

Analisis Kandungan Fitokimia, Fenolik, Aktivitas Antioksidan, dan Toksisitas Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

Ariadne Calista Aspasia^{1*}, Ni Made Swantari¹, Frans Ferdinal¹, Eny Yulianti¹

¹Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

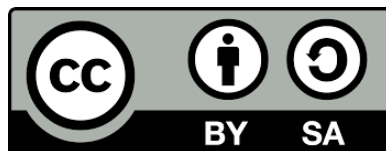
Received: June 20, 2025

Revised: March 19, 2026

Accepted: May 18, 2026

Available online: May 28, 2026

Keywords: Brine shrimp lethality test, folin-ciocalteu, orthosiphon stamineus, phytochemical.



This is an open-access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.

Copyright © 2026 by Ariadne Calista Aspasia, Ni Made Swantari, Frans Ferdinal, Eny Yulianti. Published by Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana

ABSTRACT

Introduction: *Orthosiphon stamineus* (cat's whiskers) is a traditional medicinal plant rich in bioactive compounds and has potential as a natural antioxidant. However, comprehensive studies linking its phytochemical composition with antioxidant activity and toxicity remain limited. **Purpose:** This study aimed to evaluate the phytochemical profile, total phenolic content, antioxidant activity, and toxicity of *O. stamineus* leaf extract. **Methods:** The study was conducted experimentally using *in vitro* and bioassay approaches. Phytochemical screening was performed to identify secondary metabolites. Total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method with gallic acid as the standard. Antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, and FRAP assays, while toxicity was evaluated using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). **Results:** The results showed that the extract contained various secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, coumarins, tannins, phenolics, terpenoids, steroids, glycosides, quinones, anthocyanins, and cardiac glycosides. The total phenolic content was 43.02 mg GAE/g DW. The IC_{50} values for DPPH and ABTS were 116.29 μ g/mL and 123.22 μ g/mL, respectively, indicating moderate antioxidant activity. The FRAP value was 337.9 μ mol/L. Toxicity testing yielded an LC_{50} value of 653.6 μ g/mL, indicating low toxicity. **Conclusion:** *O. stamineus* leaf extract shows potential as a natural antioxidant source with low toxicity, supporting its prospective application in pharmaceutical and health-related fields.

1. PENDAHULUAN

Potensi Indonesia dalam pengembangan obat herbal sangat besar berkat kekayaan sumber daya hayati yang dimilikinya. Dari sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang ada, sekitar 7.000 di antaranya diketahui memiliki potensi sebagai tanaman obat.¹ Kumis kucing (*O. stamineus*) merupakan salah satu tanaman yang telah lama digunakan secara tradisional oleh masyarakat khususnya untuk mengurangi risiko hipertensi. Salah satu penyebab hipertensi adalah adanya ketidakseimbangan radikal bebas dengan antioksidan yang tersedia di dalam tubuh. Dalam jumlah berlebih, radikal bebas dapat menyebabkan ketidakseimbangan dengan sistem antioksidan tubuh dan menimbulkan kondisi yang dikenal sebagai stres oksidatif.² Stres oksidatif ini berperan penting dalam terjadinya hipertensi karena dapat menyebabkan disfungsi endotel, peradangan kronis, serta gangguan regulasi sistem renin-angiotensin, yang semuanya berkontribusi terhadap peningkatan tekanan darah.³

Penelitian sebelumnya telah mengevaluasi efek farmakologis dari daun kumis kucing, terutama terkait sifat diuretik dan kemampuannya menurunkan tekanan darah.³ Hasil penelitian tersebut menunjukkan Daun kumis kucing mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid sinensetin dan eupatorin yang termasuk dalam kelompok flavon polimetoksi. Penelitian lain dengan metode yang sama dengan penelitian ini menunjukkan ekstrak daun kumis

*Corresponding author: Ariadne Calista Aspasia
E-mail addresses: ariadne.405220012@stu.untar.ac.id

kucing mengandung senyawa fenolik yang berperan penting dalam aktivitas antioksidannya.⁴ Selain itu, ekstrak daun kumis kucing juga mengandung metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai anti diabetes.⁵ Adapun penelitian yang dilakukan dengan metode GC-MS mendeteksi adanya 9 senyawa bioaktif dari ekstrak daun kumis kucing, dimana senyawa-senyawa bioaktif tersebut memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antikanker ataupun antibakteri.⁶

Data yang tersedia mengenai daun kumis kucing masih terbatas dan terfragmentasi. Masih jarang ditemukan studi yang secara komprehensif meneliti kandungan fitokimia, kadar total senyawa fenolik, kapasitas antioksidan melalui berbagai metode (seperti DPPH, ABTS, dan FRAP), serta toksisitas ekstrak daun kumis kucing dalam satu penelitian terpadu. Hal ini menimbulkan celah pengetahuan, khususnya dalam memberikan dasar ilmiah terhadap keamanan dan efektivitas tanaman ini sebagai fitofarmaka untuk pencegahan atau pengelolaan hipertensi. Keunikan penelitian ini terletak pada pendekatan menyeluruh melalui identifikasi metabolit sekunder, penentuan kadar fenolik total, pengukuran aktivitas antioksidan dengan tiga metode, dan uji toksisitas ekstrak daun kumis kucing. Hasil dari penelitian ini dapat memberikan data komprehensif tentang potensi terapeutik dan keamanan tanaman ini sebagai dasar pengembangan obat herbal berbasis ilmiah.

2. METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vitro* dan bioassay dengan pendekatan deskriptif menggunakan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*). Daun segar berwarna hijau dikumpulkan dari Ciruas, Kabupaten Serang, Banten, lalu diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Bahan yang digunakan meliputi daun kumis kucing, metanol, pereaksi Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, FRAP, serta larva *Artemia salina* untuk uji toksisitas. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta Barat, pada Desember 2024 hingga Mei 2025.

Persiapan dan pembuatan ekstrak diawali dengan pemilihan daun berwarna hijau segar tanpa kerusakan lalu dikeringkan dalam ruang teduh tanpa paparan sinar matahari langsung selama $\pm 4-5$ hari. Sampel kering digiling menjadi serbuk halus dan digunakan sebagai simplisia. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 24 jam, diikuti perkolasi untuk memperoleh filtrat jernih. Filtrat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental dan disimpan pada suhu 4°C untuk menjaga stabilitas senyawa aktifnya.²

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder utama pada ekstrak daun *O. stamineus*, meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, steroid, kuinon, kumarin, glikosida, dan fenolik. Setiap uji dilakukan dengan pereaksi spesifik seperti Mayer dan Wagner untuk alkaloid, FeCl_3 untuk tanin, serta reagen *Folin-Ciocalteu* untuk fenolik. Perubahan warna atau pembentukan endapan menjadi indikator positif adanya senyawa uji.⁷

Kadar total fenolik ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,2 mL ekstrak dicampur dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 15,8 mL akuades, kemudian diinkubasi selama 8 menit dalam kondisi gelap. Selanjutnya, 3 mL larutan Na_2CO_3 20% ditambahkan dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer, dan hasilnya dinyatakan dalam satuan mg GAE/g ekstrak berdasarkan kurva standar asam galat.⁸

Kapasitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing dianalisis menggunakan tiga metode yaitu DPPH, ABTS, dan FRAP. Pada uji DPPH, larutan DPPH 0,1 mM direaksikan dengan ekstrak pada berbagai konsentrasi dan absorbansi diukur pada 517 nm untuk menentukan persen inhibisi radikal. Uji ABTS dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan radikal ABTS^+ yang telah distandarisasi (absorbansi $\pm 0,70$) dan diukur pada 734 nm untuk menghitung kapasitas pemucatan radikal. Sementara itu, kemampuan reduksi ion dinilai melalui uji FRAP, di mana ekstrak direaksikan dengan larutan FRAP (TPTZ-FeCl_3) dan absorbansi diukur pada 593 nm untuk menentukan nilai aktivitas reduksi dalam satuan $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ ekuivalen. Ketiga parameter ini

digunakan secara bersamaan untuk memberikan penilaian komprehensif terhadap potensi antioksidan dari ekstrak tumbuhan.⁹

Uji toksisitas dilakukan melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan larva *Artemia salina*, menggunakan rentang konsentrasi ekstrak dari 100 hingga 1000 µg/mL. Persentase mortalitas larva dihitung setelah 24 jam, dan nilai LC₅₀ diperoleh melalui regresi linear antara konsentrasi dan persentase kematian larva. Semua pengujian dilakukan secara *triplo* untuk menjaga reproduktibilitas data. Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan pengolahan numerik dan visualisasi melalui kurva kalibrasi, regresi linear, serta perhitungan IC₅₀ dan LC₅₀ untuk menggambarkan aktivitas farmakologis dari ekstrak daun kumis kucing.

3. HASIL

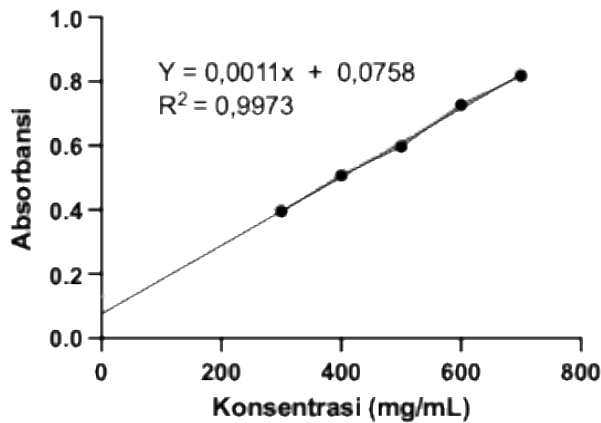
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) segar yang dikumpulkan dari wilayah Ciruas, Kabupaten Serang, Banten, dengan bobot awal 513 gram. Setelah dikeringkan dan dihaluskan, diperoleh simplisia seberat 161 gram, dan sebanyak 70,3 gram simplisia digunakan untuk proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi-perkolasi dengan pelarut metanol teknis (MeOH) sebanyak 700 mL untuk perendaman awal selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan perkolasi hingga pelarut yang menetes menjadi jernih. Proses ini menghasilkan ekstrak kental seberat 34,74 gram dengan rendemen sebesar 49,41%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, kardio glikosida, glikosida, kumarin, senyawa fenolik, kuinon, steroid, terpenoid, tanin, dan antosianin, sementara betasianin tidak terdeteksi (Tabel 1). Selanjutnya, dilakukan uji kadar fenolik menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Kurva standar disusun dengan menggunakan asam galat dan diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer Genesys 30-Vis. Hasilnya menghasilkan persamaan regresi $Y = 0,0011x + 0,0758$ dengan nilai R² sebesar 0,9973, yang mencerminkan hubungan linier yang sangat kuat (Gambar 1). Berdasarkan data absorbansi dan hasil perhitungan dari kurva tersebut, diperoleh kadar fenolik sebesar 517,45 µg/mL, yang setelah dilakukan pengenceran meningkat menjadi 1.035,8 µg/mL. Nilai ini kemudian dikonversi ke dalam satuan mg GAE/g DW dan menghasilkan angka 34,496 mg GAE/g DW (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing mengandung fenolik dalam jumlah cukup tinggi, sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Tabel 1.

Hasil uji fitokimia daun kumis kucing

Uji Kualitatif Fitokimia	Reagen/ Metode	Hasil Uji
Alkaloid	Mayer	Positif
Flavonoid	NaOH	Positif
Kardio Glikosida	Keller-Kiliani	Positif
Glikosida	Modified Borntrager	Positif
Saponin	Foam test	Positif
Kumarin	NaOH	Positif
Fenolik	Folin-Ciocalteu	Positif
Kuinon	H ₂ SO ₄	Positif
Betasianin	NaOH	Negatif
Steroid	Liebermann-Burchard	Positif
Terpenoid	Liebermann-Burchard	Positif
Tanin	Ferri Klorida	Positif
Antosianin	NaOH	Positif

Gambar 1.
Absorbansi larutan standar asam galat



Tabel 2.
Absorbansi dan kadar fenolik ekstrak daun kumis kucing

Tabung	Absorbansi (nm)	Rerata Absorbansi (nm)	Kadar Fenolik (x2) (µg/mL)	Kadar Fenolik Total (µg/mL)	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g DW)
1	0,640				
2	0,650	0,645	1.034,9	517,45	34,496
3	0,645				

Penilaian aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing dilakukan menggunakan tiga metode uji, yaitu DPPH, ABTS, dan FRAP (Tabel 3). Uji DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 116,294 µg/mL. Pada uji ABTS, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 18,265 µg/mL. Sementara itu, uji FRAP menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 29,672 µg/mL. Ketiga nilai IC₅₀ ini mengindikasikan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat, dengan potensi tertinggi ditunjukkan oleh metode ABTS (Tabel 3).

Tabel 3.
Hasil uji DPPH, ABTS dan FRAP ekstrak daun kumis kucing

Uji Antioksidan	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata - Rata	Persen Inhibisi (%)	IC50 (µg/mL)
DPPH	100	0,343	44,944	116,294
ABTS	20	0,163	60,341	18,265
FRAP	20	0,273	32,601	0,184

Pada uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 212,733 µg/mL (Tabel 4). Tabel menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi ekstrak dan toksisitas bersifat linear yang sangat kuat dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi pula tingkat mortalitasnya.

Tabel 4.

Hasil uji toksisitas daun kumis kucing

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Mortalitas (%)	LC 50 ($\mu\text{g/mL}$)
100	2,00	18,750	
200	2,30	40,426	
300	2,48	62,500	212,733
400	2,60	83,333	
500	2,70	94,030	
600	2,78	97,590	

Seluruh hasil menunjukkan aktivitas biologis ekstrak daun kumis kucing yang signifikan terhadap radikal bebas dan potensi toksisitas ringan, sesuai dengan tujuan penelitian untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak daun kumis kucing.

4. PEMBAHASAN

Tanaman *O.stamineus*, dikenal luas sebagai kumis kucing, merupakan tanaman tropis yang tumbuh subur di Indonesia dan negara Asia Tenggara lainnya, serta telah lama dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh masyarakat. Ciri khas tanaman ini adalah bentuk benang sarinya yang memanjang menyerupai kumis kucing, dan dikenal memiliki berbagai manfaat farmakologis, seperti diuretik, antiinflamasi, serta antimikroba.^{1,2} Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, kumarin, kuinon, glikosida, serta senyawa fenolik, yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Aktivitas biologis tersebut erat kaitannya dengan kemampuannya dalam menetralkan reactive oxygen species (ROS), yaitu senyawa oksigen reaktif yang terbentuk sebagai hasil metabolisme sel maupun paparan lingkungan eksternal, dan apabila tidak dikontrol, dapat memicu stres oksidatif serta berbagai penyakit degeneratif. Dalam tubuh, antioksidan berperan sebagai senyawa pelindung yang bekerja melalui mekanisme penangkap radikal bebas, penghambat reaksi berantai oksidatif, serta sebagai pengikat ion logam prooksidan.^{2,8} Oleh karena itu, kemampuan ekstrak kumis kucing dalam menghambat ROS melalui uji kapasitas antioksidan menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP menjadi parameter penting untuk menilai potensinya sebagai sumber antioksidan alami. Proses ekstraksi kumis kucing dilakukan dengan metode maserasi dan perkolasi yang bertujuan memaksimalkan perolehan senyawa aktif.⁴ Selain itu, evaluasi toksisitas melalui metode BSLT terhadap larva *Artemia salina* menjadi penting untuk menilai aspek keamanan dari ekstrak yang diperoleh.¹⁰ Studi ini tidak hanya membuktikan adanya kandungan senyawa aktif dengan kapasitas antioksidan tinggi, namun juga memberikan data mengenai tingkat toksisitas, sehingga dapat memberikan landasan ilmiah dalam pemanfaatan kumis kucing sebagai agen fitofarmaka yang aman dan potensial untuk aplikasi kesehatan.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing memberikan reaksi positif terhadap berbagai senyawa metabolit sekunder aktif, termasuk alkaloid, flavonoid, kumarin, glikosida jantung, fenolik, kuinon, saponin, dan tanin, serta negatif terhadap betasianin. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maulana et al., yang juga melaporkan keberadaan senyawa-senyawa tersebut dalam ekstrak tanaman tersebut *O. stamineus* kaya akan senyawa aktif.⁵ Kandungan alkaloid dan flavonoid diketahui berperan dalam aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi, sedangkan kardioglikosida dan kumarin berkontribusi pada efek kardioprotektif dan antikoagulan.¹² Senyawa fenolik, tanin, dan antosianin juga memberikan efek protektif terhadap stres oksidatif, mendukung klaim potensi ekstrak ini sebagai bahan fitofarmaka.¹³

Penentuan standar asam galat menggunakan spektrofotometer Genesys 30-Vis pada panjang gelombang 765 nm menghasilkan persamaan regresi $Y = 0,0011x + 0,0758$ dengan $R^2 = 0,9973$, menunjukkan hubungan linier yang sangat kuat dan valid untuk analisis kadar fenolik. Berdasarkan kurva ini, kadar fenolik ekstrak daun kumis kucing diperoleh sebesar 517,45 $\mu\text{g/mL}$,

yang setelah pengenceran menjadi 1.034,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ atau 34,496 mg GAE/g DW. Senyawa fenolik diketahui berperan penting sebagai antioksidan alami. Studi sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak metanol daun kumis kucing mengandung berbagai senyawa aktif dengan total fenolik 70,43 mg/g dan aktivitas antioksidan kuat ($\text{IC}_{50} = 66,43 \text{ ppm}$).¹⁴ Oleh karena itu, pengukuran kadar fenolik menjadi parameter penting dalam menilai potensi farmakologis ekstrak ini.

Uji kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan tiga metode yaitu DPPH, ABTS, dan FRAP. Pada metode DPPH, nilai IC_{50} ekstrak kumis kucing tercatat sebesar 116,294 $\mu\text{g}/\text{mL}$, yang tergolong sebagai aktivitas sedang menurut klasifikasi IC_{50} yang menyatakan bahwa nilai antara 101–150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ menunjukkan aktivitas antioksidan sedang.¹⁵ Hasil ini sejalan dengan penelitian Salasa dkk., yang melaporkan IC_{50} sebesar 65,62 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mengindikasikan potensi ekstrak sebagai antioksidan.⁴ Sebagai pembanding, Trolox digunakan sebagai standar dengan IC_{50} sebesar 20,326 $\mu\text{g}/\text{mL}$, menunjukkan efektivitas lebih tinggi namun tetap sebanding.

Metode ABTS menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 18,265 $\mu\text{g}/\text{mL}$, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tergolong sangat kuat ($\text{IC}_{50} \leq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$). Trolox dalam metode ini memiliki IC_{50} sebesar 13,266 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil ini sejalan dengan temuan Marliani dkk. dan Waris dkk., yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.^{16,17} Meskipun ekstrak memiliki nilai IC_{50} sedikit lebih tinggi dibandingkan Trolox, memiliki IC_{50} sebesar 13,27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tetap menunjukkan kapabilitas sebagai antioksidan alami yang menjanjikan.

Pada metode FRAP, ekstrak menunjukkan IC_{50} sebesar 29,672 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Trolox sebagai standar memiliki IC_{50} sebesar 10,839 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Meskipun nilainya lebih tinggi dari standar, hasil ini masih dalam kategori antioksidan kuat ($\text{IC}_{50} \leq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$), sebagaimana dikelompokkan oleh Bovani *et al.*¹⁸ Ketiga metode menunjukkan konsistensi bahwa ekstrak kumis kucing memiliki kemampuan signifikan dalam menangkal radikal bebas melalui berbagai mekanisme.¹⁹

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT dengan larva *Artemia salina*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak memiliki nilai LC_{50} sebesar 212,733 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dikategorikan dalam toksisitas sedang menurut klasifikasi Zakaria *et al.* (LC_{50} 100–500 $\mu\text{g}/\text{mL}$).²⁰ Hasil menunjukkan korelasi kuat antara konsentrasi dan mortalitas larva. Temuan ini sejalan dengan Surahmaida yang menyatakan bahwa tanaman seperti *O. stamineus* memiliki potensi toksik terhadap *A. salina*, menjadikan uji BSLT sebagai metode skrining awal toksisitas yang layak digunakan sebelum melanjutkan ke tahap *in vivo*.²¹

5. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing mengandung berbagai metabolit sekunder penting, memiliki aktivitas antioksidan yang baik, dan bersifat tidak toksik, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami. Untuk mendukung pengembangan lebih lanjut, disarankan: (1) dilakukan identifikasi senyawa aktif spesifik yang berperan dalam aktivitas antioksidan; (2) dilakukan uji aktivitas antioksidan secara *in vivo* untuk menilai efektivitas dan mekanisme kerjanya pada sistem biologis; (3) dilakukan pengujian toksisitas tambahan dengan metode berbeda untuk memastikan keamanan pada dosis lebih tinggi; serta (4) dikembangkan formulasi produk berbasis ekstrak daun kumis kucing dengan mempertimbangkan aspek dosis, stabilitas, dan efektivitas.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Batubara I, Komariah K, Sandrawati A, Nurcholis W. Genotype selection for phytochemical content and pharmacological activities in ethanol extracts of fifteen types of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. leaves using chemometric analysis. Sci Rep [Internet]. 2020 Dec [cited 2025 Apr 29];10(1):20945. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77991-2>
2. Reena R, William Arputha Sundar AS, Sandhya SM, Gopal L. A Review on free radicals and antioxidants. Indo Am J Pharm Sci [Internet]. 2018 Nov [cited 2025 Apr 29];5(11):11541–8. Available from: <http://www.iajps.com>
3. Faramayuda F, Julian S, Windyaswari AS, Mariani TS. Review: Flavonoid pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.). Mulawarman Pharm Conf [Internet]. 2021 Apr [cited

- 2025 Apr 29];13(1):1–9. Available from: <https://prosiding.ff.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/download/400/MPC/1172>
4. Salasa AM, Ratnah S, Abdullah T. Kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.). Media Farmasi [Internet]. 2021 Oct [cited 2025 Apr 29];17(2):162–7. Available from: https://www.researchgate.net/publication/364426351_Kandungan_Total_Flavonoid_dan_Aktivitas_Antioksidan_Ekstrak_Daun_Kumis_Kucing_Orthosiphon_stamineus_B
 5. Maulana F, Muhammad AA, Umar A, Mahendra FR, Musthofa M, Nurcholis W. Profiling metabolites through chemometric analysis in *Orthosiphon aristatus* extracts as α -glucosidase inhibitory activity and in silico molecular docking. Indones J Chem [Internet]. 2022 Apr [cited 2026 Feb 25];22(2):501–14. Available from: <https://doi.org/10.22146/ijc.71334>
 6. Surahmaida S, Umarudin U, Junairiah J. Senyawa bioaktif daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*). J Kimia Riset [Internet]. 2019 Jun [cited 2026 Feb 25];4(1):81–88. Available from: <https://doi.org/10.20473/jkr.v4i1.13176>
 7. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D’Andrea L, Napolitano P, D’Alessandro AG. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. Oxygen [Internet]. 2022 Apr [cited 2025 Apr 29];2(2):48–78. Available from: <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
 8. Hikmah F, Hardiany NS. Peran reactive oxygen species (ROS) dalam sel punca kanker. J Kedokteran YARSI [Internet]. 2021 Sep–Dec [cited 2025 Apr 29];29(3):120–34. Available from: <https://doi.org/10.33476/jky.v29i3.1270>
 9. Ramadhani I, Artika IM, Nurcholis W. Pengaruh naungan terhadap kadar total terpenoid dan aktivitas antioksidan pada daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*). IPB Repository [Internet]. 2024 [cited 2025 Apr 29]. Available from: <https://repository.ipb.ac.id/>
 10. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. Materials [Internet]. 2021 Jul [cited 2025 Apr 29];14(15):4135. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
 11. Pohan DJ, Marantuan RS, Djojoputro M. Toxicity test of strong drug using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. Int J Health Sci Res [Internet]. 2023 Feb [cited 2025 Apr 29];13(2):203–9. Available from: https://www.ijhsr.org/IJHSR_Vol.13_Issue.2_Feb2023/IJHSR28.pdf
 12. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Medicines [Internet]. 2015 Sep [cited 2025 Apr 29];2(3):251–86. Available from: <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>
 13. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. J Nutr Sci [Internet]. 2016 Oct [cited 2025 Apr 29];5:e47. Available from: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
 14. Afni L, Daulay AS, Rahayu YP. Penetapan kadar fenolik total ekstrak kayu raru (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri UV–Vis. J Pharm Scie [Internet]. 2023 Oct–Dec [cited 2025 Apr 29];6(4):1811–18. Available from: <https://journal-jps.com/new/index.php/jps/article/download/306/217>
 15. Izazi F, Hardiyono H, Kresnamurti A. Antioxidant activity and phytochemical profile of *Diadema paucispinum* from Sumenep–Madura, Indonesia. Biomed Pharmacol J [Internet]. 2024 Jun [cited 2025 Apr 29];16(4):2511–20. Available from: <https://doi.org/10.13005/bpj/2893>
 16. Marliani L, Sukmawati IK, Juanda D, Anjani E, Anggraeni I. Penapisan fitokimia, kadar kurkuminoid dan aktivitas antibakteri *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma zedoaria* dan *Curcuma xanthorrhiza*. Herb-Med J [Internet]. 2021 Mar [cited 2025 Apr 29];4(1):57–64. Available from: <https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/HMJ/article/view/9092>
 17. Nurcholis P, Mahendra FR, Gultom MF, Khoirunnisa S, Kurnia MAC, Harahap H, et al. Phytochemical, antioxidant and antibacterial screening of *Orthosiphon stamineus* leaf extract two phenotypes. J Jamu Indones [Internet]. 2022 Dec [cited 2025 Apr 29];7(3):121–9. Available from: <https://jamu-journal.ipb.ac.id/index.php/JJI/article/view/280>

18. Bovani RP, Liwanda N, Batubara I, Ambarsari L, Nurcholis W. Phytochemical content and antioxidant capacity of ethyl acetate extracts from fifteen *Orthosiphon aristatus* leaves genotypes. Biodiversitas [Internet]. 2024 Feb [cited 2025 Apr 29];25(2):763–9. Available from: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250233>
19. Fatmawaty, Anggreni NGM, Fadhil N, Prasasty VD. Potential in vitro and in vivo antioxidant activities from *Piper crocatum* and *Persea americana* leaf extracts. Biomed Pharmacol J [Internet]. 2019 Jun [cited 2025 Apr 29];12(2):661–7. Available from: <https://biomedpharmajournal.org/vol12no2/potential-in-vitro-and-in-vivo-antioxidant-activities-from-piper-crocatum-and-persea-americana-leaf-extracts/>
20. Zakaria Z, Soekamto NH, Dali N, Amalia HAM, Syarifuddin SH. Toxicity test using the brine shrimp lethality test (BSLT) method on extracts of stem bark, stem wood and leaves of bayur (*Pterospermum diversifolium* B. Rob.). Elkawnie [Internet]. 2024 Jun [cited 2025 Apr 29];10(1):42–49. Available from: <https://jurnal.ar-raniry.ac.id/index.php/elkawnie/article/view/20380>
21. Surahmaida. Toxicity test of cat whiskers (*Orthosiphon stamineus*) and miana (*Coleus artropurpureus*) leaves against *Artemia salina* Leach using BSLT. J Biol Tropis [Internet]. 2023 Jan [cited 2025 Apr 29];23(1):179–85. Available from: <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i1.4382>