate 96 well dan diukur menggunakan *Elisa Reader* dengan panjang gelombang 435 nm. Hasil yang diperoleh digunakan untuk membuat persamaan regresi linear dengan rumus

$$y = bx + a$$

di mana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah konsentrasi kuersetin.

3.4.2.3 Uji Kadar Flavonoid Ekstrak Tunggal dan Kombinasi

Sebanyak 0,01 g ekstrak tunggal daun teh hijau dan daun mint masing-masing ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%. Untuk ekstrak kombinasi rasio 1;1 ditimbang masing-masing 0,005 g ekstrak daun teh hijau dan daun mint, rasio 1:2 ditimbang 0,003 g ekstrak daun teh hijau dan 0,007 g ekstrak daun mint, rasio 2:1 ditimbang 0,007 g ekstrak daun teh hijau dan 0,003 g ekstrak daun mint, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% untuk memperoleh

konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan mengambil 1 mL larutan stok 1000 ppm dan menambahkannya dengan etanol 96% hingga volume 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm. Uji kadar flavonoid dilakukan dengan mengambil 100 μ L larutan ekstrak 100 ppm, kemudian ditambahkan 300 μ L etanol 96%, 20 μ L $AlCl_3$ 10%, 20 μ L Natrium asetat 1 M, dan 560 μ L akuades. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur dengan memasukkan 200 μ L kedalam sumur microplate 96 well dan diukur menggunakan *Elisa Reader* dengan panjang gelombang 435 nm.

3.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.4.3.1 Pembuatan Larutan Stok dan Kerja DPPH

Sebanyak 10 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% hingga volume mencapai 100 mL, sehingga terbentuk larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan ini kemudian disimpan di tempat gelap untuk menjaga kestabilannya. Dari larutan stok, diambil 40 mL dan ditambahkan etanol 96% sampai volume 100 mL sehingga diperoleh larutan kerja dengan konsentrasi 40 ppm.

3.4.3.2 Pembuatan Larutan Sampel dan Kontrol

Sebanyak 0,01 g ekstrak tunggal daun teh hijau dan daun mint masing-masing ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%. Untuk ekstrak kombinasi rasio 1;1 ditimbang masing-masing 0,005 g ekstrak daun teh hijau dan daun mint, rasio 1:2 ditimbang 0,003 g ekstrak daun teh hijau dan 0,007 g ekstrak daun mint, rasio 2:1 ditimbang 0,007 g ekstrak daun teh hijau dan 0,003 g ekstrak

daun mint, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% untuk memperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan mengambil 1 mL larutan stok 1000 ppm dan menambahkannya dengan etanol 96% hingga volume 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm.

Fraksi minyak atsiri yang diperoleh dari proses diemulsi dengan Tween 80 (1:1, v/v) dan diencerkan dengan etanol 96%. Larutan stok minyak atsiri yang telah diemulsi kemudian dibuat seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Kontrol positif dibuat dari vitamin C dengan seri konsentrasi 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm, yang berasal dari pengenceran larutan stok 100 ppm. Sementara itu, kontrol negatif diperoleh dari larutan DPPH 40 ppm yang dicampur dengan etanol 96% tanpa penambahan sampel.

3.4.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tunggal dan Kombinasi

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengambil 50 μ L dari setiap konsentrasi larutan sampel dan larutan kontrol vitamin C, kemudian ditambahkan dengan 100 μ L larutan DPPH 40 ppm. Campuran tersebut dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dengan kondisi gelap. Nilai absorbansi diukur menggunakan *Elisa Reader* dengan panjang gelombang 520 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dengan *ELISA Reader* digunakan untuk menghitung persentase inhibisi radikal bebas DPPH.

3.4.3.4 Perhitungan Nilai IC₅₀

Persentase inhibisi radikal DPPH dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel menggunakan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{Blanko} - A_{Sampel})}{A_{Blanko}} \times 100\%$$

Absorbansi larutan DPPH tanpa penambahan sampel digunakan sebagai kontrol (A_{blanko}), sedangkan absorbansi larutan DPPH dengan sampel merupakan nilai uji (A_{sampel}). Persentase inhibisi dihitung untuk setiap konsentrasi, kemudian diplot terhadap konsentrasi sampel. Nilai konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas (IC_{50}) ditentukan melalui titik potong grafik atau dengan analisis regresi linier antara konsentrasi dan persen inhibisi. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan regresi linier berbentuk:

$$y = bx + a$$

dengan y menyatakan % inhibisi dan x konsentrasi sampel. Nilai IC_{50} ditentukan dengan mensubstitusikan ke dalam persamaan regresi, sehingga diperoleh nilai yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} digunakan sebagai parameter pembentuk potensi aktivitas antioksidan antara ekstrak tunggal, kombinasi ekstrak, dan kontrol positif berupa asam askorbat.

3.5 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara kuantitatif dan deskriptif. Analisis kuantitatif dilakukan terhadap uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan penetapan kadar flavonoid total dengan metode $AlCl_3$. Nilai absorbansi sampel diukur menggunakan *ELISA Reader* untuk menghitung persen inhibisi (% inhibisi), menentukan nilai IC_{50} , serta kadar flavonoid yang dinyatakan dalam mg QE/g ekstrak. Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid

antara ekstrak tunggal dan kombinasi guna mengetahui rasio dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

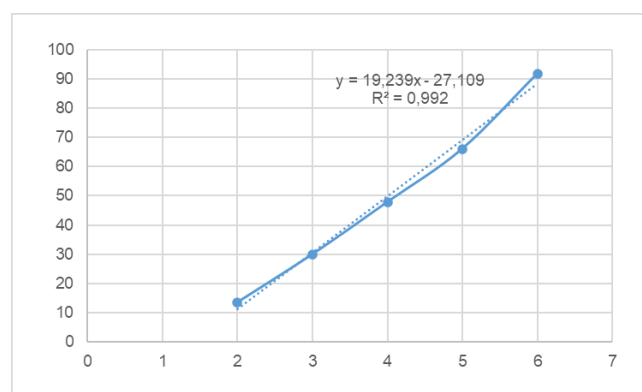
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint melalui metode DPPH dengan melihat nilai IC_{50} dan persentase inhibisi dari masing-masing sampel uji. Pada penelitian ini digunakan beberapa kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, serta kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1. Selain itu, pengujian kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$ juga dilakukan untuk mengetahui kontribusi senyawa bioaktif terhadap tingkat aktivitas antioksidan dan efek sinergis yang dihasilkan.

4.1 Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

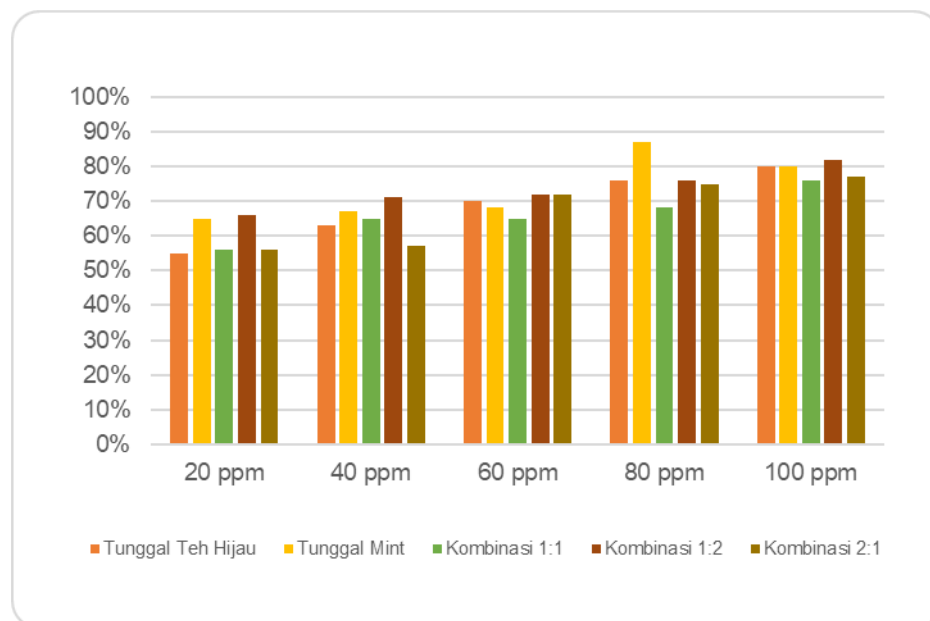
Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan sampel dalam menangkal radikal bebas. Metode DPPH dipilih karena sederhana, cepat, serta sensitif dalam mengukur aktivitas antioksidan berdasarkan perubahan warna larutan. Prinsip metode DPPH didasarkan pada reaksi reduksi radikal bebas melalui mekanisme pemberian atom hidrogen atau elektron (Gulcin & Alwasel, 2023). Dasar dari metode DPPH ini adalah dengan melihat perubahan warna pada larutan DPPH dari ungu pekat menjadi kuning setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, hal ini menandakan adanya reaksi reduksi radikal bebas DPPH menjadi bentuk yang stabil (Kedare & Singh, 2011). Mekanisme ini menunjukkan kemampuan antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas, dimana tingkat aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk persen inhibisi (% inhibisi).

Pengukuran absorbansi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan microplate ELISA Reader pada panjang gelombang 520 nm yang digunakan untuk menghitung persen inhibisi (% inhibisi) aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel. Persen inhibisi menunjukkan kemampuan sampel dalam menghambat radikal bebas DPPH, di mana semakin tinggi nilai persen inhibisi maka semakin kuat aktivitas antioksidan yang dimiliki (Sibua dkk., 2022). Sampel yang digunakan dalam pengujian terdiri atas ekstrak tunggal daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), ekstrak daun mint (*Mentha piperita* ‘chocolate’), serta kombinasi ekstrak dengan rasio 1:1, 1:2 dan 2:1 dengan penambahan minyak atsiri daun mint yang diperoleh dari proses destilasi. Penambahan minyak atsiri pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan rasio 1:1 (v/v) dilakukan untuk meningkatkan potensi aktivitas antioksidan melalui interaksi berbagai senyawa bioaktif yang terdapat dalam masing-masing sampel (Nguyen & Salwa, 2023). Minyak atsiri kaya akan senyawa volatil seperti mentol dan terpenoid, sementara ekstrak daun teh hijau banyak mengandung senyawa polifenol dan flavonoid. Selain itu, asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif karena diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan digunakan untuk menunjukkan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi pada pengujian DPPH (Khairunnisa dkk., 2025).



Gambar 4. 1 Grafik kurva standar asam askorbat

Kurva standar asam askorbat yang ditunjukkan oleh Gambar 4.1 menunjukkan adanya peningkatan persen inhibisi seiring bertambahnya konsentrasi. Pada konsentrasi 2 ppm diperoleh persen inhibisi sekitar 14%, kemudian meningkat hingga mencapai sekitar 90% pada konsentrasi 6 ppm. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,992 menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara konsentrasi dan aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH. Semakin tinggi konsentrasi asam askorbat, maka semakin besar kemampuan dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk meredam radikal bebas. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan mampu menangkap radikal bebas secara efektif. Berdasarkan kurva standar asam askorbat tersebut, selanjutnya dilakukan pengukuran persen inhibisi pada masing-masing sampel untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidannya dalam menghambat radikal bebas DPPH.



Gambar 4. 2 Grafik persen inhibisi DPPH sampel tunggal dan kombinasi

Berdasarkan Gambar 4.2, seluruh sampel menunjukkan peningkatan persen inhibisi seiring meningkatnya konsentrasi dari 20 ppm hingga 100 ppm. Pada konsentrasi 20 ppm, kombinasi 1:2 menunjukkan persen inhibisi tertinggi dibandingkan sampel lainnya. Peningkatan aktivitas antioksidan juga terlihat pada konsentrasi 40 ppm hingga 100 ppm, dimana kombinasi 1:2 tetap menunjukkan kemampuan penghambatan radikal bebas yang paling tinggi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint mampu menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal. Nilai persen inhibisi yang diperoleh pada masing-masing sampel kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} sebagai parameter kekuatan aktivitas antioksidan.

Tabel 4. 1 Nilai IC_{50} sampel dan pembanding

Sampel	IC_{50} (ppm)	Kategori
Asam askorbat	1,15	Sangat kuat
T:M (1:0)	15,54	Sangat kuat
T:M (0:1)	3,72	Sangat kuat
T:M (1:1)	11,45	Sangat kuat
T:M (1:2)	3,37	Sangat kuat
T:M (2:1)	16,55	Sangat kuat

Keterangan: T: Teh; M: Mint

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, diperoleh nilai IC_{50} pada masing-masing sampel yang menunjukkan kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH, sehingga semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil pada Tabel 4.2, seluruh sampel termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat karena

memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Nilai IC_{50} pada sampel kontrol positif asam askorbat sebesar 1,15 ppm, ekstrak tunggal teh hijau sebesar 15,54 ppm, ekstrak tunggal mint sebesar 3,72 ppm, kombinasi 1:1 sebesar 11,45 ppm, kombinasi 1:2 sebesar 3,37 ppm, dan kombinasi 2:1 sebesar 16,55 ppm. Ekstrak tunggal daun mint menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggal daun teh hijau. Kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint dengan perbandingan 1:2 menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat diantara rasio kombinasi lainnya dengan nilai IC_{50} sebesar 3,37 ppm.

Metode DPPH digunakan sebagai tolak ukur aktivitas antioksidan karena DPPH merupakan radikal bebas stabil yang dapat bereaksi dengan senyawa antioksidan. Reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning akibat terjadinya reduksi radikal DPPH (Kedare & Singh, 2011). Semakin besar kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan tersebut dinyatakan melalui nilai IC_{50} , dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu nilai < 50 ppm kategori sangat kuat, 50-100 ppm kategori kuat, 100-150 ppm kategori sedang, dan 150-200 ppm kategori lemah (Malik dkk., 2017).

Tingginya aktivitas antioksidan pada kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint dengan rasio 1:2 diduga dipengaruhi oleh proporsi daun mint yang lebih besar, sehingga senyawa aktif dari daun mint lebih dominan dalam menangkal radikal bebas. Daun mint mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti mentol, menton, terpenoid, dan asam rosmarinat yang diketahui memiliki kemampuan sebagai donor elektron maupun atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas

(Rosyidah dkk., 2024). Kandungan senyawa fenolik pada daun mint juga berkontribusi terhadap rendahnya nilai IC_{50} yang diperoleh pada kombinasi tersebut. Semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan semakin sedikit konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH, sehingga aktivitas antioksidan yang dimiliki semakin kuat. Berdasarkan penelitian aktivitas antioksidan oleh El Mainouni *et al.* (2024) nilai IC_{50} dari minyak atsiri daun mint sebesar 2,99 ppm dengan kategori sangat kuat. Hal ini membuktikan bahwa minyak atsiri itu sendiri memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas.

Kombinasi daun teh hijau, daun mint, dan minyak atsiri yang didapat menunjukkan adanya efek sinergis antara senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi rasio 1:2 memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan rasio kombinasi lainnya maupun ekstrak tunggal. Selain dipengaruhi oleh dominasi senyawa aktif dari daun mint, tingginya aktivitas antioksidan pada kombinasi tersebut juga diduga terjadi akibat adanya efek sinergis antara senyawa fenolik daun mint dan flavonoid dari daun teh hijau.

Daun teh hijau mengandung flavonoid utama berupa epigallocatechin gallate (EGCG) yang memiliki kemampuan tinggi dalam mendonorkan elektron untuk meredam radikal bebas, namun senyawa tersebut relatif mudah mengalami oksidasi setelah proses donasi elektron (Tan *et al.*, 2018). Asam rosmarinat dan terpenoid yang merupakan senyawa paling dominan dari daun mint mampu membantu menstabilkan radikal flavonoid yang terbentuk melalui mekanisme resonansi pada gugus orto-dihidroksi yang dimilikinya. Senyawa tersebut dapat mendonorkan elektron kembali kepada radikal flavonoid sehingga flavonoid dapat

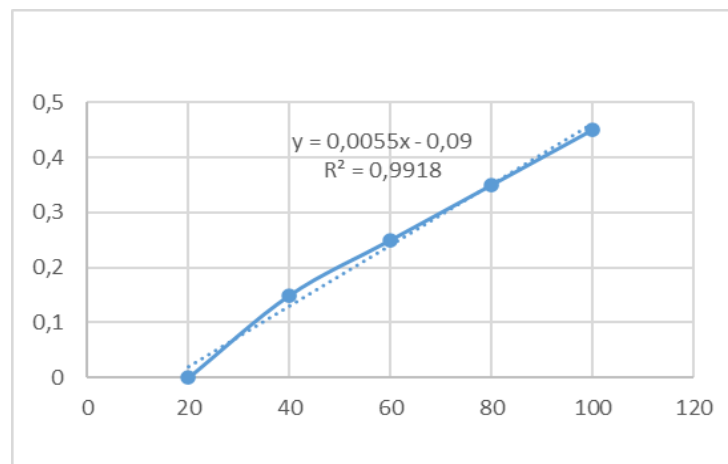
kembali berada dalam bentuk yang lebih stabil dan tetap aktif sebagai antioksidan (Ali *et al.*, 2013). Interaksi antar senyawa tersebut menyebabkan proses penghambatan radikal bebas berlangsung lebih efektif dan berkelanjutan, sehingga kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint mampu menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal. Oleh karena itu, dilakukan pengujian kadar flavonoid total untuk mengetahui hubungan kandungan flavonoid terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

4.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida (AlCl_3) dengan kuersetin sebagai larutan standar, sedangkan pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan *ELISA Reader*. Penambahan AlCl_3 10% bertujuan untuk membentuk kompleks dengan senyawa flavonoid sehingga menghasilkan warna yang lebih jelas dan mudah diukur. Reaksi tersebut juga menyebabkan terjadinya efek batokromik, yaitu pergeseran serapan ke panjang gelombang yang lebih tinggi sehingga dapat terbaca pada daerah sinar tampak. Selain itu, penambahan kalium asetat 1 M berfungsi untuk menjaga kestabilan kompleks yang terbentuk agar hasil pengukuran lebih optimal (Azizah dkk., 2020). Kompleks yang terbentuk terjadi karena adanya ikatan antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 serta gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 senyawa flavonoid (Chang *et al.*, 2002). Setelah seluruh pereaksi ditambahkan, larutan didiamkan selama 30 menit sebelum dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan *ELISA Reader*.

Penetapan kadar flavonoid total pada sampel daun teh hijau dan daun mint dilakukan untuk menentukan jumlah senyawa flavonoid yang terdapat pada sampel

dan dinyatakan sebagai Quercetin Equivalent (QE). Berdasarkan grafik kalibrasi, diperoleh persamaan regresi absorbansi larutan standar flavonoid pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm yaitu $y = 0,0055x - 0,09$. Hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi yang dihasilkan. Linieritas pengukuran diperkuat oleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9918 yang mendekati angka 1, sehingga persamaan regresi tersebut dapat dinyatakan linier (Gambar 4.3).



Gambar 4. 3 Grafik kurva baku kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan larutan standar kuersetin konsentrasi 40 ppm dan diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 435 nm. Panjang gelombang tersebut kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi larutan standar dan sampel ekstrak karena berada pada rentang serapan maksimum kompleks flavonoid- $AlCl_3$. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan standar, maka nilai absorbansi yang diperoleh juga semakin meningkat (Syamsul dkk., 2019). Data absorbansi yang dihasilkan kemudian digunakan untuk membuat kurva kalibrasi untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Kurva yang diperoleh menunjukkan hubungan

linear sesuai dengan hukum Lambert-Beer, yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar nilai absorbansinya. Nilai koefisien determinasi yang mendekati 1 menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki linearitas yang baik sehingga dapat digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel (Azizah dkk., 2014). Kadar total flavonoid dihitung dengan mensubstitusikan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear kurva standar kuersetin yaitu $y = 0,0055x + 0,09$, dimana nilai x merupakan jumlah mg ekuivalen kuersetin (QE) pada tiap gram sampel. Hasil penetapan kadar flavonoid total ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Kadar Flavonoid Total pada Sampel

Sampel	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	Kategori
T:M (1:0)	67,66	Tinggi
T:M (0:1)	43,19	Tinggi
T:M (1:1)	69,81	Tinggi
T:M (1:2)	59,81	Tinggi
T:M (2:1)	72,65	Tinggi

Keterangan: T: Teh; M: Mint

Berdasarkan tabel 4.3 hasil penetapan kadar flavonoid total, seluruh sampel berada pada kategori flavonoid tinggi dengan variasi nilai pada setiap perlakuan. Ekstrak tunggal teh hijau menunjukkan kadar flavonoid total sebesar 67,66 mg QE/g, sedangkan ekstrak tunggal mint sebesar 43,19 mg QE/g. Pada sampel kombinasi, nilai tertinggi diperoleh pada rasio teh hijau:mint 2:1 yaitu 72,65 mg QE/g, kemudian rasio 1:1 sebesar 69,81 mg QE/g, dan rasio 1:2 sebesar 59,81 mg QE/g. Penetapan kadar flavonoid pada kombinasi ekstrak dengan rasio 2:1 menghasilkan kadar flavonoid total tertinggi dengan nilai 72,65 mg QE/g. Kadar

flavonoid total dikategorikan menjadi 3, yaitu <10 mg QE/g kategori rendah, 10-20 mg QE/g kategori sedang, dan >20 mg QE/g kategori tinggi (Mariama dkk., 2025). Tingginya kadar flavonoid pada kombinasi tersebut dapat terjadi karena adanya kontribusi senyawa flavonoid dari kedua ekstrak yang saling melengkapi.

Kandungan flavonoid yang tinggi pada ekstrak teh hijau berkaitan dengan keberadaan senyawa katekin yang merupakan komponen utama dari kelompok flavonoid. Senyawa katekin seperti epikatekin (EC), epigallocatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), serta epigallocatekin galat (EGCG) yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan kuat. Berdasarkan penelitian oleh Nurtina dkk. (2022) daun teh hijau mengandung senyawa EGCG sebesar 60,945%, dimana kadar EGCG pada tanaman dikatakan tinggi jika kadar >50% (Nain *et al.*, 2022). Daun mint juga memiliki senyawa bioaktif yang berperan penting sebagai aktivitas antioksidan dengan komponen utama dari senyawa golongan terpenoid seperti mentol dan menton. Selain itu, senyawa dari golongan polifenol seperti flavonoid dan asam rosmarinat juga berperan dalam menangkap radikal bebas (Wei *et al.*, 2023). Penelitian oleh Hudz *et al.* (2023) menunjukkan kadar total flavonoid pada daun mint sekitar 29-53 mg QE/g. Perbedaan kadar flavonoid antar sampel dikarenakan adanya perbedaan komponen utama dari daun teh hijau dan daun mint, sehingga pada sampel kombinasi juga menghasilkan kadar yang sesuai dengan perbandingan rasio.

4.3 Hubungan Kadar Flavonoid Total Terhadap Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total tertinggi diperoleh pada kombinasi teh hijau dan daun mint rasio 2:1, sedangkan aktivitas antioksidan paling kuat ditunjukkan oleh kombinasi rasio 1:2 yang memiliki nilai

IC₅₀ paling rendah. Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa tingginya kadar flavonoid total tidak selalu berkorelasi secara langsung dengan kekuatan aktivitas antioksidan. Flavonoid diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan melalui mekanisme donor atom hidrogen maupun elektron untuk menstabilkan radikal bebas sehingga dapat menghambat proses oksidasi. Namun, kemampuan antioksidan tidak hanya dipengaruhi oleh kandungan flavonoid, melainkan juga oleh keberadaan senyawa bioaktif lain serta interaksi antar senyawanya. Menurut Tan *et al.* (2018), aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh berbagai mekanisme, seperti kemampuan menangkap radikal bebas, menghambat reaksi oksidasi berantai, serta mempertahankan kestabilan senyawa aktif lainnya.

Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hydrogen atau elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak dapat merusak sel. Senyawa flavonoid juga mampu menghambat reaksi oksidasi yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas baru. Selain itu, flavonoid dapat mengikat ion logam yang berperan dalam pembentukan radikal bebas. Kemampuan tersebut menyebabkan flavonoid berperan penting dalam meningkatkan aktivitas antioksidan (Tan *et al.*, 2018).

Kadar flavonoid total yang lebih tinggi pada teh hijau diduga karena adanya kandungan flavonoid yang dominan, terutama epigallocatechin gallate (EGCG). Sementara daun mint diketahui lebih banyak mengandung senyawa terpenoid dan komponen minyak atsiri seperti menthol, menthone, dan pulegone. Tanaman dari genus *Mentha* memiliki kandungan utama berupa minyak atsiri dan terpenoid yang berperan penting terhadap berbagai aktivitas biologis, termasuk aktivitas antioksidan (Wei *et al.*, 2023). Dominasi senyawa non-flavonoid pada daun mint

menyebabkan hasil penetapan kadar flavonoid total lebih rendah dibandingkan teh hijau, terutama karena metode AlCl_3 yang digunakan hanya mendeteksi senyawa flavonoid. Rendahnya kadar flavonoid pada daun mint tidak selalu menunjukkan rendahnya aktivitas antioksidan, karena senyawa terpenoid dan minyak atsiri juga memiliki kemampuan antioksidan yang cukup tinggi. Penelitian oleh El Maimouni *et al.* (2024) membuktikan bahwa minyak atsiri daun mint memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena kandungan senyawa terpenoid aktif di dalamnya.

Perbedaan kandungan senyawa dominan antara teh hijau dan daun mint menyebabkan mekanisme antioksidan keduanya juga berbeda. Flavonoid pada teh hijau bekerja terutama melalui mekanisme donor elektron dan pengkelatan ion logam sehingga dapat mencegah pembentukan radikal bebas. Sementara itu, senyawa terpenoid pada daun mint lebih berperan dalam menghambat proses oksidasi berantai dan menstabilkan radikal bebas melalui struktur hidrokarbon tidak jenuh yang dimilikinya. Senyawa polifenol dan terpenoid memiliki mekanisme antioksidan yang berbeda, namun dapat menghasilkan efek sinergis apabila digunakan secara bersamaan (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2021). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Kurin *et al.* (2025) yang menunjukkan bahwa kombinasi daun teh hijau dan daun mint mampu meningkatkan aktivitas antioksidan melalui interaksi antara senyawa polifenol dan komponen aktif peppermint. Selain itu, EGCG sebagai senyawa katekin utama pada teh hijau diketahui mudah mengalami degradasi akibat proses oksidasi. Nain *et al.* (2022) menjelaskan bahwa stabilitas katekin sangat mempengaruhi kemampuan antioksidan ekstrak teh hijau. Oleh karena itu, keberadaan senyawa aktif dari daun mint diduga membantu

mempertahankan kestabilan EGCG sehingga aktivitas antioksidan kombinasi menjadi lebih optimal meskipun kadar flavonoid totalnya tidak paling tinggi.

Pengujian pada penelitian ini diawali dengan minyak atsiri daun mint yang dipisahkan terlebih dahulu dengan proses destilasi uap, kemudian ditambahkan kembali pada sampel yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan. Minyak atsiri tersebut tidak diuji dalam pengujian kadar flavonoid total. Hal ini dapat mempengaruhi hasil penelitian, terutama pada peningkatan aktivitas antioksidan sampel yang mengandung mint. Penambahan minyak atsiri dapat memberikan kontribusi terhadap penurunan nilai IC_{50} , karena minyak atsiri pada daun mint diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

El Maimouni *et al.* (2024) menyebutkan bahwa kandungan menthol, menthon, dan senyawa terpenoid lain pada minyak atsiri berperan efektif dalam menangkap radikal bebas. Selain itu, daun mint juga mengandung asam rosmarinat yang diketahui memiliki kemampuan antioksidan melalui mekanisme penangkapan reactive oxygen species (ROS) dan penghambatan oksidasi seluler (Fachrureza *et al.*, 2019). Dengan demikian, hubungan antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan pada penelitian ini tidak menunjukkan hubungan yang sepenuhnya linear karena aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh keseluruhan senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel seperti flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, maupun interaksi sinergis antara senyawa aktif dari teh hijau dan daun mint.

4.4 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Al-Qur'an

Hasil penelitian kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat serta kandungan flavonoid total yang

tinggi. Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan alami dengan cara mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Selain flavonoid, daun mint juga mengandung senyawa terpenoid dan minyak atsiri seperti menthol dan menthone yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Kombinasi kedua tanaman ini berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan alami yang bermanfaat bagi kesehatan. Pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber senyawa alami telah dijelaskan dalam Al-Qur'an, salah satunya pada Surah 'Abasa [80] ayat 24–32:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۚ ٢٤ أَنَّا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ۚ ٢٥ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ۚ ٢٦ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ۚ ٢٧ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ۚ ٢٨ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ۚ ٢٩ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ۚ ٣٠ وَفَاكِهَةً وَأَبًّا ۚ ٣١ مَتَاعًا ۚ ٣٢ لَكُمْ وَلَٰئِعَامِكُمْ ۚ ٣٢

Artinya: “Maka, hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya (24) Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah (25) Kemudian, Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya (26) Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian (27) anggur, sayur-sayuran (28) zaitun, pohon kurma (29) kebun-kebun (yang) rindang (30) buah-buahan, dan rerumputan (31) (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu (32)”

Menurut penjelasan dalam Tafsir Al-Misbah, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan dari langit sebagai sumber kehidupan bagi seluruh makhluk hidup di bumi. Dari air tersebut kemudian tumbuh berbagai jenis tanaman yang memiliki bentuk, warna, rasa, serta manfaat yang berbeda-beda. Keberagaman tumbuhan yang diciptakan Allah SWT menunjukkan kebesaran dan kesempurnaan ciptaan-Nya, karena setiap tumbuhan memiliki karakteristik serta kandungan yang berbeda sesuai dengan manfaatnya masing-masing bagi kehidupan manusia (Shihab, 2002). Selain dimanfaatkan sebagai sumber pangan, tumbuhan juga memiliki manfaat dalam bidang kesehatan karena mengandung berbagai

senyawa bioaktif seperti flavonoid, polifenol, terpenoid, dan minyak atsiri yang berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa-senyawa tersebut mampu membantu menangkal radikal bebas dan mengurangi kerusakan oksidatif di dalam tubuh sehingga dapat membantu menjaga kesehatan (Efendi dkk., 2025). Penjelasan tersebut juga diperkuat dalam firman Allah SWT pada Surah Luqman [30] ayat 10:

حَلَقَ السَّمُوتَ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوُهَا وَالْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ١٠

Artinya; “Dia menciptakan langit tanpa tiang (seperti) yang kamu lihat dan meletakkan di bumi gunung-gunung (yang kukuh) agar ia tidak mengguncangkanmu serta menyebarkan padanya (bumi) segala jenis makhluk bergerak. Kami (juga) menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami menumbuhkan padanya segala pasangan yang baik.”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan berbagai tumbuhan yang baik dan bermanfaat bagi kehidupan manusia. Kata “tumbuh-tumbuhan yang baik” menunjukkan bahwa tumbuhan tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan pangan, tetapi juga memiliki manfaat lain, termasuk dalam bidang kesehatan (Hamka, 2021). Daun teh hijau dan daun mint merupakan tumbuhan yang mengandung senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun teh hijau dan daun mint menghasilkan aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total yang berbeda pada setiap rasio kombinasi. Kombinasi rasio 1:2 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ paling rendah, sedangkan kadar flavonoid total tertinggi diperoleh pada kombinasi rasio 2:1. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tidak selalu dipengaruhi oleh tingginya kadar flavonoid total,

tetapi juga dipengaruhi oleh senyawa lain seperti terpenoid dan komponen minyak atsiri yang terdapat pada daun mint sehingga dapat bekerja secara sinergis dalam menangkal radikal bebas.

Keberagaman kandungan dan manfaat pada setiap tumbuhan menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan potensi yang berbeda-beda untuk dimanfaatkan manusia. Oleh karena itu, penelitian mengenai pemanfaatan bahan alam seperti daun teh hijau dan daun mint sebagai sumber antioksidan alami dapat menjadi salah satu bentuk pengembangan ilmu pengetahuan dalam memanfaatkan kekayaan alam yang telah diciptakan Allah SWT bagi kehidupan manusia.

BAB V PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) menunjukkan kemampuan antioksidan yang sangat kuat berdasarkan pengujian metode DPPH. Semua sampel memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, sehingga termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Kombinasi dengan rasio 1:2 menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 3,37 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan proporsi daun mint yang lebih besar mampu meningkatkan efektivitas penghambatan radikal bebas dan memberikan efek sinergis yang lebih optimal dibandingkan ekstrak tunggal maupun kombinasi rasio lainnya.
2. Hasil penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa seluruh sampel berada dalam kategori tinggi. Kombinasi ekstrak dengan rasio 2:1 menghasilkan kadar flavonoid total paling besar, yaitu 72,65 mg QE/g. Tingginya kadar flavonoid tidak selalu sejalan dengan kekuatan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada kombinasi ekstrak dipengaruhi oleh berbagai senyawa bioaktif lain yang terdapat pada daun mint, seperti terpenoid, minyak atsiri, dan asam rosmarinat, yang turut berperan dalam meningkatkan kemampuan penangkapan radikal bebas melalui mekanisme sinergis antar senyawa aktif.

5.2 Saran

Saran penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Formulasi minuman antioksidan disarankan menggunakan perbandingan daun teh hijau dan daun mint sebesar 1:2.
2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mempertimbangkan penggunaan metode ekstraksi maupun metode analisis yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.
3. Diperlukan analisis statistik untuk mengetahui perbedaan hasil antar rasio secara valid dan signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, H. M., Abo-Shady, A., Sharaf Eldeen, H. A., Soror, H. A., Shousha, W. G., Abdel-Barry, O. A., & Saleh, A. M. (2013). Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 53.
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), 39-48.
- Arumsari, K. (2021). Aktivitas Antioksidan Dan Sifat Sensoris Teh Celup Campuran Bunga Kecombrang, Daun Mint Dan Daun Stevia. *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 9(2), 128-140.
- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review Artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica/Emblica officinalis*). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6), 674-687.
- Azizah, Z., Elvis, F., Zulharmita, Z., Misfadhila, S., Chandra, B., & Yetti, R. D. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Rutin pada Daun Ubi Kayu (*Manihot Esculenta Crantz*) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), 90-98.
- Candrasari, S., Clarissa, E. C., Kusumawardani, F., Pattymahu, G. C. H., Eugenia, J. F., Cahyadi, L. B., Syabanera, N. D., & Silvian, V. (2023). Pemulihan Dampak Pencemaran Udara Bagi Kesehatan Masyarakat Indonesia. *Professional: Jurnal Komunikasi dan Administrasi Publik*, 10(2), 849-854.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.
- Chen, Y. J., Meng, Q., Zeng, L., & Tong, H. R. (2018). Phylogenetic and morphological characteristics of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease on *Camellia sinensis* in China. *Australasian Plant Pathology*, 47(3), 335-342.
- Czerwińska, K., & Radziejewska, I. (2024). Rosmarinic acid: A potential therapeutic agent in gastrointestinal cancer management-A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 11704.
- Dhaouadi, K., Belkhir, M., Raboudi, F., Mecha, E., Ghommeme, I., Bronze, M. D. R., Ammar, H., & Fattouch, S. (2016). Pomegranate and mint syrup addition to green tea beverage stabilized its polyphenolic content and biofunctional potentials during refrigerated storage. *Journal of food science and technology*, 53(2), 1164-1177.
- Efendi, R., Khusna, N., Faizah, N., & Fitriyani, D. (2025). Buah zaitun prespektif Al-Qur'an & sains (Telaah Q.S. Al-An'am ayat 99 dalam tafsir Mafatihul Ghayb). *Al-Iqro': Journal of Islamic Studies*, 2(1), 96-103.
- El Hassani, F. Z. (2020). Characterization, activities, and ethnobotanical uses of *Mentha* species in Morocco. *Heliyon*, 6(11).

- El Maimouni, M. A., El Amrani, S., Fadil, M., Menyiy, N., Bouslamti, R., Annemer, S., Lairini, S., & El Ouali Lalami, A. (2024). Chemical Composition, Antioxidant Activity, and Multivariate Analysis of Four Moroccan Essential Oils: *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum*, and *Thymus zygis*. *Scientific World Journal*, 2024(1), 1-16.
- Endriyatno, N. C., Sasongko, A. D. W., Julian, R. A., & Zatalina, F. (2023). Edukasi Pengolahan Daun Mint Sebagai Minuman Teh Antioksidan Di Kelurahan Banyurip Kota Pekalongan. *Jurnal Abdimas PHB*, Vol 6(3).
- Fachrureza, M., Samsu, N., & Rudijanto, A. (2019). Efek Penambahan Asam Rosmarinat pada Tikus Diabetes yang Diberikan Telmisartan terhadap Penurunan Ekspresi NF- κ B Glomerulus. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 6(3), 122-128.
- Fadhilah, Z. H., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah kandungan senyawa katekin dan Epigallocatekin Galat (EGCG) Sebagai Antioksidan Pada Berbagai Jenis Teh. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 31-44.
- Fauziah, N., Ismayukha, N., Jumianita, N., Ramadhania, A., Kulla, P. D. K., Mutiawati, M., & Fajriati, R. (2024). Formulasi Sediaan Permen Herbal Dengan Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale*) Dan Daun Mint (*Mentha piperita* L.) Sebagai Anti Mual Pada Ibu Hamil. *Journal Of Healthcare Technology And Medicine*, 10(2), 296-304.
- Fitri, N. K., & Kusumawardhani, A. R. (2023). Review artikel: Uji Efektivitas Ekstrak Daun Teh Hijau sebagai Antibakteri. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1100-1105.
- Gloriana, E. M., Sagita, L., & Siswanto. (2021). Karakterisasi Flavonoid Daun Kitolod dengan Metode Maserasi dan Enkapsulasi. *Chempro*, 2(2), 44-51.
- Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Gupta, P., Kumar, A., Verma, D., Soni, R., Kumar, S., Singh, J., Singh, S., R., Patel, A., & Venkatesh, U. S. (2024). The healing herbs of traditional medicine: a review of the phytochemical and pharmacological significance of *Mentha piperita* (peppermint). *European Journal of Biomedical*, 11(11), 378-386.
- Gutiérrez-del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., ... & Lombó, F. (2021). Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. *Antioxidants*, 10(8), 1264.
- Hamka. (2021). *Tafsir Al-Azhar (Jilid 7)*. Jakarta: Pustaka Nasional.
- Hermanto, A. (2021). *Fiqh Ekologi*. Malang: CV. Literasi Nusantara Abadi.
- Hermawan, F. A., & Ferdinal, F. (2023). Kapasitas Total Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) RM Sm). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 894-898.
- Hidajat, D., Tilana, F. G., & Kusuma, I. G. B. S. A. (2023). Dampak Polusi Udara terhadap Kesehatan Kulit. *Jurnal Kedokteran (Unram Medical Journal)*, 12(4), 371-378.
- Hudz, N., Kobylinska, L., Pokajewicz, K., Horčinová Sedláčková, V., Fedin, R., Voloshyn, M., Myskiv, I., Brindza, J., Wieczorek, P. P., & Lipok, J. (2023). *Mentha piperita*: Essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. *Molecules*, 28(21), 7444.

- Isrul, M., Adnan, A., & Islamia, M. N. (2025). Eksplorasi Berbagai Fungsi Mitokondria Melalui Pendekatan Meta-Analisis dalam Biologi Seluler. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 6(2), 301-311.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal Of Food Science And Technology*, 48(4), 412-422.
- Khairunnisa, I. Z., Fitriah, W. O. I., Wijayanti, P. M., Syafrie, F. A., & Alani, F. W. (2025). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Rambusa (*Passiflora feotida* L) Dengan Metode DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 4(6), 450-460.
- Khurshid, Z., Zafar, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S., & Naseem, M. (2016). Green tea (*Camellia sinensis*): Chemistry and oral health. *The Open Dentistry Journal*, 10, 166.
- Khutami, C., Sumiwi, S. A., Khairul Ikram, N. K., & Muchtaridi, M. (2022). The effects of antioxidants from natural products on obesity, dyslipidemia, diabetes and their molecular signaling mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2056.
- Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Okoń, S., Ociepa, T., & Król, B. (2017). Morphological and genetic diversity among peppermint (*Mentha× piperita* L.) cultivars. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 16(3), 151-161.
- Korczowska-Łacka, I., Słowikowski, B., Piekut, T., Hurła, M., Banaszek, N., Szymanowicz, O., Jagodzinski, Pawel P., Kozubski, W., Permoda-Pachuta, A., & Dorszewska, J. (2023). Disorders of endogenous and exogenous antioxidants in neurological diseases. *Antioxidants*, 12(10), 1811.
- Kurin, E., Hajská, M., Kostovčíková, E., Dokupilová, K., Mučaji, P., Nagy, M., ... & Bittner Fialová, S. (2025). Unveiling Synergistic Antioxidant Effects of Green Tea and Peppermint: Role of Polyphenol Interactions and Blend Preparation. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6257.
- Malik, A., Ahmad, A. R., & Najib, A. (2017). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Teh Hijau Dan Jati Belanda. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 238-240.
- Mariama, A. A. (2025). Penetapan Kadar Flavonoid, Fenolik Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Rumbia (*Metroxylon sagu* Rottb) Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(2).
- Nain, C. W., Mignolet, E., Herent, M. F., Quetin-Leclercq, J., Debier, C., Page, M. M., & Larondelle, Y. (2022). The catechins profile of green tea extracts affects the antioxidant activity and degradation of catechins in DHA-rich oil. *Antioxidants*, 11(9), 1844.
- Nguyen, M. M., & Karboune, S. (2023). Combinatorial interactions of essential oils enriched with individual polyphenols, polyphenol mixes, and plant extracts: Multi-antioxidant systems. *Antioxidants*, 12(2), 486.
- Novita, D. W., & Falyani, S. A. (2021). Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *Jurnal Kesehatan Islam*, 10(2), 53-56.
- Nurtina, O. W., Wahyudin, E., & Kunci, K. (2022). Korelasi kadar EGCG (Epigallocatechin Gallate) dan aktivitas antibakteri dari plasma tikus

- (*Rattus norvegicus*) terhadap *Staphylococcus aureus* setelah pemberian fraksi etanol teh hijau dosis tunggal. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 79-83.
- Rahmadi, A. & Bohari. (2018). *Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. T., & Shekhar, H. U. (2012). Oxidative stress and human health. *Advances in bioscience and biotechnology*, 3(7), 997-1019.
- Rosyidah, D. (2024). Kualitas Sensorik Dan Kimia Minuman Fungsional Berbasis Daun Melinjo Dengan Penambahan Daun Mint Dan Lemon. *Journal of Food Safety and Processing Technology (JFSPT)*, 2(1), 92-106.
- Safnowandi. (2022). Pemanfaatan Vitamin C Alami sebagai Antioksidan pada Tubuh Manusia. *Biocaster: Jurnal Kajian Biologi*, 2(1), 6-13.
- Samosir, S. R., Auliafendri, N., & Naibaho, M. I. (2024). Uji Efektivitas Antioksidan Dari Kombinasi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) Dan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) Dengan Menggunakan Metode Dpph (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 7(2), 105-113.
- Sayuti, K., & Rina Y. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas Univerity Press.
- Setiawan, V., Phangestu, S., Soetikno, A. G., Arianti, A., & Kohar, I. (2021). Rapid screening analysis of antioxidant activities in green tea products using DPPH and FRAP. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(1), 9-14.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an (Vol. 4)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. (2005). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an (Vol. 10)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sibua, P., Simbala, H., & Datu, O. S. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) dengan Menggunakan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *PHARMACON*, 11(2), 1408-1416.
- Singh, N., Sahjlan, P., & Yadav, S. S. (2024). Phytochemistry and anticancer therapeutics of *Camellia sinensis* (Green tea). *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 12, 100484.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, 34(7), 795-800.
- Syahbudin, A., Widyastuti, A., Masruri, N. W., & Meinata, A. (2019, November). Morphological classification of tea clones (*Camellia sinensis*, theaceae) at the mount lawu forest, east java, indonesia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 394 (1).
- Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y., & Nurhasnawati, H. (2019). Penetapan kadar flavonoid ekstrak daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal riset kefarmasian indonesia*, 1(1), 11-20.
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W. P. P., & Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1162.
- Tumilaar, S. G., Hardianto, A., Dohi, H., & Kurnia, D. (2024). 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. *Journal of Chemistry*, 2024(1), 5594386.
- Wei, H., Kong, S., Jayaraman, V., Selvaraj, D., Soundararajan, P., & Manivannan, A. (2023). *Mentha arvensis* and *Mentha × piperita*-vital herbs with myriads of pharmaceutical benefits. *Horticulturae*, 9(2), 224.
- Widyaningrum, N., Sumarwati, T., & Sukryana, W. S. (2019). Pengaruh vitamin C dan vitamin E terhadap stabilitas EGCG (epigallocatechin gallate) pada fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 80-85.
- Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Saat Maserasi Terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 273-280.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Hasil Rendemen Sampel

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Daun Teh Hijau} = \frac{79,4 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 26,5\%$$

$$\text{Daun Mint} = \frac{21,7 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 7,23\%$$

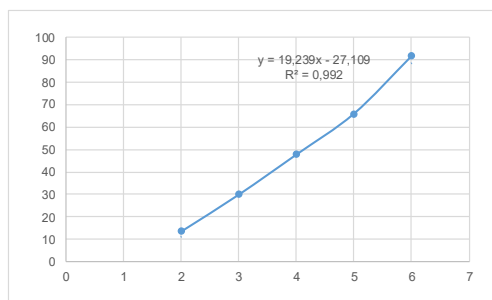
Lampiran 2. Data % inhibisi DPPH

Sampel	Absorbansi			Rata-rata	%INHIBISI	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
T:M (1:0)	0,285	0,287	0,314	0,295	55,13285714	15,54
	0,235	0,246	0,259	0,247	63,00428571	
	0,188	0,227	0,207	0,207	70,40342857	
	0,152	0,153	0,168	0,158	76,07085714	
	0,127	0,117	0,140	0,128	80,00657143	
T:M (0:1)	0,223	0,256	0,246	0,242	64,89342857	3,72
	0,209	0,255	0,230	0,231	67,09742857	
	0,203	0,239	0,224	0,222	68,042	
	0,185	0,184	0,204	0,191	70,87571429	
	0,126	0,193	0,139	0,153	80,164	
T:M (1:1)	0,281	0,266	0,310	0,286	55,76257143	11,45
	0,222	0,268	0,245	0,245	65,05085714	
	0,208	0,253	0,229	0,230	67,25485714	
	0,205	0,241	0,226	0,224	67,72714286	
	0,153	0,157	0,169	0,160	75,91342857	
T:M (1:2)	0,215	0,204	0,237	0,219	66,15285714	3,37
	0,184	0,191	0,203	0,193	71,03314286	
	0,180	0,182	0,198	0,187	71,66285714	
	0,153	0,156	0,169	0,159	75,91342857	
	0,117	0,157	0,129	0,134	81,58085714	
T:M	0,281	0,282	0,310	0,291	55,76257143	16,55

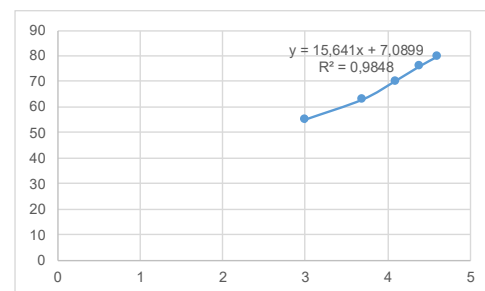
(2:1)	0,276	0,279	0,304	0,286	56,54971429
	0,178	0,184	0,196	0,186	71,97771429
	0,158	0,192	0,174	0,175	75,12628571
	0,144	0,140	0,159	0,148	77,33028571

Lampiran 3. Kurva Regresi Nilai IC₅₀

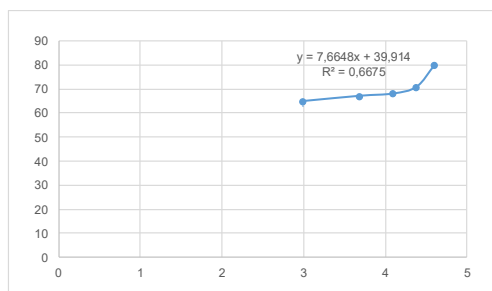
Kurva regresi K(+)



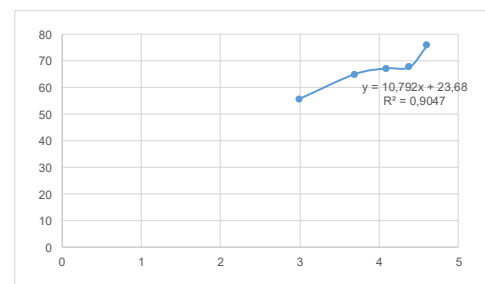
Kurva Regresi T:M (1:0)



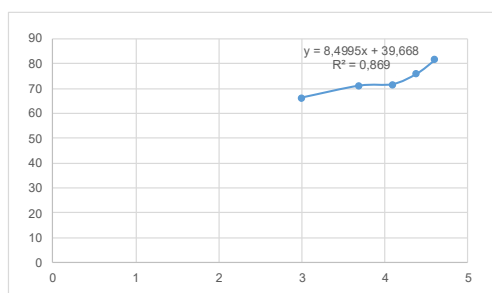
Kurva Regresi T:M (0:1)



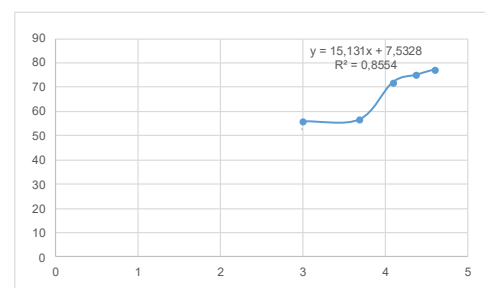
Kurva Regresi T:M (1:1)



Kurva Regresi T:M (1:2)



Kurva Regresi T:M (2:1)



Lampiran 4. Data Kadar Flavonoid Total

Sampel	Absorbansi			Flavonoid	Flavonoid	Rata-rata
	U1	U2	U3	Awal	Total	
T:M (1:0)	0,301	0,331	0,364	0,182	49,45	67,668
	0,375	0,413	0,454	0,264	64,36	
	0,387	0,426	0,469	0,277	66,72	
	0,442	0,486	0,535	0,337	77,63	
	0,454	0,5	0,549	0,351	80,18	
T:M (0:1)	0,214	0,269	0,261	0,098	34,18	43,194
	0,265	0,266	0,259	0,1133	36,9	
	0,294	0,236	0,26	0,113	36,9	
	0,299	0,323	0,326	0,166	46,54	
	0,332	0,42	0,442	0,248	61,45	
T:M (1:1)	0,337	0,366	0,408	0,220	56,36	69,814
	0,333	0,463	0,403	0,249	61,63	
	0,421	0,471	0,51	0,317	74	
	0,428	0,478	0,518	0,325	75,27	
	0,434	0,571	0,526	0,360	81,81	
T:M (1:2)	0,291	0,321	0,353	0,172	47,45	59,812
	0,301	0,331	0,364	0,182	49,45	
	0,307	0,338	0,372	0,189	50,72	
	0,423	0,465	0,511	0,316	73,81	
	0,442	0,486	0,535	0,337	77,63	
T:M (2:1)	0,334	0,331	0,375	0,196	52	72,652
	0,356	0,391	0,43	0,242	60,36	
	0,455	0,401	0,551	0,319	74,36	
	0,484	0,532	0,585	0,384	86	
	0,506	0,557	0,612	0,408	90,54	

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

5.1 Proses Destilasi



Simplisia daun teh hijau dan daun mint



Penimbangan serbuk simplisia daun mint



Proses destilasi uap



Minyak atsiri dan hydrosol hasil destilasi uap



Pengeringan ampas serbuk simplisia daun mint

5.2 Proses Ekstraksi



Penimbangan serbuk simplisia daun teh hijau dan daun mint



Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi



Penyaringan ekstrak



Filtrat hasil penyaringan



Pemekatan
ekstrak dengan
rotary evaporator



Ekstrak daun teh
hijau

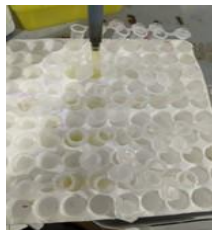


Ekstrak daun
mint

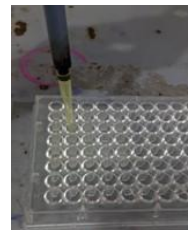
5.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total



Sampel uji kadar
flavonoid total



Pembuatan larutan
konsentrasi



Penambahan
reagen



Pembacaan sampel
menggunakan
ELISA *Reader*

5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DDPH



Sampel uji
aktivitas
antioksidan



Larutan K⁺ asam
askorbat



Minyak atsiri
daun mint



Penambahan
minyak atsiri
kedalam sampel



Penambahan
reagen DPPH



Proses homogenasi
sampel dan reagen



Proses inkubasi
sampel dan
reagen



Pembacaan sampel
menggunakan
ELISA *Reader*



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110005
Nama : IZZA NAILATUL FITRIYAH
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Dr. KIPTIYAH, M.Si
Dosen Pembimbing 2 : Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KOMBINASI DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L.) DAN DAUN MINT (*Mentha pipenta* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	29 Agustus 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi judul penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
2	05 September 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	ACC judul penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	12 September 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	19 September 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	26 September 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	03 Oktober 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	ACC BAB I & III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	14 Oktober 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Konsultasi & ACC integrasi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	17 Oktober 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	23 Oktober 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Konsultasi integrasi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	24 Oktober 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	07 November 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB I, II, III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	14 November 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	ACC Ujian Proposal	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	05 Desember 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi revisi proposal	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	19 Desember 2025	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
15	19 Januari 2026	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
16	22 Januari 2026	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
17	25 Februari 2026	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
18	02 Maret 2026	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
19	04 Maret 2026	Dr. KIPTIYAH, M.Si	Konsultasi BAB 4	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
20	21 Mei 2026	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Konsultasi integrasi BAB 4	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
21	25 Mei 2026	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	ACC integrasi BAB 4	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

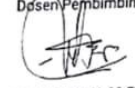
Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2


Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.Si

Malang,

Dosen Pembimbing 1


Dr. KIPTIYAH, M.Si





**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Izza Nailatul Fitriyah
NIM : 220602110005
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Flavonoid Total Pada Kombinasi Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dan Daun Mint (*Mentha piperita* L.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	22%	h

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001