

Artikel Penelitian

Pengaruh suhu penyimpanan simplisia terhadap aktivitas antioksidan ekstrak brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) menggunakan metode DPPH

Effect of simplisia storage temperature on the antioxidant activity of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) extract using the DPPH Method

Yulius Evan Christian^{1*}, Dini Permata Sari², Burhanuddin Gumay², Grace Nathania Augustine¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Universitas Kader Bangsa, Palembang, Indonesia

*Email korespondensi: yulius.christian@atmajaya.ac.id

Abstrak

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) merupakan sayuran yang kaya senyawa fenolik dan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, namun kestabilan senyawa bioaktifnya dapat dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan simplisia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan simplisia terhadap aktivitas antioksidan ekstrak brokoli menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Penelitian dilakukan secara eksperimental melalui penyimpanan simplisia pada suhu dingin, suhu ruang, dan suhu panas, dilanjutkan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Aktivitas antioksidan ditentukan secara spektrofotometri UV-Vis melalui penetapan panjang gelombang maksimum, operating time, persen inhibisi, dan nilai IC₅₀, serta dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan panjang gelombang maksimum DPPH pada 515 nm dengan waktu inkubasi optimum menit ke-20. Nilai IC₅₀ ekstrak brokoli pada suhu dingin, ruang, dan panas berturut-turut sebesar 32,08 ppm; 43,95 ppm; dan 46,43 ppm, sedangkan vitamin C sebesar 22,72 ppm. Seluruh ekstrak termasuk kategori antioksidan sangat kuat, dengan aktivitas terbaik pada penyimpanan suhu dingin. Temuan ini menunjukkan bahwa suhu penyimpanan simplisia berperan penting dalam mempertahankan kestabilan senyawa bioaktif dan kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli.

Diterima: 18 Februari 2026

Disetujui: 22 Mei 2026

Publikasi: 29 Mei 2026

Sitasi Y. E. Christian, D. P. Sari, B. Gumay, G. N. Augustine, "Pengaruh Suhu Penyimpanan Simplisia terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Menggunakan Metode DPPH", *J. Sains Kes.*, vol. 7 no. 2, pp. 121-131, Mei 2026, doi: 10.30872/jsk.v7i2.1035

Copyright: © tahun, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains.Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License



Kata kunci: brokoli, suhu penyimpanan, antioksidan, DPPH, IC₅₀

Abstract

Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) is a vegetable rich in phenolic compounds and has potential as a natural antioxidant source; however, the stability of its bioactive compounds can be affected by storage conditions of the simplicia. This study aimed to determine the effect of simplicia storage temperature on the antioxidant activity of broccoli extract using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The research was conducted experimentally by storing simplicia at cold, room, and high temperatures, followed by extraction using maceration with 96% ethanol. Antioxidant activity was evaluated spectrophotometrically (UV-Vis) through determination of maximum wavelength, operating time, percentage inhibition, and IC_{50} value, and was compared with vitamin C as a positive control. The results showed that the maximum absorption wavelength of DPPH was 515 nm with an optimum incubation time of 20 minutes. The IC_{50} values of broccoli extract stored at cold, room, and high temperatures were 32.08 ppm, 43.95 ppm, and 46.43 ppm, respectively, while vitamin C showed an IC_{50} of 22.72 ppm. All extracts were categorized as having very strong antioxidant activity, with the best activity observed in the cold storage treatment. These findings indicate that simplicia storage temperature plays an important role in maintaining the stability of bioactive compounds and the antioxidant potency of broccoli extract.

Keywords: broccoli, storage temperature, antioxidant, DPPH, IC_{50}

1 Pendahuluan

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) merupakan salah satu sayuran dari famili Brassicaceae yang dikenal memiliki kandungan nutrisi tinggi serta berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan manfaat kesehatan. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, vitamin C, karotenoid, serta senyawa sulfur golongan glukosinolat beserta produk hidrolisisnya. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan alami yang mampu menangkal radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron maupun atom hidrogen sehingga dapat menghambat proses oksidasi yang merusak komponen seluler. Oleh karena itu, brokoli banyak dikaji sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi dikembangkan dalam bidang farmasi, pangan fungsional, maupun bahan baku sediaan herbal [1].

Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan dan dapat memicu terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh. Kondisi stres oksidatif berkaitan erat dengan berbagai gangguan kesehatan, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes melitus, gangguan neurodegeneratif, serta proses penuaan dini. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan antioksidan endogen, namun jumlahnya sering kali tidak mencukupi untuk menyeimbangkan produksi radikal bebas yang berlebihan. Oleh sebab itu, asupan antioksidan eksogen dari bahan alam menjadi sangat penting dalam upaya pencegahan kerusakan sel serta pemeliharaan kesehatan secara berkelanjutan [2].

Dalam pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat tradisional, tahapan pascapanen memiliki peranan penting terhadap mutu simplisia dan kestabilan senyawa aktif. Proses pengeringan serta kondisi penyimpanan simplisia, khususnya suhu penyimpanan, dapat memengaruhi stabilitas metabolit sekunder yang bersifat sensitif terhadap panas, cahaya, maupun oksidasi. Suhu penyimpanan yang terlalu tinggi berpotensi mempercepat degradasi senyawa fenolik, flavonoid, dan vitamin C melalui reaksi oksidatif maupun enzimatis sehingga dapat menurunkan aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan. Sebaliknya, penyimpanan pada suhu rendah dapat memperlambat laju reaksi degradasi kimia serta membantu mempertahankan kandungan senyawa bioaktif dalam simplisia. Oleh

karena itu, pengendalian suhu penyimpanan menjadi faktor penting dalam standardisasi mutu bahan alam sebelum dilakukan proses ekstraksi [3].

Penentuan aktivitas antioksidan bahan alam umumnya dilakukan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk tereduksi berwarna kuning, yang kemudian diukur secara spektrofotometri. Kekuatan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidan suatu bahan. Metode DPPH banyak digunakan karena prosedurnya relatif sederhana, sensitif, serta mampu memberikan gambaran kuantitatif mengenai kemampuan penangkapan radikal bebas dari suatu ekstrak tanaman [3].

Berbagai penelitian telah melaporkan bahwa brokoli memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi baik dalam bentuk segar maupun ekstrak. Namun demikian, kajian yang secara khusus mengevaluasi pengaruh suhu penyimpanan simplisia terhadap perubahan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli masih terbatas. Sebagian penelitian lebih menitikberatkan pada kandungan nutrisi atau aktivitas antioksidan tanpa mempertimbangkan faktor stabilitas pascapanen sebagai variabel utama. Padahal, kondisi penyimpanan simplisia berpotensi menentukan kualitas ekstrak yang dihasilkan serta efektivitas biologisnya. Keterbatasan informasi ini menunjukkan adanya kesenjangan pengetahuan yang perlu diteliti lebih lanjut, khususnya terkait hubungan antara suhu penyimpanan simplisia brokoli dan potensi aktivitas antioksidan ekstrakannya [4].

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk diketahui pengaruh variasi suhu penyimpanan simplisia brokoli terhadap aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan menggunakan metode DPPH serta untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder ekstrak brokoli. Penelitian ini diharapkan mampu menentukan kondisi suhu penyimpanan simplisia yang paling optimal dalam mempertahankan aktivitas antioksidan sehingga dapat mendukung standardisasi mutu bahan alam sebagai sumber antioksidan [3].

Penelitian ini terletak pada pengkajian sistematis pengaruh suhu penyimpanan simplisia brokoli terhadap perubahan aktivitas antioksidan ekstrakannya menggunakan parameter IC₅₀ metode DPPH, yang tidak hanya menilai potensi antioksidan tetapi juga menekankan aspek stabilitas pascapanen sebagai faktor penentu kualitas bahan baku fitofarmaka. Pendekatan ini memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan standar penyimpanan simplisia berbasis aktivitas biologis, khususnya pada tanaman brokoli sebagai sumber antioksidan alami [4].

2 Metode Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi oven, freezer, timbangan digital, termometer, bejana maserasi, kertas saring, rotary evaporator, jar penyimpanan ekstrak kental, tabung reaksi, rak tabung, gelas ukur, kaca arloji, batang pengaduk, beaker glass, pipet tetes, spatula, labu ukur, pipet mikro, vial, aluminium foil, serta spektrofotometer UV-Vis.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan terdiri atas brokoli segar sebagai bahan uji, etanol 96% sebagai pelarut ekstraksi, gelatin 10%, FeCl₃ 1%, serbuk magnesium (Mg), amil alkohol, air panas, HCl 1%, FeCl₃ 5%, reagen Mayer, reagen Dragendorff, larutan DPPH, vitamin C sebagai kontrol positif, serta metanol pro analysis (P.A.).

2.3. Pengambilan dan Determinasi Sampel

Sampel brokoli segar sebanyak 8 kg diambil dari wilayah Kecamatan Selupu Rejang, Kabupaten Rejang Lebong, Provinsi Bengkulu, Indonesia. Sampel yang diperoleh kemudian dibuat herbarium dan dilakukan determinasi botani untuk memastikan kebenaran identitas tanaman. Proses determinasi dilaksanakan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH), Institut Teknologi Bandung (ITB), Bandung, Jawa Barat, Indonesia [4].

2.4. Pembuatan Simplisia dan Perlakuan Suhu Penyimpanan

Brokoli yang telah dipanen terlebih dahulu dilakukan sortasi basah dengan cara memisahkan bagian bunga sebagai bagian yang digunakan dari bagian lain yang tidak diperlukan. Sampel kemudian dicuci menggunakan air bersih yang mengalir hingga bebas dari kotoran, selanjutnya ditiriskan hingga tidak terdapat sisa air berlebih. Bagian bunga yang telah bersih dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok kemudian disimpan pada kondisi suhu berbeda, yaitu suhu dingin, suhu ruang, dan suhu panas. Perlakuan suhu penyimpanan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kondisi penyimpanan terhadap stabilitas senyawa bioaktif simplisia sebelum dilakukan proses ekstraksi [5].

2.5. Pembuatan Ekstrak dengan Metode Maserasi

Simplisia kering dari masing-masing perlakuan suhu ditimbang sebanyak 100 g, kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan 1 liter etanol 96% sebagai pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang dengan sesekali pengadukan agar kontak antara pelarut dan bahan berlangsung optimal. Setelah 24 jam, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Ampas yang tersisa kemudian diremaserasi kembali sebanyak dua kali menggunakan pelarut yang sama dengan prosedur serupa untuk memperoleh ekstraksi senyawa aktif yang maksimal. Seluruh filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental [6].

2.6. Skrining Fitokimia [7]

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak brokoli secara kualitatif melalui perubahan warna, pembentukan endapan, maupun terbentuknya busa setelah penambahan pereaksi spesifik.

2.6.1 Uji Tanin

Ekstrak brokoli dipanaskan hingga mendidih bersama 20 mL air, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru kehitaman atau coklat kehijauan menunjukkan hasil positif adanya tanin.

2.6.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak brokoli dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium (Mg) dan digojok hingga tercampur merata. Selanjutnya ditambahkan asam klorida pekat. Terbentuknya warna kuning, merah, atau jingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2.6.3 Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dietil eter, kemudian didiamkan selama 10 menit dan filtrat dipisahkan. Filtrat selanjutnya ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Perubahan warna merah-ungu menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

2.6.4 Uji Alkaloid

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan HCl 2%, kemudian larutan dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama ditambahkan 2–3 tetes reagen Dragendorff, sedangkan bagian kedua ditambahkan reagen Mayer. Terbentuknya endapan jingga, merah, atau merah bata pada pereaksi Dragendorff dan/atau endapan putih hingga kekuningan pada pereaksi Mayer menunjukkan hasil positif adanya alkaloid.

2.6.5 Uji Saponin

Sebagian ekstrak dicampurkan dengan 0,5 mL air panas kemudian dikocok kuat selama ± 10 detik hingga terbentuk busa. Setelah itu ditambahkan larutan HCl 1% dan didiamkan selama ± 10 menit. Apabila busa tetap stabil dan tidak menghilang, maka ekstrak dinyatakan positif mengandung saponin.

2.6.6 Uji Fenol

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 3–4 tetes larutan FeCl_3 5%. Terbentuknya warna hitam kebiruan hingga hitam pekat menunjukkan adanya senyawa fenolik.

2.6.7 Uji Kuinon

Sebanyak 1 mL sampel ekstrak ditambahkan larutan NaOH 1 N, kemudian diamati perubahan warnanya. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan hasil positif adanya senyawa kuinon.

2.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH [8]

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) secara spektrofotometri UV-Vis. Pengujian meliputi penentuan aktivitas antioksidan perbandingan asam askorbat serta aktivitas antioksidan ekstrak brokoli pada berbagai konsentrasi hingga diperoleh nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀).

2.8. Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat [8]

2.8.1. Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH ditimbang secara teliti, kemudian dilarutkan menggunakan metanol pro analysis hingga volume akhir 100 mL dalam labu ukur. Larutan dihomogenkan dan disimpan dalam kondisi terlindung dari cahaya.

2.8.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH [8]

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 50 ppm dicampurkan dengan 2 mL metanol pro analysis, kemudian dihomogenkan. Campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah inkubasi, larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400–700 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum serapan DPPH.

2.8.3. Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat 100 ppm

Sebanyak 5 mg asam askorbat ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan menggunakan metanol pro analysis hingga mencapai tanda batas. Larutan dihomogenkan dan wadah ditutup menggunakan aluminium foil untuk mencegah degradasi akibat cahaya.

2.8.4. Pembuatan Larutan Seri Asam Askorbat [9]

Larutan standar asam askorbat 100 ppm dipipet masing-masing sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL yang telah dibungkus aluminium foil, kemudian ditambahkan metanol pro analysis hingga tanda batas. Prosedur ini menghasilkan larutan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

2.8.5. Pengukuran Absorbansi Asam Askorbat [9]

Setiap larutan seri konsentrasi asam askorbat dipipet sebanyak 1 mL dan dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran diinkubasi selama 20 menit dalam kondisi gelap pada suhu kamar. Setelah inkubasi, absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan.

2.8.6. Penentuan Nilai IC₅₀ Asam Askorbat

Persentase penghambatan radikal bebas dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi kontrol terhadap absorbansi sampel. Hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi dianalisis menggunakan regresi linear untuk memperoleh nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Penentuan IC₅₀ juga dapat dianalisis menggunakan pendekatan probit terhadap data log konsentrasi dan persen inhibisi.

2.9. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Brokoli

2.9.1 Pembuatan Larutan Standar Ekstrak Brokoli 100 ppm

Ekstrak kental brokoli ditimbang sebanyak 5 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan menggunakan metanol pro analysis hingga tanda batas. Larutan dihomogenkan dan dilindungi dari cahaya menggunakan aluminium foil.

2.9.2 Pembuatan Larutan Seri Ekstrak Brokoli

Larutan standar ekstrak brokoli 100 ppm dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL yang dibungkus aluminium foil, kemudian ditambahkan metanol pro analysis hingga tanda batas untuk memperoleh konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

2.9.3 Pengukuran Absorbansi Ekstrak Brokoli

Masing-masing larutan seri ekstrak brokoli dipipet sebanyak 1 mL dan dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran diinkubasi selama 20 menit dalam kondisi gelap pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH.

2.9.4 Penentuan Nilai IC₅₀ Ekstrak Brokoli

Persentase penghambatan radikal bebas dihitung dari selisih absorbansi kontrol dan sampel terhadap absorbansi kontrol. Hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi dianalisis menggunakan regresi linear untuk memperoleh nilai IC₅₀ ekstrak brokoli. Nilai IC₅₀ digunakan sebagai parameter kekuatan aktivitas antioksidan dan dibandingkan antar perlakuan suhu penyimpanan simplisia.

3 Hasil dan Pembahasan

Determinasi botani dilakukan untuk memastikan identitas sampel sehingga hasil penelitian yang diperoleh benar-benar berasal dari brokoli. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel termasuk famili Brassicaceae dengan spesies *Brassica oleracea* L. Kepastian identitas ini penting karena perbedaan spesies dalam famili yang sama dapat menyebabkan variasi kandungan metabolit sekunder dan perbedaan potensi aktivitas antioksidan, sehingga determinasi menjadi dasar validitas ilmiah sebelum tahap pembuatan simplisia, ekstraksi, dan pengujian bioaktivitas.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam dan dilanjutkan remaserasi sebanyak dua kali untuk memaksimalkan penarikan senyawa aktif. Hasil rendemen ekstrak kental untuk masing-masing perlakuan suhu penyimpanan simplisia disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Brokoli pada Variasi Suhu Penyimpanan Simplisia

Suhu penyimpanan	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak kental (g)	Rendemen ekstrak (%)
Suhu dingin	300	87	29,0
Suhu ruang	300	46	15,3
Suhu panas	300	64	21,3

Berdasarkan Tabel 1, rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan suhu dingin (29,0%), diikuti suhu panas (21,3%) dan suhu ruang (15,3%). Perbedaan rendemen ini menunjukkan bahwa suhu penyimpanan simplisia memengaruhi kualitas bahan sebelum ekstraksi dan jumlah komponen yang dapat diekstraksi. Penyimpanan suhu dingin cenderung mempertahankan stabilitas komponen kimia dengan menekan laju degradasi oksidatif maupun enzimatis, sehingga lebih banyak senyawa tetap utuh dan dapat ditarik oleh pelarut. Rendemen terendah pada suhu ruang dapat mengindikasikan terjadinya penurunan komponen ekstraktif selama penyimpanan akibat proses oksidasi bertahap, fluktuasi suhu lingkungan, serta kemungkinan perubahan fisik simplisia yang menurunkan efisiensi difusi pelarut ke jaringan bahan. Pada suhu panas, rendemen berada pada nilai menengah; kondisi ini dapat dipengaruhi oleh dua efek yang saling berlawanan, yaitu panas yang dapat mempermudah pelepasan komponen tertentu dari jaringan namun juga berpotensi mempercepat degradasi senyawa termolabil, sehingga hasil rendemen tidak menjadi paling tinggi.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak brokoli yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan [7]. Hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Brokoli pada Variasi Suhu Penyimpanan Simplisia

No Uji fitokimia	Perlakuan	Pereaksi	Hasil pengamatan	Kesimpulan	
1	Flavonoid	Suhu dingin	Mg + HCl pekat	Terbentuk warna jingga	Positif (+)
		Suhu ruang	Mg + HCl pekat	Terbentuk warna jingga	Positif (+)
		Suhu panas	Mg + HCl pekat	Terbentuk warna jingga	Positif (+)
2	Tanin	Suhu dingin	FeCl 1%	Terbentuk warna hijau kecoklatan	Positif (+)
		Suhu ruang	Gelatin 10%	Terbentuk endapan	Positif (+)
		Suhu panas	FeCl 1%	Terbentuk warna hijau kecoklatan	Positif (+)
3	Saponin	Suhu dingin	Air panas + HCl 1%	Terbentuk busa yang konstan	Positif (+)
		Suhu ruang	Air panas + HCl 1%	Terbentuk busa yang konstan	Positif (+)
		Suhu panas	Air panas + HCl 1%	Terbentuk busa yang konstan	Positif (+)
4	Fenol	Suhu dingin	FeCl ₃ 5%	Terbentuk warna hijau	Positif (+)
		Suhu ruang	FeCl ₃ 5%	Terbentuk warna hijau	Positif (+)
		Suhu panas	FeCl ₃ 5%	Terbentuk warna hitam	Positif (+)
5	Alkaloid	Suhu dingin	Dragendorff	Terbentuk endapan jingga	Positif (+)
			Mayer	Terbentuk endapan putih	Positif (+)
		Suhu ruang	Dragendorff	Terbentuk endapan jingga	Positif (+)
			Mayer	Terbentuk endapan putih	Positif (+)
Suhu panas	Dragendorff	Terbentuk endapan jingga	Positif (+)		
	Mayer	Terbentuk endapan kuning	Positif (+)		
6	Kuininon	Suhu dingin	NaOH 1 N	Terbentuk warna kuning	Positif (+)
		Suhu ruang	NaOH 1 N	Terbentuk warna kuning	Positif (+)
		Suhu panas	NaOH 1 N	Terbentuk warna merah	Positif (+)
7	Steroid	Suhu dingin	Dietil eter + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kebiruan	Positif (+)
		Suhu panas	Dietil eter + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kebiruan	Positif (+)
8	Triterpenoid	Suhu ruang	Dietil eter + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Terbentuk warna merah	Positif (+)

Berdasarkan Tabel 2, ekstrak brokoli menunjukkan hasil positif mengandung beberapa golongan metabolit sekunder, terutama golongan fenolik (fenol, flavonoid, tanin) yang dikenal berperan kuat dalam aktivitas antioksidan. Hasil positif flavonoid pada semua perlakuan ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga setelah penambahan Mg dan HCl pekat. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki gugus hidroksil, sehingga mampu meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogen dan menstabilkan radikal melalui resonansi. Keberadaan flavonoid pada semua kelompok perlakuan mengindikasikan bahwa komponen ini masih dapat dideteksi setelah penyimpanan pada suhu berbeda, namun kemungkinan kadarnya dapat berbeda sehingga memengaruhi nilai IC₅₀ pada uji DPPH [7].

Uji tanin memberikan hasil positif pada semua perlakuan, ditunjukkan oleh perubahan warna hijau kecoklatan dengan FeCl 1% pada suhu dingin dan panas serta terbentuknya endapan pada

pengujian gelatin 10% untuk suhu ruang. Tanin merupakan polifenol yang dapat mengikat protein serta bersifat astringen, dan secara kimia mampu bertindak sebagai antioksidan karena kapasitasnya sebagai donor elektron dan pembentuk kompleks dengan radikal. Hasil positif tanin mendukung adanya senyawa reduktor dalam ekstrak brokoli yang berkontribusi pada penghambatan radikal DPPH. Uji saponin juga menunjukkan hasil positif pada seluruh perlakuan melalui pembentukan busa yang konstan setelah pengocokan dengan air panas dan penambahan HCl 1%. Saponin dapat berperan sebagai senyawa bioaktif yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis tanaman, dan pada beberapa ekstrak tanaman dapat memberikan efek protektif terhadap proses oksidatif melalui mekanisme tidak langsung maupun sinergis dengan polifenol. Uji fenol menunjukkan reaksi positif pada semua perlakuan dengan terbentuknya perubahan warna setelah penambahan FeCl₃ 5%. Perubahan warna menjadi hijau hingga lebih gelap menunjukkan adanya interaksi ion Fe³⁺ dengan gugus hidroksil aromatik pada senyawa fenolik membentuk kompleks berwarna. Keberadaan fenol merupakan indikator penting karena senyawa fenolik merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan, terutama pada metode DPPH yang berbasis reaksi reduksi.

Uji alkaloid menunjukkan hasil positif pada semua perlakuan baik menggunakan pereaksi Dragendorff maupun Mayer. Endapan jingga pada Dragendorff dan endapan putih hingga kekuningan pada Mayer menandakan adanya alkaloid. Alkaloid dapat menunjukkan aktivitas biologis yang luas dan pada beberapa senyawa alkaloid tertentu dapat memberikan kontribusi terhadap proses antioksidan melalui kemampuan meredam reaksi oksidatif atau melalui mekanisme pendamping terhadap polifenol. Uji kuinon menunjukkan perubahan warna kuning hingga merah setelah penambahan NaOH 1 N, yang mengindikasikan adanya senyawa kuinon. Senyawa kuinon memiliki sifat redoks dan dapat terlibat dalam mekanisme transfer elektron, sehingga keberadaannya dapat memengaruhi respons antioksidan ekstrak. Namun demikian, keberadaan kuinon perlu diinterpretasikan hati-hati karena beberapa kuinon juga dapat bersifat prooksidan pada kondisi tertentu, sehingga perannya sangat bergantung pada struktur dan konsentrasi.

Uji steroid dan triterpenoid juga menunjukkan reaksi positif pada beberapa perlakuan. Warna hijau kebiruan mengindikasikan adanya steroid, sedangkan warna merah mengindikasikan adanya triterpenoid. Golongan ini tidak selalu menjadi kontributor utama antioksidan dibanding fenolik, namun dapat memberikan efek biologis tambahan serta potensi sinergi dalam matriks ekstrak kompleks. Secara keseluruhan, **Tabel 2** menunjukkan bahwa ekstrak brokoli mengandung beragam metabolit sekunder, dengan dominasi kelompok polifenol (flavonoid, fenol, tanin) yang merupakan dasar teoritis kuat mengapa ekstrak brokoli memiliki kemampuan antioksidan.

Jika hasil rendemen (Tabel 1) dan skrining fitokimia (Tabel 2) dipertimbangkan secara terpadu, maka suhu penyimpanan simplisia berpengaruh terhadap kualitas ekstrak yang dihasilkan. Perlakuan suhu dingin menghasilkan rendemen tertinggi, yang dapat mengindikasikan senyawa ekstraktif lebih terjaga stabil sehingga jumlah komponen yang dapat ditarik lebih banyak. Pada perlakuan suhu ruang, rendemen terendah menunjukkan kemungkinan terjadinya penurunan komponen ekstraktif selama penyimpanan, sedangkan pada suhu panas terdapat indikasi perubahan komponen (misalnya reaksi oksidasi) yang dapat tercermin dari variasi intensitas perubahan warna pada uji fenol dan kuinon. Temuan ini memberikan dasar ilmiah bahwa perbedaan aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode DPPH pada tahap berikutnya sangat mungkin dipengaruhi oleh kestabilan senyawa polifenol dan komponen bioaktif lain selama penyimpanan simplisia. Dengan demikian, uji DPPH dan penentuan IC₅₀ menjadi tahap penting untuk membuktikan secara kuantitatif pengaruh suhu penyimpanan simplisia terhadap kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli.

Penentuan panjang gelombang maksimum merupakan tahap awal yang sangat penting dalam analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, karena panjang gelombang maksimum menunjukkan kondisi serapan optimum dari radikal DPPH sehingga sensitivitas pengukuran menjadi paling tinggi. Hasil pengukuran spektrum serapan larutan DPPH dalam metanol menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa larutan DPPH menghasilkan serapan maksimum

sebesar 0,764 pada panjang gelombang 515 nm. Nilai ini menandakan bahwa pada panjang gelombang tersebut radikal DPPH berada pada kondisi absorbansi tertinggi sehingga paling sensitif terhadap perubahan akibat reaksi reduksi oleh senyawa antioksidan.

Radikal bebas DPPH memiliki warna ungu pekat yang berasal dari sistem konjugasi aromatik dan keberadaan gugus nitro pada strukturnya. Ketika bereaksi dengan senyawa antioksidan, terjadi proses donasi elektron atau atom hidrogen yang menyebabkan DPPH tereduksi menjadi bentuk non-radikal berwarna kuning pucat. Perubahan warna ini diikuti oleh penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Oleh karena itu, penggunaan panjang gelombang 515 nm dalam pengukuran aktivitas antioksidan memberikan akurasi dan sensitivitas yang optimal. Operating time bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimum ketika reaksi antara DPPH dan senyawa antioksidan mencapai keadaan stabil. Penentuan ini penting agar pengukuran absorbansi dilakukan pada saat reaksi telah berlangsung sempurna dan belum terjadi degradasi lanjutan.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa kestabilan absorbansi terjadi pada rentang menit ke-5 hingga menit ke-30, dengan nilai absorbansi relatif konstan. Setelah rentang waktu tersebut, nilai absorbansi kembali meningkat hingga menit ke-60, yang mengindikasikan kemungkinan terjadinya reaksi lanjutan atau ketidakstabilan sistem. Berdasarkan kondisi tersebut, menit ke-20 dipilih sebagai operating time karena berada dalam rentang kestabilan reaksi dan memberikan nilai absorbansi yang representatif. Penentuan waktu inkubasi yang tepat sangat penting untuk meminimalkan kesalahan pengukuran akibat reaksi yang belum sempurna. Stabilitas absorbansi menunjukkan bahwa proses transfer elektron atau atom hidrogen dari antioksidan ke radikal DPPH telah mencapai kesetimbangan.

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hubungan antara konsentrasi vitamin C dan persentase inhibisi menunjukkan pola peningkatan linear, di mana semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar kemampuan penangkapan radikal bebas. Analisis regresi linear menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 22,72 ppm, yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan bahwa vitamin C hanya memerlukan konsentrasi kecil untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Secara mekanistik, vitamin C bekerja sebagai donor elektron yang mudah teroksidasi menjadi dehidroaskorbat, sehingga efektif mereduksi radikal bebas. Nilai ini digunakan sebagai pembanding untuk menilai kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli pada berbagai kondisi suhu penyimpanan simplisia.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak brokoli menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki kemampuan menangkap radikal DPPH dengan tingkat kekuatan berbeda. Nilai IC_{50} yang diperoleh dalasi dingin: 32,08 ppm, suhu ruang: 43,95 ppm dan suhu panas: 46,43 ppm. Seluruh nilai IC_{50} tersebut masih berada dalam kategori antioksidan sangat kuat (<50 ppm), namun terdapat perbedaan tingkat kekuatan antarperlakuan suhu. Ekstrak dari simplisia yang disimpan pada suhu dingin menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi di antara sampel brokoli. Kondisi suhu rendah mampu menekan laju respirasi sel dan memperlambat degradasi senyawa bioaktif, khususnya senyawa fenolik dan flavonoid. Stabilitas senyawa tersebut menyebabkan kemampuan donasi elektron terhadap radikal DPPH tetap tinggi sehingga nilai IC_{50} menjadi lebih kecil [10]. Ekstrak dari penyimpanan suhu ruang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibanding suhu dingin. Hal ini diduga disebabkan oleh proses oksidasi bertahap akibat paparan oksigen, cahaya, serta fluktuasi suhu lingkungan yang dapat menurunkan kestabilan senyawa fenolik. Penurunan jumlah gugus hidroksil bebas pada flavonoid menyebabkan berkurangnya kemampuan penangkapan radikal bebas. Ekstrak dari penyimpanan suhu panas memiliki aktivitas antioksidan paling rendah, meskipun masih tergolong sangat kuat. Suhu tinggi dapat mempercepat degradasi termal senyawa antioksidan, menyebabkan kerusakan struktur kimia serta menurunkan kemampuan reduksi terhadap radikal DPPH. Selain itu, panas dapat mempercepat reaksi oksidasi yang mengubah senyawa aktif menjadi bentuk kurang reaktif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan suhu penyimpanan simplisia meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli. Suhu rendah menurunkan laju respirasi jaringan tanaman serta menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak senyawa klorofil dan komponen bioaktif lainnya. Dengan demikian, kualitas simplisia lebih terjaga dan kandungan senyawa antioksidan tetap tinggi.

Sebaliknya, suhu tinggi mempercepat kerusakan komponen aktif akibat panas sehingga menurunkan mutu bahan dan aktivitas antioksidan. Proses pengeringan atau penyimpanan yang terlalu lama pada suhu tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa fenolik dan flavonoid, yang merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan. Hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan peningkatan persen inhibisi menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa antioksidan dalam sampel, semakin besar kemampuan menangkap radikal bebas. Hal ini sejalan dengan teori bahwa aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan jumlah senyawa reduktor yang terkandung dalam ekstrak [5].

4 Kesimpulan

Suhu penyimpanan simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak dan aktivitas antioksidan ekstrak brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Penyimpanan pada suhu dingin menghasilkan aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC₅₀ 32,08 ppm, diikuti suhu ruang 43,95 ppm dan suhu panas 46,43 ppm, sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif memiliki IC₅₀ 22,72 ppm. Seluruh ekstrak brokoli termasuk kategori antioksidan sangat kuat (<50 ppm) yang berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin, dan fenol. Dengan demikian, penyimpanan pada suhu dingin merupakan kondisi paling optimal untuk mempertahankan potensi antioksidan ekstrak brokoli.

5 Deklarasi/Pernyataan

5.1. Kontribusi Penulis (wajib diisi)

Yulius Evan Christian memberikan kontribusi paling besar dalam konsepsi penelitian, perancangan metode, pelaksanaan eksperimen, interpretasi hasil, serta penyusunan dan revisi akhir naskah. Dini Permata Sari berkontribusi dalam pelaksanaan eksperimen, pengumpulan data, serta penyusunan draf awal naskah. Burhanuddin Gumay berperan dalam supervisi penelitian, validasi metode, dan penelaahan kritis terhadap isi naskah. Grace Nathania Agustine berkontribusi dalam peninjauan literatur serta penyuntingan naskah sebelum publikasi. Seluruh penulis telah membaca dan menyetujui versi akhir naskah.

5.2. Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian maupun publikasi naskah ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] N. Komang, S. Dewi, and I. A. Pasaribu, "Khasiat Hepatoprotektor Ekstrak Brokoli pada Kadar SGOT dan Katalase Hepar Tikus yang Diinduksi Deksametason," *J. Kedokt. dan Kesehat.*, vol. 22, no. 1, pp. 21–28, 2026, doi: <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK>.
- [2] S. Auliya, D. Elianora, and K. Kornialia, "Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*," *Padjadjaran J. Dent. Res. Students*, vol. 3, no. 2, pp. 92–97, 2019, doi: 10.24198/pjdrs.v3i2.23818.
- [3] Linawati Hananta, Yulius Evan Christian, and Silvia Gokok, "Antibacterial Potential of *Avicennia marina* Leaf Extracts: Recent Evidence and Research Gaps," *J. Trop. Pharm. Chem.*, vol. 9, no. 3, pp. 294–298, 2025, doi: 10.30872/jtpc.v9i3.319.
- [4] M. A. Yesika Noval, Tuti Alawiyah, "Formulasi Sediaan Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* Var.*Italica*) dengan Variasi Konsentrasi Minyak Jintan Hitam dan Minyak Zaitun," *J. Surya Med.*, vol. 11, no. 1, pp. 206–213, 2025, doi: <https://doi.org/10.33084/jsm.v11i2.9752>.

- [5] H. Erina, S. Ompusunggu, and H. P. Siahaan, "Aktivitas Antioksidan Brokoli (*Brassica Oleracea*) pada Beberapa Durasi Perebusan Dengan Metode DPPH (1,1- Diphenil-2- Picrylhydrazil)," *J. Ners Prodi*, vol. 9, no. 2, pp. 1416–1421, 2025, doi: <https://doi.org/10.31004/jn.v9i2.41715>.
- [6] Y. E. Christian, P. Rachmawati, S. Susanto, and A. Setiawansyah, "The Potential of Cantigi Leaves Extract (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.) as a Skin-Lightening Agent Through Tyrosinase Enzyme Inhibition," *Ad-Dawaa' J. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 2, pp. 271–282, 2025, doi: <https://doi.org/10.24252/djps.v8i2.61520> The.
- [7] Y. E. Christian *et al.*, "Quality Evaluation and Phytochemical Screening of *Kaempferia galanga* and *Zingiber zerumbet* Rhizome Extracts," *MEDFARM J. Farm. dan Kesehat.*, vol. 14, no. 2, pp. 306–324, 2025, doi: [10.48191/medfarm.v14i2.651](https://doi.org/10.48191/medfarm.v14i2.651).
- [8] T. R. S. B. S. Chindy Umaya, Novarianti Marbun, "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bonggol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazy)," *J. Farm. dan Herb.*, vol. 8, no. 1, pp. 187–194, 2025, doi: <https://doi.org/10.36656/jpjh.v8i1.2732>.
- [9] U. L. Qodri, "Analisis Kandungan Vitamin C dan Besi (Fe) pada Brokoli (*Brassicaceae*) dan Biji Labu Kuning (*Curcubita Moschata*)," *JIMU J. Ilm. Multi Disiplin*, vol. 03, no. 04, pp. 320–328, 2025, doi: <https://ojs.smkmerahputih.com/index.php/jimu/article/view/1068>.
- [10] E. Kartika and M. K. Putri, "Pengaruh waktu penyimpanan terhadap kadar klorofil dan karotenoid brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) dengan metode spektrofotometri UV-VIS," *J. Farm. dan Kesehat. Indones.*, vol. 3, no. 1, pp. 47–55, 2023, doi: <https://doi.org/10.61179/jfki.v3i1.422>.