

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Antihiperurisemia Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) pada Mencit Putih Jantan

Reza Fathurrahman¹, Nur Rahayuningsih², Diana S. Zustika¹

¹Prodi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

²Prodi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

Abstrak

Meningkatnya kasus hiperurisemia yang berkaitan dengan stres oksidatif mendorong pemanfaatan bahan alami yang memiliki aktivitas antioksidan sekaligus antihiperurisemia. Salah satu bahan alam yang berpotensi dikembangkan adalah rumput laut *Eucheuma spinosum* karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berkhasiat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antihiperurisemia ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* serta menentukan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar asam urat. Tahapan penelitian meliputi ekstraksi menggunakan etanol 96%, skrining fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, serta pengujian antihiperurisemia pada mencit yang diinduksi kalium oksonat. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenol. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 52,219 ppm yang termasuk kategori antioksidan kuat. Pada pengujian *in vivo*, ekstrak terbukti mampu menurunkan kadar asam urat secara signifikan dengan efek yang meningkat seiring kenaikan dosis. Dosis paling efektif diperoleh pada pemberian 120 mg/20g BB mencit dengan persentase penurunan sebesar 32,71%, meskipun aktivitasnya masih berada di bawah allopurinol dengan dosis 100 mg sebagai kontrol positif dengan persentase penurunan sebesar 35,16%. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak *Eucheuma spinosum* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan alami dalam membantu terapi hiperurisemia. Namun demikian, penelitian lanjutan masih diperlukan untuk meningkatkan efektivitas ekstrak dan mengkaji mekanisme kerjanya secara lebih mendalam.

Kata kunci: antioksidan, antihiperurisemia, DPPH, *Eucheuma spinosum*, kalium oksonat, stres oksidatif

Evaluation of the Antioxidant Activity of *Eucheuma spinosum* Extract by the DPPH Assay and Its Antihyperuricemic Activity in Male White Mice

Abstract

The rising prevalence of hyperuricemia associated with oxidative stress has driven the exploration of natural substances with antioxidant and antihyperuricemic properties. *Eucheuma spinosum* seaweed is recognized for its bioactive compounds that may serve as potential natural therapeutic agents. This study aimed to evaluate the antioxidant and antihyperuricemic activities of the ethanol extract of *Eucheuma spinosum* and to identify the most effective dose in reducing uric acid levels. The study procedures included extraction using 96% ethanol, phytochemical screening, antioxidant activity assessment using the DPPH method, and antihyperuricemic testing in potassium oxonate-induced mice. Phytochemical analysis indicated the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and phenolic compounds in the extract. The antioxidant assay showed that the extract possessed strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 52.219 ppm. In the *in vivo* experiment, the extract significantly decreased uric acid levels in a dose-dependent manner. The most effective dose was observed at 120 mg/20 g of body weight in mice, resulting in a 32.71% reduction, although its activity was still lower than that of allopurinol at a dose of 100 mg, which served as the positive control and resulted in a 35.16% reduction. These findings suggest that *Eucheuma spinosum* extract has promising potential as a natural agent for hyperuricemia management. Nevertheless, further studies are required to optimize its effectiveness and to elucidate its mechanisms of action more comprehensively.

Keywords: antioxidant, antihyperuricemic, DPPH, *Eucheuma spinosum*, oxidative stress, potassium oxonate

Korespondensi: Nur Rahayuningsih, Prodi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia, *e-mail:* nurrahayuningsih@universitas-bth.ac.id

Naskah diterima: 9 Mei 2026; direvisi: 20 Juni 2026; diterima untuk diterbitkan: 24 Agustus 2026

Tersedia daring: 31 Agustus 2026

Pendahuluan

Peningkatan prevalensi penyakit degeneratif yang berhubungan dengan stres oksidatif dan gangguan metabolisme telah menjadi salah satu perhatian penting dalam bidang kesehatan global. Salah satu gangguan metabolisme yang sering terjadi adalah hiperurisemia, yaitu kondisi ketika kadar asam urat dalam darah meningkat dan dapat berkontribusi terhadap terjadinya gout serta gangguan fungsi ginjal.¹ Kondisi hiperurisemia diketahui berhubungan dengan peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), yang dapat berkontribusi terhadap terjadinya stres oksidatif serta kerusakan jaringan.² Kondisi tersebut mendorong pengembangan senyawa alami yang berpotensi memberikan aktivitas antioksidan dan antihiperurisemia menjadi sangat penting untuk diteliti lebih lanjut.

Sumber-sumber alami, terutama yang berasal dari laut seperti rumput laut, telah banyak diteliti sebagai sumber senyawa bioaktif. Rumput laut diketahui memiliki beragam senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memberikan efek biologis, di antaranya flavonoid, senyawa fenolik, tanin, serta alkaloid.^{3,4} *Eucheuma spinosum* termasuk salah satu spesies rumput laut yang banyak ditemukan dan memiliki persebaran luas di perairan Indonesia, yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan potensi sebagai bahan fungsional alami.^{5,6} Kehadiran senyawa bioaktif ini sangat penting dalam berkontribusi terhadap efek farmakologis, termasuk fungsinya sebagai antioksidan alami.

Antioksidan berperan dalam menghambat kerusakan oksidatif pada sel dengan cara menstabilkan radikal bebas melalui pemberian atom hidrogen maupun elektron.⁷ Sejumlah penelitian terdahulu melaporkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid tidak

hanya bertindak sebagai antioksidan, serta berpotensi menekan aktivitas enzim xanthine oxidase, yang merupakan salah satu enzim yang terlibat dalam pembentukan asam urat.^{8,9} Namun, efektivitas senyawa alami dalam efektivitas dalam menurunkan kadar asam urat umumnya belum setara dengan obat sintetis seperti allopurinol, yang secara khusus bertindak sebagai penghambat xanthine oxidase.¹⁰ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa terapi yang kurang optimal dapat secara signifikan menghambat tercapainya target pengobatan.¹¹

Hiperurisemia adalah keadaan ketika konsentrasi asam urat dalam sirkulasi darah meningkat akibat adanya ketidakseimbangan dalam metabolisme purin. Pada jalur metabolisme tersebut, peran enzim xanthine oxidase ialah mengubah prekursor purin menjadi asam urat dan secara bersamaan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). Akumulasi ROS yang berlebihan dapat memicu stres oksidatif, menimbulkan kerusakan pada jaringan, serta memperkuat respons inflamasi yang selanjutnya berperan dalam terjadinya hiperurisemia dan gout.^{12,13} Antioksidan berfungsi membantu menstabilkan radikal bebas serta memperkuat mekanisme pertahanan antioksidan di dalam tubuh, sehingga mampu menekan efek yang ditimbulkan oleh stres oksidatif. Di samping memiliki aktivitas antioksidan, sejumlah metabolit sekunder, terutama flavonoid dan polifenol, diketahui memiliki kemampuan potensial untuk menghambat aktivitas xanthine oxidase, yang pada akhirnya dapat menekan pembentukan asam urat.^{14,15} Dengan demikian, aktivitas antioksidan berpotensi membantu pengendalian hiperurisemia melalui pengurangan stres oksidatif dan penghambatan pembentukan asam urat.

Meskipun memiliki potensi yang besar, masih terdapat perbedaan pendapat mengenai mekanisme kerja dan efektivitas ekstrak rumput laut dalam penurunan kadar

asam urat. Hasil penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa aktivitas antioksidan memiliki hubungan langsung dengan efek antihiperurisemia,¹⁶ sementara penelitian lain menunjukkan bahwa hubungan ini bersifat tidak langsung dan bisa dipengaruhi berbagai faktor seperti metode ekstraksi, jenis pelarut, dan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak.^{17,18} Perbedaan faktor-faktor tersebut menyebabkan hasil penelitian yang diperoleh menjadi bervariasi dan belum sepenuhnya menunjukkan kesimpulan yang konsisten.

Walaupun sejumlah penelitian sebelumnya telah mengkaji dan melaporkan potensi aktivitas antioksidan pada *Eucheuma spinosum* serta kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan efek farmakologis, kajian mengenai aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* masih terbatas. Selain itu, belum terdapat penelitian yang mengevaluasi hubungan aktivitas antioksidan dan aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* secara terintegrasi. Dengan demikian, aspek kebaruan yang ditawarkan dalam penelitian ini terletak pada pengkajian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang dikaitkan dengan aktivitas antihiperurisemia pada mencit yang diinduksi kalium oksonat. Penelitian ini penting dilakukan sebagai upaya pengembangan sumber daya hayati laut Indonesia menjadi kandidat antihiperurisemia alami yang berpotensi lebih aman dan mudah diperoleh. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengkaji potensi aktivitas antioksidan serta efek antihiperurisemia dari ekstrak etanol *Eucheuma spinosum*.

Metode

Pelaksanaan penelitian bertempat di Laboratorium Farmakognosi, Laboratorium Farmakologi, serta Laboratorium Hewan Uji pada Program Studi S1 Farmasi,

Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Jawa Barat. Penelitian dilaksanakan selama enam bulan, yaitu mulai Desember 2025 sampai Mei 2026. Seluruh proses penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium dengan mengacu pada prosedur yang telah ditentukan.

Sampel rumput laut terlebih dahulu diidentifikasi di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, dengan nomor identifikasi 23/HB/11/2023. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa sampel penelitian teridentifikasi sebagai *Eucheuma spinosum*. Tahapan ini bertujuan untuk memverifikasi identitas sampel dan memastikan bahwa bahan uji yang digunakan telah sesuai dengan kebutuhan penelitian serta memiliki dasar identifikasi yang dapat dipertanggungjawabkan.

Persetujuan etik untuk pelaksanaan penelitian ini diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya yang tercantum dalam surat persetujuan dengan nomor 099-01/E.01/KEPK-BTH/IV/2026. Seluruh tahapan penelitian yang menggunakan hewan uji dilaksanakan mengacu pada prinsip kesejahteraan hewan, dengan upaya meminimalkan stres serta rasa sakit selama proses penelitian berlangsung.

Pembuatan Ekstrak Rumput Laut

Rumput laut *Eucheuma spinosum* segar dibersihkan terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran serta sisa garam yang masih menempel. Setelah itu, bahan dikeringkan dengan panas matahari kemudian dilanjutkan dengan oven pada fase akhir karena cuaca yang buruk, setelah itu diperoleh simplisia kering sebanyak 500 gram. Simplisia tersebut kemudian digiling sampai menjadi serbuk halus, lalu diekstraksi dengan

metode maserasi menggunakan perbandingan 1:10. Sebanyak 5 liter etanol 96% digunakan sebagai pelarut, dengan penggantian pelarut dilakukan setiap 24 jam selama tiga hari pada suhu ruang. Filtrat hasil maserasi selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50–60°C hingga diperoleh ekstrak dengan konsistensi pekat. Penggunaan metode ini bertujuan untuk mempertahankan kestabilan senyawa aktif yang mudah rusak akibat pemanasan.³

Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dalam ekstrak *Eucheuma spinosum*, dilakukan pengujian skrining fitokimia. Pemeriksaan terhadap alkaloid dilakukan melalui penambahan beberapa pereaksi, termasuk pereaksi Dragendorff yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga, Mayer dengan endapan berwarna putih kekuningan, dan Wagner yang menghasilkan endapan cokelat. Senyawa flavonoid diidentifikasi berdasarkan perubahan warna menjadi kuning hingga jingga setelah penambahan magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl). Hasil positif tanin ditandai dengan munculnya endapan sebagai respons terhadap penambahan pereaksi gelatin. Sementara itu, keberadaan saponin diketahui melalui pembentukan busa stabil setelah sampel dikocok. Senyawa fenolik diidentifikasi berdasarkan perubahan warna setelah penambahan pereaksi besi(III) klorida (FeCl₃).⁸

Uji Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan pada ekstrak *Eucheuma spinosum* dilakukan menggunakan metode DPPH. Ekstrak dan vitamin C sebagai pembanding positif dilarutkan dalam metanol dan dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi. Konsentrasi vitamin C yang digunakan meliputi 2–7 ppm, yaitu 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 ppm, sedangkan ekstrak diuji pada konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm.

Masing-masing konsentrasi dianalisis dengan tiga kali pengulangan. Sebanyak 2 mL larutan dari setiap konsentrasi dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH 50 ppm, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dengan perlindungan dari cahaya sebelum dilakukan pengukuran.

Setelah proses inkubasi selesai, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Larutan kontrol terdiri atas campuran metanol dan larutan DPPH 50 ppm tanpa penambahan sampel. Persentase inhibisi dihitung berdasarkan Persamaan (1). Nilai IC₅₀ ditentukan melalui analisis regresi linear menggunakan persamaan $y = ax + b$, dengan y menyatakan persentase inhibisi dan x menyatakan konsentrasi sampel. Nilai koefisien determinasi (R^2) digunakan untuk mengevaluasi kesesuaian model regresi dalam menentukan nilai IC₅₀.⁷

$$\text{Persamaan (1) \%Inhibisi} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{sampel}}{Abs_{kontrol}} \times 100$$

Uji Antihiperurisemia

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) berumur 6–8 minggu dengan berat badan kurang lebih 20 gram. Seluruh mencit terlebih dahulu menjalani aklimatisasi selama tujuh hari dan diberikan pakan serta air minum secara *ad libitum*. Menjelang perlakuan, hewan uji menjalani puasa selama 24 jam dengan tetap memperoleh akses terhadap air minum. Setelah aklimatisasi, mencit kemudian dibagi secara acak menjadi enam kelompok, masing-masing beranggotakan empat ekor.

Kondisi hiperurisemia diinduksi menggunakan kalium oksonat (Sigma-Aldrich, USA) yang dilarutkan dalam NaCl fisiologis 0,9% dan diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 300 mg/kg

BB mencit.¹⁰ Pengukuran kadar asam urat dilakukan dua jam setelah induksi untuk memastikan terjadinya kondisi hiperurisemia pada hewan uji.

Kelompok kontrol normal tidak diberikan induksi kalium oksonat dan hanya menerima suspensi Na-CMC 0,5% sebagai pembawa. Kelompok kontrol negatif diberikan induksi kalium oksonat dan suspensi Na-CMC 0,5%. Kelompok kontrol positif diberikan induksi kalium oksonat dan allopurinol (Kimia Farma, Indonesia) dosis 0,26 mg/20g BB mencit yang disuspensikan dalam Na-CMC 0,5%. Pemberian ekstrak *Eucheuma spinosum* pada kelompok perlakuan dilakukan setelah ekstrak disuspensikan dalam Na-CMC 0,5%, dengan dosis masing-masing sebesar 30, 60, dan 120 mg/20 g BB mencit.

Seluruh bahan uji diberikan melalui rute oral menggunakan sonde lambung, dengan volume pemberian sebesar 0,2 mL/20 g BB dan disesuaikan secara proporsional dengan bobot masing-masing mencit. Pengukuran kadar asam urat dilakukan menggunakan alat EasyTouch® GCU (Taiwan) dengan metode biosensor elektrokimia menggunakan darah kapiler dari ujung ekor mencit. Penggunaan alat ini dipilih karena bersifat praktis, membutuhkan volume sampel yang kecil, serta telah digunakan pada berbagai penelitian *in vivo* sebagai metode skrining kadar asam urat pada hewan percobaan. Kadar asam urat ditentukan pada tiga tahapan pengamatan, meliputi kondisi sebelum induksi, dua jam pascainduksi kalium oksonat, serta satu jam setelah pemberian perlakuan.

Analisis Statistik

Data kadar asam urat dinyatakan dalam bentuk rata-rata $\pm$ standar deviasi (mean $\pm$ standard deviation/SD). Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar kelompok perlakuan dalam menurunkan kadar asam urat.

Tahap awal analisis data dilakukan

melalui uji normalitas Shapiro–Wilk untuk mengetahui pola distribusi data. Data dianggap berdistribusi normal apabila nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, kesamaan varians antar kelompok diuji menggunakan uji Levene. Data dinyatakan memiliki varians yang homogen apabila nilai p yang diperoleh $> 0,05$.

Data yang telah memenuhi kedua asumsi statistik selanjutnya dianalisis dengan *one-way* ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%, dengan nilai $p < 0,05$ sebagai batas signifikansi. *one-way* ANOVA digunakan untuk mengevaluasi perbedaan rerata antar kelompok perlakuan. Jika diperoleh hasil yang signifikan, pengujian dilanjutkan melalui *post hoc least significant difference* (LSD) guna mengetahui pasangan kelompok yang memiliki perbedaan rerata secara bermakna. Seluruh proses analisis statistik dilakukan dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 26 (IBM SPSS Statistics 26, USA).

Hasil

Hasil Ekstraksi

Sebanyak 500 gram simplisia kering *Eucheuma spinosum* diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 96%. Proses tersebut menghasilkan 8,136 gram ekstrak dalam bentuk pekat, dengan persentase rendemen sebesar 1,6%. Rendemen yang diperoleh tergolong rendah apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Syafruddin *et al.*¹⁹ melaporkan rendemen ekstrak etanol 70% *Eucheuma spinosum* sebesar 5,8%.¹⁹ Sedangkan Hamrun *et al.* memperoleh rendemen sebesar 4,2%.⁶ Rendahnya rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ukuran partikel simplisia yang masih kasar, kandungan air pada bahan, serta metode ekstraksi yang digunakan.⁴ Metode maserasi diketahui memiliki efisiensi ekstraksi yang lebih rendah dibandingkan metode lain seperti

Tabel 1. Hasil Skrinning Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Rumput Laut

Identifikasi	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)
Fenol	(+)	(+)
Steroid&Triterpenoid	(-)	(-)
Quinon	(-)	(-)
Monosekuiterpen	(-)	(-)

Keterangan: (+) senyawa teridentifikasi, (-) senyawa tidak teridentifikasi

sokletasi atau ultrasonikasi karena proses difusi pelarut berlangsung lebih lambat.³

Selain itu, penggunaan etanol 96% sebagai pelarut menyebabkan senyawa yang terekstraksi lebih dominan bersifat semipolar hingga nonpolar. Beberapa komponen aktif rumput laut yang bersifat sangat polar kemungkinan tidak terekstraksi secara optimal. Meskipun demikian, penggunaan etanol dipilih karena relatif aman, mudah menguap, serta dapat menjaga kestabilan senyawa bioaktif yang memiliki sensitivitas terhadap paparan suhu tinggi.³

Skrinning Fitokimia

Analisis fitokimia terhadap ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* mengidentifikasi keberadaan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta fenol. Namun, pengujian tidak menunjukkan adanya senyawa dari golongan steroid-triterpenoid, kuinon, maupun monosekuiterpen dalam ekstrak tersebut. Pengujian yang dilakukan hanya bersifat kualitatif untuk mengetahui keberadaan senyawa, sehingga penelitian ini belum mencakup penetapan kadar total fenolik dan total flavonoid dalam ekstrak. Meskipun demikian, keberadaan senyawa-senyawa tersebut mengindikasikan potensi aktivitas biologis, khususnya sebagai antioksidan dan antihiperurisemia. Keberadaan

berbagai metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Eucheuma spinosum* berpotensi memberikan aktivitas farmakologis, terutama sebagai antioksidan dan antihiperurisemia.

Peran flavonoid dan senyawa fenolik sebagai antioksidan berkaitan dengan kemampuannya mentransfer atom hidrogen atau elektron kepada radikal bebas, sehingga reaktivitas radikal dapat ditekan dan kestabilannya meningkat.²⁰ Tanin turut berperan dalam aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas serta menghambat reaksi oksidatif. Di sisi lain, alkaloid dan saponin memiliki berbagai aktivitas biologis yang berpotensi menunjang efek terapeutik, termasuk dalam memberikan efek antiinflamasi dan melindungi sel dari kerusakan yang berkaitan dengan stres oksidatif.⁹

Temuan yang diperoleh dalam penelitian ini memperkuat hasil studi terdahulu mengenai keberadaan beragam senyawa bioaktif pada *Eucheuma spinosum*, yang menunjukkan potensinya untuk dikembangkan sebagai bahan alam fungsional. Keberadaan metabolit sekunder di dalamnya diduga turut berperan dalam menghasilkan aktivitas antioksidan serta memberikan efek terhadap penurunan kadar asam urat yang diperoleh dalam penelitian ini.⁵

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel (Mean $\pm$ SD)	% Inhibisi	IC ₅₀
Vitamin C	1	1,245	0,791 $\pm$ 0,001	36,492	4,207
	2		0,730 $\pm$ 0,001	41,392	
	3		0,689 $\pm$ 0,001	44,685	
	4		0,652 $\pm$ 0,001	47,657	
	5		0,582 $\pm$ 0,001	53,279	
	6		0,517 $\pm$ 0,00	58,473	
Ekstrak Rumput Laut	20	0,902	0,771 $\pm$ 0,001	15,560	52,219
	30		0,688 $\pm$ 0,001	23,688	
	40		0,576 $\pm$ 0,000	36,142	
	50		0,474 $\pm$ 0,001	47,450	
	60		0,379 $\pm$ 0,000	57,982	
	70		0,261 $\pm$ 0,000	71,064	

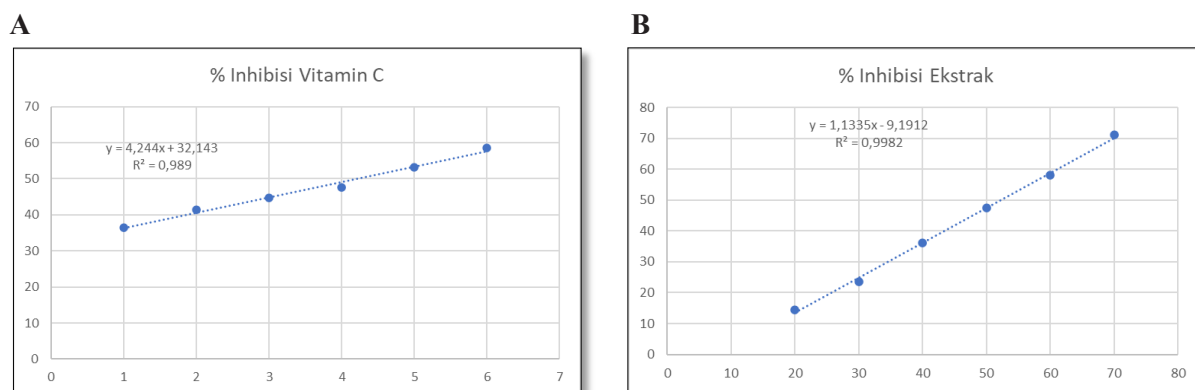
Aktivitas Antioksidan

Metode DPPH dipilih untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan karena memiliki tahapan pengujian yang sederhana, waktu analisis yang relatif singkat, serta banyak digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa dalam menangkalkan radikal bebas.⁷ Hasil penentuan *operating time* menunjukkan bahwa absorbansi vitamin C berada dalam kondisi stabil pada menit ke-20 hingga ke-60, sedangkan ekstrak menunjukkan kestabilan absorbansi pada menit ke-26 hingga ke-31. Oleh karena itu, waktu inkubasi 30 menit dipilih karena berada pada fase kestabilan reaksi sehingga hasil pengukuran lebih optimal.²¹

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara triplo ($n=3$), dan data absorbansi dinyatakan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi (SD). Berdasarkan hasil pengujian, aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ sebesar 52,219 ppm, sehingga masuk dalam klasifikasi antioksidan kuat. Vitamin C yang

digunakan sebagai kontrol positif memiliki IC₅₀ sebesar 4,207 ppm dan termasuk kategori antioksidan sangat kuat.¹⁶ Kategori tersebut mengacu pada rentang IC₅₀, yaitu <50 ppm untuk aktivitas sangat kuat, 50–100 ppm untuk aktivitas kuat, 100–150 ppm untuk aktivitas sedang, 150–200 ppm untuk aktivitas lemah, dan >200 ppm untuk aktivitas sangat lemah. Perbedaan nilai IC₅₀ tersebut menandakan bahwa kemampuan antioksidan ekstrak masih berada di bawah vitamin C. Kondisi ini diduga karena ekstrak mengandung campuran berbagai senyawa bioaktif dengan tingkat aktivitas yang berbeda-beda, sehingga efek antioksidannya tidak seoptimal senyawa murni seperti vitamin C.¹⁶ Data hasil pengujian aktivitas antioksidan ditampilkan pada Tabel 2 dan divisualisasikan pada Gambar 1.

Hubungan positif antara konsentrasi ekstrak dan persentase inhibisi terlihat dari meningkatnya kemampuan penghambatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Kondisi ini menunjukkan bahwa peningkatan



Gambar 1. Hubungan Konsentrasi Vitamin C dan Persentase Inhibisi pada Uji DPPH (A); Hubungan Konsentrasi Ekstrak dan Persentase Inhibisi pada Uji DPPH (B)

konsentrasi ekstrak dapat meningkatkan kapasitas senyawa aktif dalam meredam radikal bebas DPPH.²² Aktivitas antioksidan tersebut kemungkinan berkaitan dengan kandungan flavonoid dan senyawa fenolik yang berperan sebagai donor elektron maupun atom hidrogen. Interaksi tersebut menyebabkan radikal bebas berada dalam kondisi yang lebih stabil dan pada akhirnya mengurangi reaktivitasnya.

Meskipun demikian, terdapat variasi absorbansi DPPH antar pengukuran yang diduga dipengaruhi oleh faktor teknis, terutama stabilitas larutan DPPH. Larutan DPPH diketahui sensitif terhadap cahaya, suhu, dan lama penyimpanan sehingga dapat mengalami degradasi.⁷ Pengukuran yang dilakukan pada hari berbeda memungkinkan terjadinya variasi absorbansi kontrol yang berdampak pada hasil persen inhibisi. Dengan demikian, diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan kondisi pengujian yang lebih terstandarisasi dan terkontrol agar validitas serta reproduibilitas hasil penelitian dapat ditingkatkan.

Hasil penelitian secara keseluruhan mengindikasikan adanya peluang pemanfaatan ekstrak *Eucheuma spinosum* sebagai sumber antioksidan yang berasal dari bahan alam. Aktivitas tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh kandungan flavonoid dan

senyawa fenolik dalam ekstrak.²³

Aktivitas Antihiperurisemia

Pemberian kalium oksonat pada mencit terbukti mampu membuat kadar asam urat naik sehingga kondisi hiperurisemia berhasil terbentuk. Hasil pengukuran pada kontrol negatif memperlihatkan bahwa kadar asam urat rata-rata hanya mengalami sedikit perubahan, yaitu dari 8,3 mg/dL sebelum perlakuan menjadi 8,23 mg/dL setelah perlakuan, atau setara dengan penurunan 0,90%. Berbeda dengan kelompok tersebut, pemberian allopurinol pada kontrol positif menghasilkan penurunan kadar asam urat dari 9,1 mg/dL menjadi 5,9 mg/dL, dengan persentase penurunan sebesar 35,16%.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh kelompok yang memperoleh ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* mengalami penurunan kadar asam urat. Pada kelompok 30 mg/20 g BB, kadar asam urat berubah dari 7,7 mg/dL menjadi 6,03 mg/dL, dengan penurunan sebesar 21,69%. Sementara itu, pemberian dosis 60 mg/20 g BB menurunkan kadar asam urat dari 8,7 mg/dL menjadi 6,43 mg/dL dengan persentase penurunan 26,09%. Pada dosis tertinggi, yaitu 120 mg/20 g BB, kadar asam urat berkurang dari 8,3 mg/dL menjadi 5,83 mg/dL atau mengalami penurunan sebesar 32,71%.

Tabel 3. Persentase Peningkatan dan Penurunan Kadar Asam Urat

Kelompok	Normal (Mean±SD)	Positif (Mean±SD)	Negatif (Mean±SD)	EEES 30 (Mean±SD)	EEES 60 (Mean±SD)	EEES 120 (Mean±SD)
Sebelum Induksi	4,88 ±0,30	5,45 ±0,81	4,40 ±0,95	3,80 ±1,27	5,33 ±0,86	4,13 ±0,84
Setelah Induksi	5,0 ±0,30	9,1 ±0,54	8,3 ±0,70	7,7 ±0,56	8,7 ±0,62	8,3 ±0,65
Setelah Perlakuan	4,88 ±0,30	5,90 ±0,34	8,23 ±0,70	6,03 ±0,40	6,43 ±0,33	5,83 ±0,33
%Peningkatan	2,46%	66,97%	88,64%	102,63%	63,23%	100,97%
%Penurunan	2,50%	35,16%	0,90%	21,69%	26,09%	32,71%

Keterangan: EEES = ekstrak etanol *Echeuma spinosum* per mg dalam 20g/BB mencit

Dengan demikian, dosis 120 mg/20 g BB menghasilkan penurunan kadar asam urat paling tinggi dibandingkan kedua dosis lainnya. Rerata kadar asam urat dan persentase penurunannya secara lengkap ditampilkan pada Tabel 3.

Hubungan antara dosis ekstrak dan efek penurunan kadar asam urat dianalisis melalui pendekatan dosis-respons. Berdasarkan hasil analisis, peningkatan dosis *Eucheuma spinosum* diikuti oleh kecenderungan peningkatan persentase penurunan kadar asam urat. Regresi linier yang dilakukan menghasilkan nilai R^2 sebesar 0,9867, yang berarti bahwa dosis ekstrak memberikan kontribusi sebesar 98,67% terhadap variasi penurunan kadar asam urat, sementara 1,33% variasi lainnya kemungkinan berasal dari faktor lain yang tidak dianalisis dalam model. Nilai R^2 tersebut menunjukkan adanya korelasi dosis-respons yang sangat kuat antara pemberian ekstrak *Eucheuma spinosum* dan efek antihiperurisemia. Hubungan dosis dengan persentase penurunan kadar asam urat ditampilkan dalam bentuk grafik pada Gambar 2.

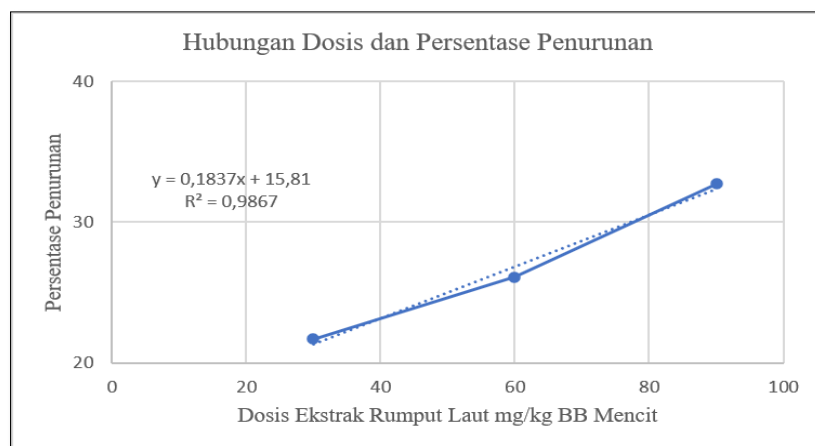
Analisis Statistik

Berdasarkan uji Shapiro–Wilk, seluruh kelompok menunjukkan nilai p di atas 0,05 sehingga distribusi data memenuhi asumsi normalitas. Selanjutnya, hasil

Levene's test memperoleh nilai $p > 0,05$ yang mengindikasikan bahwa varians antar kelompok bersifat homogen. Oleh karena kedua asumsi telah terpenuhi, analisis statistik dapat dilanjutkan dengan *one-way ANOVA*.

Berdasarkan uji *one-way ANOVA*, terdapat perbedaan bermakna pada kadar asam urat antar kelompok yang diteliti, ditunjukkan oleh nilai $F=27,601$ dengan $p < 0,001$. Untuk mengetahui kelompok yang menyebabkan perbedaan tersebut, dilakukan analisis lanjutan menggunakan post-hoc LSD. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan terhadap semua kelompok lainnya dengan nilai $p < 0,001$. Hasil tersebut mengonfirmasi keberhasilan induksi dalam meningkatkan kadar asam urat serta menunjukkan adanya kemampuan ekstrak *Eucheuma spinosum* dalam menurunkan kadar asam urat.

Berdasarkan analisis LSD, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok yang mendapatkan allopurinol dengan kelompok ekstrak dosis 1, 2, dan 3. Nilai p yang diperoleh masing-masing adalah 0,681; 0,096; dan 0,805. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa efek penurunan kadar asam urat dari ketiga dosis ekstrak secara statistik sebanding dengan kelompok kontrol positif. Selain itu, tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok dosis



Gambar 2. Hubungan Dosis–Respon Ekstrak *Eucheuma spinosum* terhadap Penurunan Kadar Asam Urat

ekstrak ($p > 0,05$). Namun, secara deskriptif, dosis 120 mg/20 g BB mencit memberikan rerata penurunan kadar asam urat tertinggi. Rincian hasil uji post-hoc LSD disajikan pada Tabel 4.

Pembahasan

Ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* menunjukkan potensi sebagai agen antihiperurisemia alami pada mencit yang diinduksi kalium oksonat. Efek yang dihasilkan kemungkinan dipengaruhi oleh adanya berbagai metabolit sekunder yang terdeteksi dalam pengujian fitokimia, terutama flavonoid, fenol, tanin, alkaloid, dan saponin. Di antara senyawa tersebut, flavonoid dan senyawa fenolik diketahui memiliki peran penting sebagai antioksidan sekaligus inhibitor pembentukan asam urat, sehingga berpotensi memberikan efek terapeutik terhadap kondisi hiperurisemia.⁵ Temuan ini menunjukkan bahwa aktivitas antihiperurisemia ekstrak kemungkinan melibatkan interaksi berbagai senyawa bioaktif yang bekerja secara sinergis dalam menekan produksi asam urat dan mengurangi kerusakan oksidatif pada jaringan.

Secara fisiologis, Kondisi hiperurisemia

dapat terjadi ketika produksi asam urat melebihi kemampuan tubuh dalam mengekskresikannya. Dalam penelitian ini, peningkatan kadar asam urat pada hewan uji diinduksi menggunakan kalium oksonat melalui mekanisme penghambatan kompetitif terhadap enzim urikase. Ketika aktivitas enzim urikase dihambat, perubahan asam urat menjadi allantoin yang lebih mudah dikeluarkan dari tubuh juga mengalami hambatan. Akibatnya, kadar asam urat mengalami peningkatan dan terakumulasi di dalam sirkulasi darah.²⁴ Selain berkaitan dengan proses ekskresi, pembentukan asam urat juga dipengaruhi oleh aktivitas enzim xanthine oxidase. Enzim ini mengkatalisis oksidasi hipoksantin menjadi xantin, kemudian dilanjutkan hingga terbentuk asam urat. Dalam proses tersebut turut dihasilkan ROS, yang termasuk anion superoksida dan hidrogen peroksida. Peningkatan ROS dapat menyebabkan stres oksidatif, memperkuat respons inflamasi, serta berpotensi mengganggu fungsi ginjal yang berperan penting dalam eliminasi asam urat dari tubuh.¹³ Oleh karena itu, pengendalian aktivitas xanthine oxidase dan stres oksidatif menjadi salah satu pendekatan penting dalam penanganan hiperurisemia.

Tabel 4. Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Kelompok	Normal	Positif	Negatif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
Normal	—	0,003*	<0,001*	0,001*	<0,001*	0,005*
Positif	0,003*	—	<0,001*	0,681	0,096	0,805
Negatif	<0,001*	<0,001*	—	<0,001*	<0,001*	<0,001*
EEES 30	0,001*	0,681	<0,001*	—	0,198	0,512
EEES 60	<0,001*	0,096	<0,001*	0,198	—	0,060
EEES 120	0,005*	0,805	<0,001*	0,512	0,060	—

Keterangan : * = terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Keberadaan flavonoid dan senyawa fenolik pada ekstrak *Eucheuma spinosum* diduga berperan dalam memutus jalur biologis tersebut. Flavonoid berpotensi berinteraksi dengan bagian aktif enzim xanthine oxidase, sehingga aktivitas enzim tersebut dapat terhambat dan pembentukan asam urat dari jalur metabolisme purin menjadi berkurang.¹⁴ Di samping itu, flavonoid dan senyawa fenolik dapat berperan sebagai donor atom hidrogen maupun elektron untuk menetralkan radikal bebas yang dihasilkan selama berlangsungnya proses metabolisme. Aktivitas antioksidan tersebut dapat mengurangi akumulasi ROS, menekan stres oksidatif, dan membantu mempertahankan integritas jaringan ginjal yang berperan dalam eliminasi asam urat. Dengan demikian, efek antihiperurisemia ekstrak diduga tidak hanya berasal dari penghambatan pembentukan asam urat, tetapi juga melalui mekanisme proteksi terhadap kerusakan oksidatif yang menyertai kondisi hiperurisemia.

Efektivitas dosis tertinggi pada penelitian ini diduga berkaitan dengan meningkatnya jumlah senyawa bioaktif yang masuk ke dalam tubuh, terutama flavonoid dan senyawa fenolik yang teridentifikasi pada hasil skrining fitokimia. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan, semakin besar pula jumlah senyawa aktif yang tersedia untuk berinteraksi dengan enzim xanthine oxidase, sehingga potensi inhibisi enzim tersebut diperkirakan menjadi lebih kuat dan pembentukan asam urat

dapat ditekan secara lebih optimal.¹⁴ Selain meningkatkan kemampuan inhibisi xanthine oxidase, peningkatan jumlah flavonoid dan fenolik juga diduga memperkuat kapasitas antioksidan ekstrak dalam menangkap ROS yang dihasilkan selama metabolisme purin. Penurunan stres oksidatif tersebut berpotensi mempertahankan fungsi ginjal dan mendukung proses ekskresi asam urat secara lebih efektif.¹² Meskipun demikian, penelitian ini belum melakukan kuantifikasi total flavonoid dan total fenol maupun pengujian aktivitas inhibisi xanthine oxidase secara langsung, sehingga mekanisme tersebut masih memerlukan konfirmasi melalui penelitian lanjutan.

Aktivitas antioksidan ekstrak juga diduga turut berkontribusi terhadap efek antihiperurisemia yang diperoleh. Nilai IC₅₀ yang termasuk kategori antioksidan kuat menunjukkan kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas dan menekan stres oksidatif. Hubungan antara aktivitas antioksidan dan hiperurisemia telah banyak dilaporkan, mengingat peningkatan ROS dapat memperburuk kerusakan ginjal dan menurunkan kemampuan tubuh dalam mengekskresikan asam urat.¹⁵ Oleh karena itu, kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas diperkirakan mendukung efek antihiperurisemia yang dihasilkan. Namun, hubungan tersebut pada penelitian ini masih bersifat biologis dan belum dapat dinyatakan sebagai korelasi statistik secara langsung

karena tidak dilakukan analisis hubungan antara nilai IC_{50} dengan penurunan kadar asam urat maupun pengujian aktivitas inhibisi xanthine oxidase secara *in vitro*.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini mendukung temuan dari penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa flavonoid dan polifenol berpotensi memberikan efek antihiperurisemia, salah satunya melalui mekanisme penghambatan terhadap aktivitas enzim xanthine oxidase. Agatta *et al.* melaporkan bahwa ekstrak batang brotowali yang kaya flavonoid bisa menurunkan kadar asam urat menurun pada mencit yang diinduksi kalium oksonat.¹⁴ Penelitian Rizqon *et al.* juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang tinggi pada bahan alam berkorelasi dengan potensi antihiperurisemia melalui penurunan stres oksidatif.¹⁵ Kandungan fenolik dan flavonoid pada rumput laut merah telah dilaporkan memiliki kontribusi terhadap sejumlah aktivitas farmakologis, terutama sebagai antioksidan dan antiinflamasi.

Perbedaan hasil efektivitas yang dilaporkan dalam berbagai penelitian kemungkinan berkaitan dengan karakteristik bahan dan proses ekstraksi, termasuk penggunaan pelarut, teknik ekstraksi, umur panen, lokasi budidaya, serta kondisi lingkungan pertumbuhan. Selain itu, variasi komposisi metabolit sekunder dapat menyebabkan perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang pada akhirnya memengaruhi aktivitas biologis ekstrak.

Dari perspektif translasi klinis, dosis optimum pada penelitian ini dapat dikonversi menjadi *human equivalent dose* (HED) menggunakan metode normalisasi luas permukaan tubuh (*body surface area*) yang direkomendasikan oleh Food and Drug Administration (FDA). Hasil konversi menunjukkan bahwa dosis tersebut masih berada pada kisaran yang memerlukan evaluasi lebih lanjut terkait aspek keamanan,

toksistas, farmakokinetik, dan penentuan dosis efektif minimum sebelum dapat diterapkan pada manusia.²⁵ Meskipun demikian, temuan penelitian ini dapat menjadi dasar awal dalam melihat potensi *Eucheuma spinosum* sebagai sumber bahan alam yang berpeluang dikembangkan untuk mendukung terapi hiperurisemia pada masa mendatang.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* memiliki potensi sebagai agen antihiperurisemia alami melalui kombinasi mekanisme penghambatan xanthine oxidase dan aktivitas antioksidan. Meskipun allopurinol masih menjadi terapi lini pertama karena bekerja sebagai inhibitor spesifik xanthine oxidase,²⁶ ekstrak *Eucheuma spinosum* berpotensi dikembangkan sebagai terapi pendamping berbasis bahan alam. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif utama, melakukan kuantifikasi total flavonoid dan fenol, menguji aktivitas inhibisi xanthine oxidase secara langsung, serta mengevaluasi keamanan dan efektivitasnya pada manusia.

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan, salah satunya terletak pada penggunaan metode DPPH sebagai satu-satunya metode dalam pengujian aktivitas antioksidan, sehingga hasil yang diperoleh belum sepenuhnya merepresentasikan aktivitas antioksidan secara komprehensif. Selain itu, penelitian ini hanya menggunakan ekstrak etanol rumput laut (*Eucheuma spinosum*) tanpa dilakukan isolasi senyawa aktif tertentu, sehingga senyawa yang paling berperan dalam aktivitas antihiperurisemia belum diketahui secara spesifik. Pengamatan *in vivo* juga terbatas pada parameter kadar asam urat dengan waktu observasi yang relatif singkat, sehingga efek penggunaan ekstrak dalam jangka panjang belum dapat dievaluasi secara optimal. Penelitian ini juga belum melakukan uji toksistas untuk

mengetahui tingkat keamanan ekstrak, Pengujian yang dilakukan sejauh ini masih menggunakan model hewan mencit. Oleh karena itu, studi lanjutan pada manusia diperlukan untuk memperoleh bukti mengenai efektivitas serta aspek keamanan penggunaannya.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 52,219 ppm dan memiliki potensi sebagai agen antihiperurisemia pada mencit yang diinduksi kalium oksonat. Efek penurunan kadar asam urat menunjukkan kecenderungan respons yang berkaitan dengan peningkatan dosis, dengan dosis 120 mg/20 g BB mencit memberikan efek paling besar. Meskipun demikian, efek tersebut belum mencapai tingkat efektivitas yang ditunjukkan oleh allopurinol.

Kebaruan penelitian ini terletak pada pengkajian aktivitas antioksidan dan antihiperurisemia ekstrak etanol *Eucheuma spinosum* secara terintegrasi serta evaluasi hubungan dosis-responsnya pada model hiperurisemia yang diinduksi kalium oksonat. Secara ilmiah, hasil penelitian ini mendukung dugaan bahwa metabolit sekunder, terutama flavonoid dan senyawa fenolik, berperan dalam aktivitas antihiperurisemia melalui mekanisme antioksidan dan kemungkinan penghambatan pembentukan asam urat.

Dari aspek klinis, temuan ini memberikan dasar awal bagi pengembangan *Eucheuma spinosum* sebagai bahan alam pendamping dalam pengelolaan hiperurisemia, khususnya sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi lebih aman dan mudah diperoleh. Namun, penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengoptimalkan metode ekstraksi, mengidentifikasi senyawa aktif utama, mengklarifikasi mekanisme kerja, serta

mengevaluasi keamanan dan efektivitasnya pada manusia.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Program Studi S1 Farmasi Universitas Bakti Tunas Husada atas dukungan, penyediaan fasilitas, serta berbagai bantuan yang diberikan selama penelitian berlangsung. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada dosen pembimbing atas arahan, bimbingan, motivasi, dan masukan yang sangat bermanfaat selama proses penelitian hingga penyusunan artikel ini.

Pendanaan

Penelitian ini didukung oleh hibah internal dari Universitas Bakti Tunas Husada.

Konflik Kepentingan

Penulis memastikan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini. Proses penelitian dan penyusunan naskah dilaksanakan secara independen tanpa keterlibatan pihak luar yang dapat memengaruhi hasil.

Daftar Pustaka

1. Liu H, Xie R, Dai Q, Fang J, Xu Y, Li B. Exploring the mechanism underlying hyperuricemia using comprehensive research on multi-omics. *Sci Rep*. 2023. 13(1):7161.
2. Denova LD, Kushnirenko SV. Hyperuricemia : current insights into pathogenesis, association with chronic kidney disease, oxidative stress, and perspectives of antioxidant therapy. *Likars'ka Sprava*. 2025;(2): 5–12.
3. Harborne JB. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis

- tumbuhan. Padmawinata K, Soediro I, translators. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
4. Fahrul M, Sari I, Iriani D. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) dengan Pelarut Berbeda. Jurnal Agroindustri Halal. 2021;7(1):1–8.
 5. Damongilala LJ, Wewengkang DS, Losung F, Tallei TE. Phytochemical and Antioxidant Activities of *Eucheuma spinosum* as Natural Functional Food from North Sulawesi Waters Indonesia. Pakistan Journal Biological Sciences. 2021;24(1):132–8.
 6. Hamrun N, Djamaluddin N, Dahri INA. Antioxidant activity of red algae extract (Rhodophyta) *Eucheuma spinosum* measured by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. J. Dentomaxillofac Sci. 2022;7(1):14–9.
 7. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol. 2004;26(2):211–19.
 8. Julianti TB, Bakar MFA, Wikantyasning ER. Phytochemical, Antioxidant Analysis and In Vitro Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of *Kaempferia parviflora* and *Kaempferia galanga*. Tropical Journal of Natural Product Research. 2022;6(12):1981–5.
 9. Duong TT, Huynh KLV, Huynh HYT, Huynh QDT, Nguyen NHT, Nguyen DK. Evaluation of Xanthine Oxidase Inhibitory Activity, Antioxidant Activity, and Quantification of Total Phenolic and Flavonoid Contents in *Phyllanthus reticulatus* Poir. International Journal of Drug Delivery Technology. 2025;15(3):947–51.
 10. Nurhamidah, Fadilah R, Elvinawati, Handayani D. Aktivitas Anti Hiperurisemia Ekstrak Akar Kaik-kaik (*Uncaria cordata* L Merr) pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Kalium Oksonat. J Ris Kim. 2022;13(2):152–62.
 11. Wildan MM, Rahayuningsih N, Salasanti CD. Identifikasi Drug-Related Problems (DRPs) pada Pasien Program Pengelolaan Penyakit Kronis Hipertensi di Puskesmas Jamanis, Kabupaten Tasikmalaya. Indones J Clin Pharm. 2026;15(1):13–24.
 12. Ullah Z, Yue P, Mao G, Zhang M, Liu P, Wu X, et al. A comprehensive review on recent xanthine oxidase inhibitors of dietary based bioactive substances for the treatment of hyperuricemia and gout: Molecular mechanisms and perspective. Int J Biol Macromol. 2024;278(Pt 3):134832.
 13. Borghi C, Agabiti-Rosei E, Johnson RJ, Kielstein JT, Lurbe E, Mancia G, et al. Hyperuricaemia and gout in cardiovascular, metabolic and kidney disease. Eur J Intern Med. 2020;80:1–11.
 14. Agatta EW, Putra AGRYP. Potensi Pemanfaatan Kandungan Flavonoid Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*) Sebagai Agen Terapi Asam Urat. COMSERVA. 2024;3(12):251–8.
 15. Rizqon MZ, Wirasti, Waznah U, Nur AV. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Uwi Ungu (*Discorea Alata* L.) dengan Metode In Vitro. Jophus. 2023;4(2):61–8.
 16. Andriani D, Murtisiwi L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. Pharmacon. 2020;17(1):70–6.
 17. Wahid AR, Ittiko DH, Hati MP, Safwan, Nopianti MS, Karim SW. Physical Stability of Gel of Red Algae (*Eucheuma spinosum*) Extract and Evaluation of its Antioxidant effect. Research Journal of Pharmacy and

- Technology. 2023;16(10):4729–6.
18. Podungge A, Damongilala LJ, Mewengkang HW. Kandungan Antioksidan pada Rumput Laut *Eucheuma spinosum* yang Diekstrak Dengan Metanol Dan Etanol. Media Teknologi Hasil Perikanan. 2018;6(1):197–201.
 19. Syafruddin, Masri A, Rukman WY, Nurjannah S, Guntur M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Merah (*Eucheuma spinosum*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). Fito Medicine. 2025;16(2):54–8.
 20. Platzer M, Kiese S, Tybussek T, Herfellner T, Schneider F, Schweiggert-Weisz U, et al. Radical Scavenging Mechanisms of Phenolic Compounds: A Quantitative Structure-Property Relationship (QSPR) Study. Front. Nutr. 2022; 99:882458.
 21. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT. 1995;28(1):25–30.
 22. Gultom DK, Saraswati I, Sasikirana W. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Kubis Ungu (*Brassica oleraceae* var. capitata L). Generics: Journal of Research in Pharmacy. 2021;1(2):79–87.
 23. Benkahoul M, Bramki A, Benslama O, Toumi ME, Maghboune I, Varela RM, et al. Phytochemical Profiling and Antioxidant Properties of *Ziziphus lotus* (L.) Fruits Supported by Xanthine Oxidase Inhibition and Molecular Docking. Plants. 2026;15(5):708.
 24. DiPiro JT, Yee GC, Posey LM, Haines ST, Nolin TD, Ellingrod V. Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach. 11th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2020.
 25. U.S. Food and Drug Administration. Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005 Jul [diakses 30 Ags 2026]. Tersedia dari: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/estimating-maximum-safe-starting-dose-initial-clinical-trials-therapeutics-adult-healthy-volunteers>
 26. Manuaba IARW, Marpaung B, Pramudiyo R, Faridin HP, Syahrani F, Hellmi RY, et al. Pedoman diagnosis dan tatalaksana hiperurisemia & artritis gout. Jakarta: Perhimpunan Reumatologi Indonesia; 2024.