



Uji Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Daun Peppermint (*Mentha piperita L.*) dengan Metode DPPH, FRAP, ABTS

Andrea Bianca Castafiore Kusuma¹, David Limanan^{2*}, Eny Yulianti³,
Frans Ferdinal⁴

Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia
Email: andrea.405210063@stu.untar.ac.id, davidl@fk.untar.ac.id

ABSTRAK

Kata Kunci:

Mentha piperita L.,
antioksidan; DPPH; FRAP;
BSLT; Fenolik; Skrining
Fitokimia

Paparan terhadap konsentrasi oksigen tinggi bisa merugikan organ tubuh mulai dari sistem kardiovaskular, gastrointestinal, pernapasan dan saraf. Melalui reaksinya dengan elektron, oksigen dapat berubah menjadi reactive oxygen species (ROS). ROS merupakan by-product yang berasal dari metabolisme sel terutama mitokondria. Ketika ROS diproduksi melebihi kapasitas antioksidan sel, terjadilah stres oksidatif dimana keadaan ini dapat merusak makromolekul seperti lipid, protein dan DNA sebagai inisiasi perkembangan suatu penyakit. Salah satu mekanisme pertahanan untuk melindungi tubuh dari efek berbahaya ROS adalah dengan antioksidan, yaitu senyawa yang mampu mencegah atau memperlambat proses oksidasi. Tentunya antioksidan sudah terkandung dalam sel tubuh, tetapi antioksidan juga bisa diperoleh dari luar, salah satunya daun peppermint (*Mentha piperita L.*). Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menguji metabolit sekunder, aktivitas antioksidan, dan toksisitas dari ekstrak daun mint. Desain penelitian ini merupakan eksperimental yang bersifat *in vitro*. Daun peppermint diekstrak dengan metode maserasi menggunakan metanol sebagai pelarut. Ekstrak yang diperoleh dilakukan pengujian yang uji kapasitas total antioksidan menggunakan tiga metode yakni, DPPH, FRAP dan ABTS dengan pembandingan trolox. Dari uji kapasitas total antioksidan, didapatkan nilai IC₅₀ terhadap DPPH 92,994, FRAP 23,899, dan ABTS 27,180. Dapat dikatakan ekstrak daun mint tergolong kategori antioksidan kuat hingga sangat kuat dengan kapasitas antioksidan lebih kecil dibandingkan trolox. Hal ini membuktikan ekstrak daun mint memiliki potensi sebagai antioksidan.

ABSTRACT

Keywords:

Mentha piperita L.,
antioxidant; DPPH; FRAP;
BSLT; phenolic;
phytochemical screening

*Exposure to high oxygen concentrations can harm body organs ranging from the cardiovascular, gastrointestinal, respiratory and nervous systems. Through its reaction with electrons, oxygen can turn into reactive oxygen species (ROS). ROS is a by-product originating from cell metabolism, especially in the mitochondria. When an excessive amount of ROS is produced more than the cell's antioxidant capacity, oxidative stress occurs, which can damage macromolecules such as lipids, proteins and DNA, initiating the development of a disease. One defense mechanism to protect the body from the harmful effects of ROS is with antioxidants, which are compounds that can prevent or slow down the oxidation process. Antioxidants are contained in body cells, but antioxidants can also be obtained externally, one of which is peppermint leaves (*Mentha piperita L.*). The aim of this*

research was to investigate antioxidant capacity of mint leaf extract. This research is conducted with an in vitro experimental study design. Peppermint leaves are extracted using the maceration method using methanol as a solvent. The extract obtained was analyzed for a total antioxidant capacity test using the following methods: DPPH, FRAP, and ABTS, with Trolox as a comparison. From the total antioxidant capacity test, the IC_{50} value for DPPH was 92.994, FRAP 23.899, and ABTS 27.180. It can be concluded that mint leaf extract has strong to powerful antioxidant capacity with less antioxidant capacity than trolox. This proves that mint leaf extract has potential as an antioxidant

Corresponden Author: David Limanan

Email: davidl@fk.untar.ac.id

Artikel dengan akses terbuka dibawah lisensi



Pendahuluan

Oksigen ditemukan oleh seorang ilmuwan bernama Carl Wilhelm Scheele yang berasal dari Swedia. Penemuan mengenai oksigen dituliskan di tahun 1777 pada tesis yang berjudul “*Luft und dem Feuer*” yang artinya udara dan api. Awalnya oksigen dianggap sebagai molekul baik yang tidak merugikan. Setelah dipelajari lebih lanjut, paparan konsentrasi oksigen tinggi dapat menjadi racun yang menyebabkan kerusakan pada organ tubuh seperti sistem pernapasan, kardiovaskular, saraf, dan gastrointestinal (Halliwell & Poulsen, 2007; Phillips dkk., 2003). Setelah bereaksi dengan elektron, oksigen dapat berubah menjadi salah satu dari radikal bebas yaitu *reactive oxygen species* (ROS) (Brieger dkk., 2012; Elsayed Azab dkk., 2019). ROS merupakan *by-product* dari metabolisme sel terutama di mitokondria. Stres oksidatif terjadi ketika ROS diproduksi melebihi kapasitas antioksidan sel. Hal ini menyebabkan kerusakan pada makromolekul seperti lipid, protein, dan DNA. Untuk melindungi tubuh dari efek berbahaya ROS, konsentrasi ROS harus dikendalikan oleh beberapa mekanisme pertahanan, salah satunya dengan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan mencegah atau memperlambat proses oksidasi makromolekul. Selain dari sel tubuh, antioksidan juga bisa diperoleh dari tanaman (Irianti dkk., 2022; Kasote dkk., 2015). Salah satu tanaman yang memiliki mekanisme pertahanan dengan antioksidan adalah tanaman mint (Trevisan dkk., 2017).

Daun *peppermint* atau mint, dalam bahasa latin dikenal dengan *Mentha piperita* L. Merupakan tanaman hibrida antara spearmint (*Mentha spicata* L.) dan mint air (*Mentha aquatica* L.) Tanaman ini banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk gangguan pencernaan, sistem saraf, mengurangi kram, mual, diare, dan sebagainya. Sebagai tambahan, daun mint termasuk sumber tanaman yang kaya akan senyawa polifenol sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Aparna L dkk., 2017). Sifat antioksidan yang dikandung dalam minyak atsiri daun mint telah banyak dimanfaatkan untuk makanan, kosmetik, dan industri farmasi karena berpotensi sebagai pengganti bahan tambahan sintetis (Singh dkk., 2015). Meskipun begitu, beberapa penelitian mengatakan bahwa sifat antioksidan daun mint perlu diinvestigasi lebih lanjut untuk memastikan keamanannya untuk konsumsi manusia (AN, 2022; Pramila, 2012).

Berdasarkan data tersebut, penulis bermaksud melakukan penelitian untuk menguji kapasitas antioksidan dari ekstrak daun mint.

Metode Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bersifat *in vitro*. Uji *in vitro* yang dilakukan adalah uji kapasitas antioksidan pada ekstrak daun mint (*Mentha piperita* L.) dengan tiga metode meliputi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), dan Ferric Reducing / Antioxidant Power (FRAP). Uji statistik dalam penelitian ini menggunakan aplikasi GraphPad prism v.9.0 La Jolla, CA, USA. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta Barat.

Pembuatan Ekstrak Daun Mint

Sejumlah daun mint ditimbang lalu dikeringkan dengan disebarakan secara merata pada wadah terbuka lalu diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari selama 2 hari hingga tekstur daun menjadi kering. Setelah menjadi kering, daun mint dihaluskan dengan blender sampai terbentuk simplisia. Simplisia yang terbentuk ditimbang kembali lalu dicatat. Simplisia akan diekstrak dengan metode perkolasi menggunakan metanol. Proses ekstrak diawali dengan proses maserasi dengan cara mencampurkan sampel dan pelarut metanol. Simplisia didiamkan selama 1 jam tidak terkena sinar matahari sebelum dilanjutkan perkolasi. Perkolasi dimulai dengan melapisi dasar bagian dalam perkolator dengan kapas yang diberi sedikit metanol agar kapas menempel pada dinding perkolator. Simplisia dimasukkan dan bagian atas simplisia ditutup dengan kertas saring dilanjutkan dengan menuang pelarut ke dalam perkolator hingga tinggi pelarut sekitar 1-2 cm di atas kertas saring. Simplisia direndam selama 24 jam. Setelah itu, simplisia terendam diekstrak dengan dibiarkan menetes dari perkolator dengan kecepatan 1-2 mL/menit hingga diperoleh perkolat yang ditampung pada gelas ukur. Sebagian perkolat akan dievaporasi menggunakan mesin *rotary evaporator* hingga konsistensi kental.

Pembuatan Larutan DPPH, ABTS, FRAP

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 1,97 mg bubuk DPPH yang kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol hingga mencapai 100 mL dalam tabung volume metrik lalu dihomogenkan. Larutan ditutup untuk mencegah oksidasi dari udara sekaligus dilapisi aluminium foil untuk mencegah terjadi oksidasi dari cahaya.

Larutan ABTS dibuat dengan menyiapkan serbuk ABTS 28,4 mg dan kalium persulfat 14 mg. Pada tempat berbeda, masing-masing dilarutkan dengan 20 mL pelarut etanol. Larutan dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap. Setelah 12 jam, kedua larutan dicampur kemudian ditambahkan etanol hingga volume larutan total mencapai garis 100 mL.

Pembuatan larutan FRAP diawali dengan menimbang natrium asetat trihidrat, TPTZ, dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ditimbang dengan berat berurutan sebanyak 187 mg, 150 mg, dan 270 mg. Pada labu ukur 250 mL, natrium asetat trihidrat ditambahkan asam asetat 16 mL lalu dilarutkan dengan *aquadest* hingga mencapai garis 250 mL. Pada labu ukur 50 mL, serbuk TPTZ dilarutkan dengan HCl 40 mM hingga mencapai garis 50 mL. Pada labu ukur 100 mL, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan *aquadest* hingga mencapai garis 100 mL. Setelah itu, diambil labu ukur 100 mL untuk mencampur ketiga larutan tersebut dengan kadar natrium asetat trihidrat 25 mL, larutan TPTZ 2,5 mL, dan

larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2,5 mL. Campuran tersebut ditambahkan *aquadest* hingga mencapai garis 100 mL.

Pembuatan Trolox

Dibuat larutan Trolox yang akan digunakan sebagai standar pembanding. Larutan Trolox dibuat dengan mencampurkan 0,01 g trolox yang dilarutkan dengan pelarut metanol sebanyak 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebagai kapasitas antioksidan pembanding.

Pengukuran Kapasitas Antioksidan metode DPPH

Pengukuran kapaistas antioksidan ekstrak daun mint dengan metode DPPH diawali dengan mengambil ekstrak daun mint sebanyak 0,01 g dilarutkan dengan metanol sebanyak 10 mL dalam gelas ukur lalu diaduk hingga merata. Hasil larutan sampel daun mint dimasukkan ke dalam lima tabung berbeda dengan masing-masing larutan diencerkan menjadi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Tabel 1**). Pada lima tabung reaksi baru, larutan sampel dan larutan DPPH dipipet dari masing – masing konsentrasi diambil 0,5 mL larutan sampel dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL pada setiap tabung. Sediaan larutan trolox dibuat dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Trolox sebagai standar pembanding mendapat perlakuan yang sama dengan larutan sampel, sehingga masing – masing konsentrasi trolox dicampur dengan DPPH. Proses ini diulang sebanyak dua kali (duplo). Setelah itu, larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Serapan larutan lalu dibaca dengan spektrofotometer *genesys 30-Vis* pada panjang gelombang 517 nm.

Tabel 1 Kapasitas Antioksidan Daun Mint dengan Metode DPPH

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Rata – rata Absorbansi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	%Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
50	0,316	42,125	
100	0,272	50,183	
150	0,2	63,370	92,994
200	0,166	69,597	
250	0,069	87,363	

Pengukuran Kapasitas Antioksidan metode ABTS

Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode ABTS dilakukan dengan mengambil ekstrak daun mint sebanyak 0,02 g dilarutkan dengan etanol sebanyak 10 mL lalu diaduk hingga merata. Hasil larutan sampel daun mint diencerkan hingga konsentrasi menjadi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Tabel 2**). Disiapkan larutan trolox sebagai standar pembanding dan konsentrasi dibuat 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan sampel dan larutan ABTS dicampurkan. Perbandingan takaran antara kedua larutan adalah 1:1, sehingga diambil larutan sampel sebanyak 1 mL dan larutan ABTS sebanyak 1 mL. Trolox sebagai kontrol positif diberi

perlakuan yang sama seperti sampel. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Setelah itu, larutan dibaca dengan spektrofotometer *genesys 30-Vis* pada panjang gelombang 734 nm dan dibuat kurva standar.

Tabel 2 Kapasitas Antioksidan Daun Mint dengan Metode ABTS

Konsentrasi (µg/mL)	Rata – rata Absorbansi (µg/mL)	%Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
10	0,052	31,579	
20	0,043	43,421	
30	0,036	52,632	27,180
40	0,027	64,474	
50	0,021	72,368	

Pengukuran Kapasitas Antioksidan metode FRAP

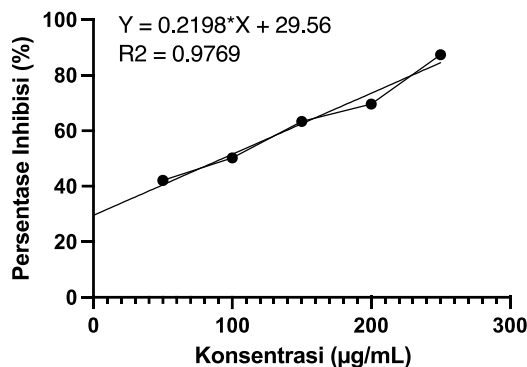
Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode FRAP dikerjakan dengan menyiapkan ekstrak daun mint sebanyak 0,02 g dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 10 mL lalu diaduk hingga merata. Hasil larutan sampel daun mint diencerkan hingga konsentrasi menjadi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, dan 25 µg/mL (**Tabel 3**). Larutan sampel dicampurkan dengan larutan FRAP dengan perbandingan takaran 1:3, maka sebanyak 1 mL larutan sampel dan 3 mL larutan FRAP dari masing-masing konsentrasi dipipet ke lima tabung baru. Larutan trolox yang akan digunakan sebagai standar pembanding dipersiapkan dengan masing-masing konsentrasi 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, dan 30 µg/mL. Trolox mendapat perlakuan yang sama dengan sampel. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Larutan dihomogenkan, lalu didiamkan selama 10 menit pada suhu 37°C. Setelah 10 menit, larutan dibaca pada spektrofotometer *genesys 30-Vis* dengan panjang gelombang 594 nm lalu dibuat kurva standar.

Tabel 3 Hasil Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Mint dengan Metode FRAP

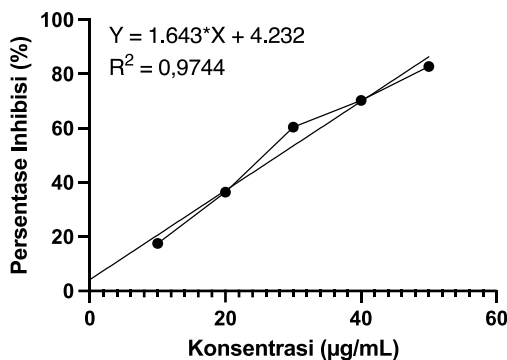
Konsentrasi (µg/mL)	Rata – rata Absorbansi (µg/mL)	%Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
5	0,119	24,37	
10	0,129	30,23	
15	0,152	40,78	23,899
20	0,169	46,74	
25	0,177	49,15	

Hasil Dan Pembahasan

Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Mint dengan Metode DPPH



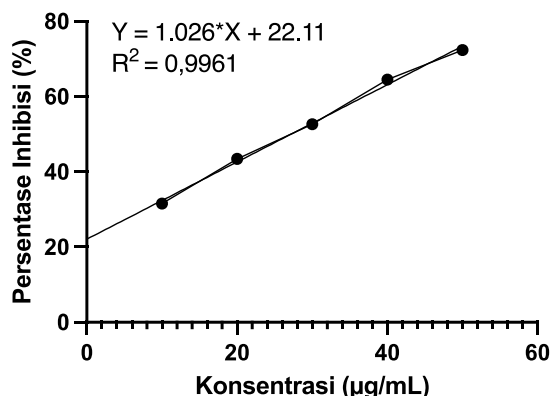
Gambar 1 Kurva Persentase Inhibisi DPPH Ekstrak Daun Mint



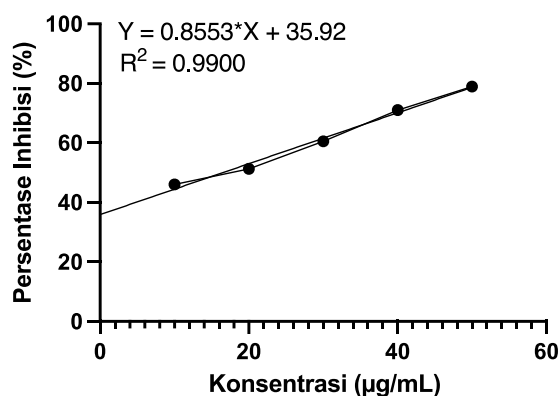
Gambar 2 Kurva Persentase Inhibisi Standar Trolox dengan Metode DPPH

Nilai IC_{50} pada ekstrak daun mint diperoleh sebesar $92,994 \mu\text{g/mL}$ (**Gambar 1**) dan trolox sebesar $27,86 \mu\text{g/mL}$ (**Gambar 2**). Menurut penelitian Rosmalena dkk. (2022), nilai IC_{50} ekstrak daun mint adalah $126,695 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong memiliki aktivitas antioksidan sedang. Berbedanya nilai IC_{50} dikarenakan penelitian Rosmalena dkk. (2022) menggunakan pelarut etanol sedangkan penelitian ini menggunakan pelarut metanol dimana jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap kapasitas antioksidan (IC_{50}). Menurut Lung dan Destiani (2017), antioksidan sedang apabila nilai IC_{50} $100 - 250 \mu\text{g/mL}$ sedangkan antioksidan kuat apabila nilai IC_{50} $50 - 100 \mu\text{g/mL}$. Dapat dikatakan ekstrak daun mint pada penelitian ini tergolong kuat. Jika dibandingkan trolox, nilai IC_{50} ekstrak daun mint lebih rendah dikarenakan trolox merupakan senyawa antioksidan murni turunan vitamin E. Maka aktivitas antioksidan pada trolox lebih efektif untuk menghambat radikal bebas. Meskipun begitu, peran biologis daun mint tidak hanya sebagai antioksidan, tetapi juga sebagai antibakteri, antiinflamasi, antialergenik, antimikroba, antifungal, dan antivirus.

Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Mint dengan Metode ABTS



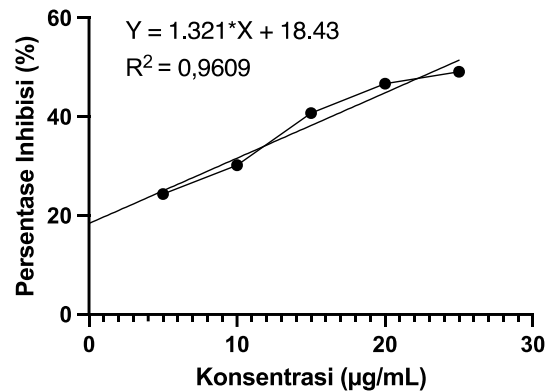
Gambar 3 Kurva Persentase Inhibisi ABTS Ekstrak Daun Mint



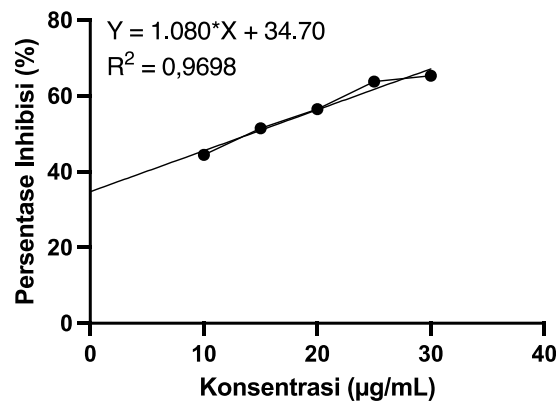
Gambar 4 Kurva Persentase Inhibisi Standar Trolox dengan Metode ABTS

Kapasitas antioksidan ekstrak daun mint dengan metode ABTS diperoleh nilai IC_{50} 27,180 µg/mL (**Gambar 3**) dan trolox sebesar 16,461 µg/mL (**Gambar 4**). Aktivitas antioksidan pada penelitian ini didukung penelitian sebelumnya oleh Mapeka dkk. (2022) yang menunjukkan nilai $IC_{50} = 17,67$ µg/mL yang tergolong antioksidan sangat kuat. Penelitian sebelumnya oleh Luță dkk. (2022) juga menunjukkan ekstrak daun mint tergolong antioksidan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 37$ µg/mL pada penelitiannya. Maka ekstrak daun mint pada penelitian ini dapat dikatakan memiliki kapasitas antioksidan yang tergolong sangat kuat. Apabila dibandingkan dengan trolox, nilai IC_{50} pada ekstrak daun mint tidak menunjukkan perbedaan cukup jauh dan sama – sama memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 µg/mL. Dari pengujian kapasitas antioksidan dengan metode ABTS pada penelitian ini, keduanya termasuk antioksidan sangat kuat dan efektif dalam menangkal radikal bebas.

Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Mint dengan Metode FRAP



Gambar 5 Kurva Persentase Inhibisi FRAP Ekstrak Daun Mint



Gambar 6 Kurva Persentase Inhibisi Standar Trolox dengan Metode FRAP

Nilai IC_{50} diperoleh dari ekstrak daun mint dengan metode FRAP sebesar 23,899 $\mu\text{g/mL}$ (**Gambar 5**) dan trolox 14,17 $\mu\text{g/mL}$ (**Gambar 6**). Menurut Mapeka dkk. (2022), nilai IC_{50} pada ekstrak daun mint adalah 53,4 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan kuat. Bila dibandingkan dengan penelitian ini, nilai IC_{50} dari penelitian oleh Mapeka dkk. tidak menunjukkan perbedaan cukup jauh, hanya saja pada penelitian ini ekstrak daun mint tergolong antioksidan sangat kuat. Perbandingan ekstrak daun mint dan trolox tidak jauh berbeda dan keduanya menunjukkan nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat diartikan baik ekstrak daun mint dan trolox terbilang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kesimpulan

Ekstrak daun mint (*Mentha piperita* L.) dengan metode DPPH didapatkan kapasitas antioksidan dalam IC_{50} sebesar 92,994 $\mu\text{g/mL}$ tergolong antioksidan kuat. 1) Ekstrak daun mint (*Mentha piperita* L.) dengan metode ABTS didapatkan kapasitas antioksidan dalam IC_{50} sebesar 27,180 $\mu\text{g/mL}$ tergolong antioksidan sangat kuat. 2) Ekstrak daun mint (*Mentha piperita* L.) dengan metode FRAP didapatkan kapasitas antioksidan dalam IC_{50} sebesar 23,899 $\mu\text{g/mL}$ tergolong antioksidan sangat kuat.

Daftar Pustaka

- AN, M. T. (2022). *Buku Ajar Obat Tradisional*. CV Mitra Edukasi Negeri.
- Aparna L, M., S, A., I, S., & D, R. (2017). Assessment of Sputum Quality and Its Importance in the Rapid Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *Archives of Clinical Microbiology*, 08(04). <https://doi.org/10.4172/1989-8436.100053>
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, Jr., & Krause, K. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly*. <https://doi.org/10.4414/sm.w.2012.13659>
- Elsayed Azab, A., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, A. S., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, A. S., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
- Halliwell, B. B., & Poulsen, H. E. (2007). *Cigarette Smoke and Oxidative Stress*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/3-540-32232-9>
- Irianti, T. T., Pramono, S., & Sugiyanto, S. (2022). *Penuaan Dan Pencegahannya: Proses Faali Biokimiawi dan Molekuler*. Gadjah Mada University Press.
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53–62.
- Luță, E. A., Biță, A., Moroșan, A., Mihaiescu, D. E., Ghica, M., Mihai, D. P., Olaru, O. T., Deculescu-Ioniță, T., Duțu, L. E., Popescu, M. L., Costea, L., Nitulescu, G. M., Lupuliasa, D., Boscencu, R., & Gîrd, C. E. (2022). The Influence of Phytosociological Cultivation and Fertilization on Polyphenolic Content of Menthae and Melissa folium and Evaluation of Antioxidant Properties through In Vitro and In Silico Methods. *Plants*, 11(18), 2398. <https://doi.org/10.3390/plants11182398>
- Mapeka, T. M., Sandasi, M., Viljoen, A. M., & van Vuuren, S. F. (2022). Optimization of Antioxidant Synergy in a Polyherbal Combination by Experimental Design. *Molecules*, 27(13), 4196. <https://doi.org/10.3390/molecules27134196>
- Phillips, M., Cataneo, R. N., Greenberg, J., Grodman, R., Gunawardena, R., & Naidu, A. (2003). Effect of oxygen on breath markers of oxidative stress. *European Respiratory Journal*, 21(1), 48–51. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00053402>
- Pramila, D. M. (2012). Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(3). <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1232>
- Rosmalena, R., Putri, N., Yazid, F., Ambarwati, N. S., Omar, H., & Ahmad, I. (2022). Phytochemical, in vitro radical scavenging and in vivo oxidative stress analysis of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves extract. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 13(2), 133–137. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_16_22
- Singh, R., Shushni, M. A. M., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>
- Trevisan, S. C. C., Menezes, A. P. P., Barbalho, S. M., & Guiguer, É. L. (2017). Properties of *Mentha Piperita*: A Brief Review. *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(1), 309–313.