

## INTISARI

Ketidakseimbangan radikal bebas membuat kita rentan terhadap stres oksidatif dan menyebabkan peningkatan potensi infeksi berbagai macam penyakit. Mengonsumsi suplemen yang kaya akan kandungan antioksidan dapat menjadi solusi untuk terhindar dari stres oksidatif. Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) dipercaya dapat bermanfaat sebagai suplemen preventif karena mengandung flavonoid, senyawa yang sering dikaitkan dengan aktivitas antioksidan. Mekanisme antioksidan ada berbagai macam, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi beberapa mekanisme antioksidan dari Sambiloto yang jarang atau belum pernah dilakukan.

Herba Sambiloto diekstraksi dengan bantuan ultrasonikasi dan menggunakan pelarut berupa etanol 96%. Analisis kualitatif maupun kuantitatif senyawa andrografolid dan flavonoid dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak kental sambiloto. Kemudian, dilakukan evaluasi aktivitas antioksidan secara ekstraseluler dengan tiga metode, yaitu *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), fosfomolibdat, dan kemampuan pengkhelatan logam. Sedangkan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan secara intraseluler dilakukan uji viabilitas sel RAW 264.7 untuk menentukan batas dosis aman (viabilitas  $\geq 95\%$ ) yang selanjutnya akan digunakan dalam pengukuran kadar ROS intraseluler. Vitamin C digunakan sebagai standar. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *one-way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%.

Ekstrak kental sambiloto yang dihasilkan mengandung andrografolid sebesar  $22.871 \pm 3.189$  (% b/b ekstrak Sambiloto) dan total flavonoid sebesar  $0.547 \pm 0.020$  (% b/v ekivalen luteolin). Evaluasi aktivitas antioksidan secara ekstraseluler diperoleh hasil sebagai berikut: *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP)  $0.020 \pm 0.001$  mg AA/mg ekstrak Sambiloto; fosfomolibdat  $0.117 \pm 0.002$  mg AA/mg ekstrak Sambiloto; dan  $IC_{50}$  kemampuan pengkhelatan logam 0.727 mg/mL. Sedangkan untuk evaluasi aktivitas antioksidan secara intraseluler menggunakan sel RAW 264.7 diperoleh konsentrasi 5, 10, dan 15 ppm sebagai dosis aman. Jika dibandingkan dengan vitamin C  $500 \mu M$ , hasil pengukuran ROS intraseluler ekstrak Sambiloto menghasilkan hasil yang lebih rendah, khususnya pada konsentrasi 15 ppm.

Ekstrak kental sambiloto memiliki aktivitas yang baik dalam mengkhelat logam serta dapat menurunkan kadar ROS intraseluler jika dibandingkan dengan kontrol (Vitamin C).

**Kata kunci:** Sambiloto, antioksidan, RAW 264.7, *In Vitro*

## ABSTRACT

The excessive unbalanced of free radicals inside our body often leads to the vulnerability of getting infected by various diseases. Consuming supplements with rich antioxidant properties can be a solution to combat oxidative stress. Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) is strongly believed to exhibit many beneficial chemical constituents, including flavonoids, which associates with antioxidative properties. This research is aimed to evaluate under-explored methods of antioxidant activity evaluation.

The extraction was obtained by the Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) method with ethanol 96%. Qualitative and quantitative analyses of andrographolide and flavonoid were conducted. The extracellular antioxidant activity evaluation was conducted using three different biochemical methods, namely Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), phosphomolybdenum, and ferrous ion chelating (FIC) assay. While the intracellular antioxidant activity evaluation begins with a viability assay to define the safe concentrations and then continued with measuring the Reactive Oxygen Species (ROS) content of oxidative stress induced-RAW 264.7 cells. Vitamin C was used as the standard for extracellular and intracellular antioxidant evaluation. The data were analyzed statistically by GraphPad® 9 Prism software using a one-way ANOVA test with a 95% of confidence level.

Sambiloto extract was containing andrographolide  $22.871 \pm 3.189$  (% w/w Sambiloto extract) and the total flavonoid was  $0.547 \pm 0.020$  (% w/v Luteolin Equivalent). The results of extracellular antioxidant activity evaluation were i.e., Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)  $0.0199 \pm 0.001$  mg AA/mg Sambiloto extract, phosphomolybdenum  $0.1172 \pm 0.002$  mg AA/mg Sambiloto extract, and ferrous ion chelating (FIC)  $IC_{50}$  0.73 mg/mL. While for intracellular using RAW 264.7 cells, 5, 10, and 15 ppm concentrations are defined as the safe concentrations. Sambiloto extract can lower %ROS after being challenged by  $H_2O_2$  compared to vitamin C 500  $\mu$ M. In conclusion, Sambiloto extract is better than vitamin C for binding metals and lowering %ROS.

**Keywords:** Sambiloto, Antioxidant, RAW 264.7, *In Vitro*