

Aktivitas antioksidan *Penta Herbs Forte* (PHF): Studi analisis *in vitro* dan evaluasi kadar *glutathione* jantung tikus *in vivo*

Jovan Falian Yani¹, Shirly Gunawan^{2,*}, Frans Ferdinal³, Eny Yulianti³

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

² Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

³ Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

*korespondensi email: shirlyg@fk.untar.ac.id

Naskah masuk: 14-07-2025, Naskah direvisi: 25-09-2025, Naskah diterima untuk diterbitkan: 22-10-2025

ABSTRAK

Ekstrak *penta herbs forte* (PHF) merupakan kombinasi dari lima tanaman herbal, yaitu daun sembung (*Blumea balsamifera*), jahe (*Zingiber officinale*), meniran (*Phyllanthus niruri*), sambiloto (*Andrographis paniculata*), dan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Kelima tanaman ini diketahui secara ilmiah memiliki potensi sebagai antioksidan dan telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kombinasi kelima ekstrak tanaman tersebut terhadap kapasitas antioksidan secara *in vitro* serta menganalisis kadar *glutathione* (GSH) jantung tikus model hewan hipoksia. Hasil pengujian kapasitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ untuk metode 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)/ABTS sebesar 22,135 µg/mL, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sebesar 105,04 µg/mL, dan EC₅₀ untuk *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) sebesar 11,101 µg/mL. Rerata kadar fenolik total ekstrak PHF ialah 108,02 mg/GAE/g DW. Hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 239,641 µg/mL. Uji *in vivo* menggunakan 32 ekor tikus Sprague Dawley yang dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok uji yang diberikan ekstrak PHF dan kelompok kontrol. Tiap kelompok dibagi menjadi empat sub-kelompok berdasarkan lamanya paparan hipoksia yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari. Hasil uji menunjukkan adanya penurunan kadar GSH yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol dan kelompok uji, kecuali pada kelompok uji dari hipoksia 7 hari ke 14 hari. Perbedaan signifikan kadar GSH juga ditemukan antara kelompok kontrol dan kelompok uji pada kelompok normoksia, dengan hipoksia 1 hari, dan 14 hari. Studi ini menunjukkan potensi antioksidan ekstrak PHF terhadap kondisi hipoksia.

Kata kunci: *penta herbs forte*; *glutathione* jantung; GSH; antioksidan

ABSTRACT

Penta Herbs Forte (PHF) extract is a combination of five herbal plants: *Blumea balsamifera* (daun sembung), *Zingiber officinale* (ginger), *Phyllanthus niruri* (meniran), *Andrographis paniculata* (sambiloto), and *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak). These five plants are scientifically known to possess antioxidant potential and have long been used in traditional medicine. This study aimed to evaluate the effect of the combined extracts of these five plants on antioxidant capacity *in vitro* and to analyze the cardiac glutathione (GSH) levels in a hypoxia-induced animal model. The antioxidant capacity test results showed an IC₅₀ value of 22.135 µg/mL for the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) method, 105.04 µg/mL for the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, and an EC₅₀ of 11.101 µg/mL for the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method. The average total phenolic content of the PHF extract was 108.02 mg GAE/g DW. The toxicity test using the BSLT method showed an LC₅₀ value of 239.641 µg/mL. The *in vivo* test was conducted on 32 Sprague Dawley rats divided into two main groups: the treatment group that received the PHF extract and the control group. Each group was then divided into four subgroups based on the duration of hypoxia exposure: normoxia, 1-day hypoxia, 7-day hypoxia, and 14-day hypoxia. The results showed a significant decline in cardiac GSH levels ($p < 0.05$) in both the control and treatment groups, except from 7-day hypoxia group to 14-day hypoxia group on treatment groups. A significant difference was also found between the control and treatment groups in the normoxia, 1-day hypoxia, and 14-day hypoxia groups. The study indicate the antioxidant potential of *Penta Herbs Forte* extract under hypoxic conditions.

Keywords: *penta herbs forte*; cardiac glutathione; GSH; antioxidant

PENDAHULUAN

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan produk sampingan dari proses metabolik tubuh yang berfungsi untuk beberapa proses fisiologis seperti transduksi sinyal antar sel. Produksi ROS berlebihan dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif, di mana tubuh tidak mampu memproduksi antioksidan yang cukup untuk menetralkan peningkatan tersebut. Keadaan ini akan meningkatkan risiko penyakit seperti kanker dan penyakit vaskuler. Pada keadaan stres oksidatif, tubuh memerlukan bantuan antioksidan eksogen yang dapat diperoleh dari tumbuhan seperti daun sembung, jahe temulawak, daun sambiloto, dan daun meniran.¹⁻⁴

Pada studi Hasegawa, *et al* daun sembung atau *Blumea balsamifera* mempunyai potensi antioksidan untuk menghambat penurunan *glutathione* (GSH) pada cedera hati akut.⁵ Sunarti, *et al* pernah melakukan studi terhadap *Zingiber officinale* atau jahe, dan terbukti jahe memiliki kemampuan untuk menurunkan formasi radikal bebas dan meningkatkan aktivitas antioksidan yang dapat mengurangi resiko hiperkolesterol.⁶ Lee *et al.*, dalam studinya menyebutkan bahwa meniran atau *Phyllanthus niruri* L memiliki kemampuan untuk meningkatkan kadar dan aktivitas anti-

oksidan endogen.⁷ Pada studi yang dilakukan oleh Lim, *et al* sambiloto dapat memberikan proteksi terhadap stres oksidatif kardiomyosit pada tikus yang dihipoksia, melalui peningkatan aktivitas antioksidan endogen seperti GSH.⁸ Devaraj, *et al* menjelaskan bahwa ekstrak temulawak dapat mengembalikan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang meningkat dan penurunan enzim antioksidan ke level normal. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa pemberian temulawak dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada organ hati.⁹

Berdasarkan data-data studi sebelumnya, maka studi ini dilakukan untuk menguji kadar fenolik total, kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), dan Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), serta uji toksisitas dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan pengaruh pemberian ekstrak tersebut pada GSH jantung tikus yang dihipoksia.

METODE STUDI

Studi ini dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler

Universitas Tarumanagara, periode Mei 2024 – Februari 2025. Studi dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pemeriksaan *in vitro* terdiri pengujian kadar fenolik total, kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH); *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS); dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP); serta uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dan pengaruh pemberian ekstrak tersebut pada GSH jantung tikus yang dihipoksia. Uji *in vivo* menggunakan 32 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang terbagi menjadi:

- Kelompok 1 akan dicekok ekstrak PHF selama 2 minggu dan tidak dihipoksia
- Kelompok 2 akan dicekok ekstrak PHF selama 2 minggu dan dihipoksia selama 1 hari
- Kelompok 3 akan dicekok ekstrak PHF selama 2 minggu dan dihipoksia selama 7 hari
- Kelompok 4 akan dicekok ekstrak PHF selama 2 minggu dan dihipoksia selama 14 hari
- Kelompok 5 tidak akan dicekok ekstrak PHF dan tidak dihipoksia
- Kelompok 6 tidak akan dicekok ekstrak PHF dan dihipoksia selama 1 hari

- Kelompok 7 tidak akan dicekok ekstrak PHF dan dihipoksia selama 7 hari
- Kelompok 8 tidak akan dicekok ekstrak PHF dan dihipoksia selama 14 hari

Ekstrak PHF dibuat dengan mengencerkan masing-masing ekstrak tumbuhan 0,004 g dengan etanol sebanyak 10 mL pada tabung yang berbeda. Lalu, larutan tersebut digabung untuk mencapai konsentrasi akhir sebesar 400 µg/mL. Kelompok yang diuji akan dicekok ekstrak PHF sebanyak 100 mg/kgBB 2x/hari dengan konsentrasi 400 µg/mL. Setiap kelompok diukur kadar GSH jantungnya dengan metode Ellman, lalu dilakukan perbandingan dengan uji One-way Anova dan Two-way Anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran kadar fenolik ekstrak *Penta Herbs Forte*

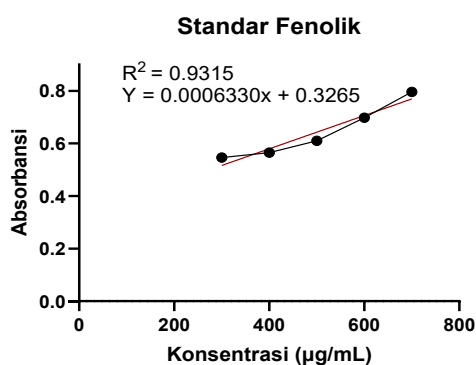
Berdasarkan pemeriksaan larutan standar *galic acid*, dibuat kurva standar dan dihitung persamaan liniernya, y sebagai absorbansi sampel dan x sebagai kadar fenolik. Berdasarkan kurva standar *galic acid*, hasil rata-rata kadar fenolik total ekstrak PHF sebesar 108.02 mg/GAE/g DW. (Tabel 1 dan Gambar 1)

Pengukuran ini juga pernah dilakukan dengan masing-masing ekstrak tumbuhan penyusunnya secara terpisah. Ekstrak daun sembung menggunakan pelarut etanol 95% menghasilkan kadar fenolik sebesar 25,24 mg GAE per gram berat kering (DW).¹⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Akinola *et al.*, Diperoleh kadar fenolik total dari ekstrak temulawak sebesar 22.03 mg GAE/g DW.¹¹ Pengukuran kadar fenolik total jahe dengan metode pengeringan dan pembekuan, dan diperoleh kadar tertinggi senilai 9,31 mg GAE/g DW.¹² Kadar

fenolik total sebanyak 105 mg/g pada ekstrak daun meniran dengan pelarut metanol.¹³ Pengukuran kadar fenolik ekstrak daun sambiloto dengan pelarut metanol, nilai sebesar 30,68 μg GAE g^{-1} d.w.¹⁴ Hasil ini membuktikan bahwa kadar fenolik total ekstrak PHF lebih banyak jika dibandingkan dengan ekstrak tumbuhan masing-masing. Hasil yang diperoleh juga membuktikan bahwa ekstrak PHF mempunyai potensi sebagai antiinflammasi, antioksidan, dan antimikrobal yang kuat.¹⁵

Tabel 1. Kadar fenolik ekstrak *Penta Herbs Forte*

Rata-rata absorbansi	Konsentrasi total fenolik pengenceran 5x ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi total ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi total fenolik (mg/GAE/g DW)
0,545	432.09	2160.45	108.02



Gambar 1. Kurva standar fenolik

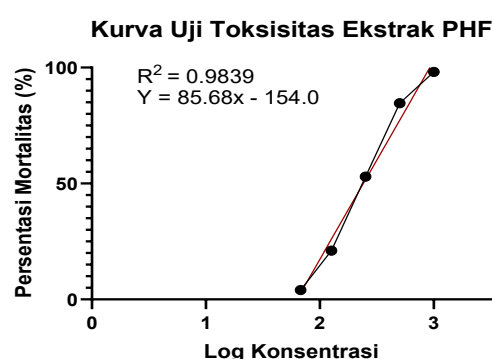
Pengukuran toksisitas ekstrak *Penta Herbs Forte* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Berdasarkan data yang diperoleh dari uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

ekstrak PHF dengan konsentrasi 67,5 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$, diperoleh persentase mortalitas yang tercantum pada tabel 2 dan didapatkan persamaan linier $y = 85.68x - 154.0$ dengan koefisien korelasi (R) sebesar 0,9839 (Tabel 2 dan Gambar 2). Berdasarkan persamaan tersebut, nilai *Lethality Concentration* 50 (LC50) sebesar 239,641 $\mu\text{g/mL}$. Nilai LC50 dari ekstrak PHF dapat dikatakan toksik hingga toksik sedang, menurut kriteria oleh toksisitas Meyer dan Clarkson.^{16,17}

Tabel 2. Persentase mortalitas dan nilai LC50

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Persentase Mortalitas (%)	LC50 (µg/mL)
67,5	1.83	4	239.641
125	2.10	21.053	
250	2.40	52.941	
500	2.70	84.615	
1000	3.00	98.113	



Gambar 2. Kurva uji toksisitas ekstrak PHF

Uji kapasitas antioksidan ekstrak *Penta Herbs Forte*

Metode 2,2'azino-bis (3-ethylbenzo- thiazoline-6-sulfonic acid) /ABTS

Hasil pengukuran 2,2'azino-bis (3-ethyl-
benzothiazoline-6-sulfonic acid) / ABTS

larutan pembanding Trolox menggunakan rumus persentase inhibisi didapatkan nilai IC50 sebesar 13,266 µg/mL (**Tabel 3**) dengan koefisien korelasi 0,987 dan persamaan garis linear $y = 1.542x + 29.54$ (**Gambar 3**).

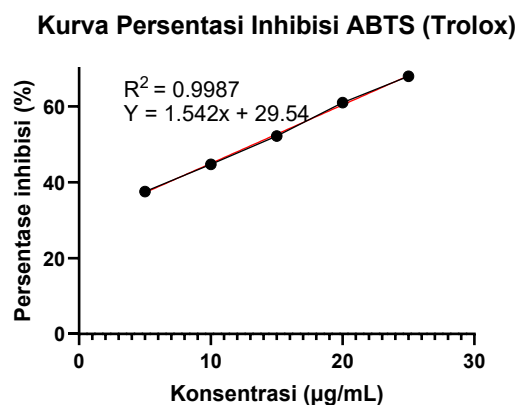
Dengan metode yang sama, didapatkan nilai IC50 ekstrak PHF sebesar 22.135 µg/mL (**Tabel 4**) dengan koefisien korelasi 0.9826 dan persamaan garis linier $y = 3.294x - 22,92$ (**Gambar 4**). Berdasarkan kriteria IC50 oleh Blois *et al.*, nilai IC50 uji kapasitas antioksidan ABTS ekstrak PHF termasuk sangat kuat.¹⁸

Tabel 3. Persentase inhibisi dan nilai IC50 ABTS larutan Trolox

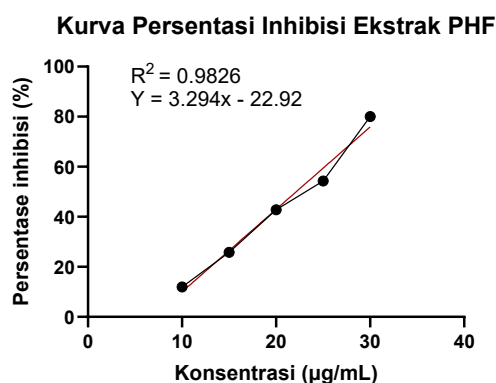
Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	IC50 (µg/mL)
5	37.546	13.266
10	44.689	
15	52.198	
20	60.989	
25	67.949	

Tabel 4. Persentase inhibisi dan nilai IC₅₀ ABTS ekstrak *Penta Herbs Forte*

Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
10	11.922	22.135
15	25.791	
20	42.822	
25	54.258	
30	80.049	



Gambar 3. Kurva persentasi inhibisi ABTS larutan Trolox

Gambar 4. Kurva persentasi inhibisi ABTS ekstrak *Penta Herbs Forte*

Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Hasil pengukuran 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH larutan pembanding Trolox menggunakan rumus persentase inhibisi didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 21.353 µg/mL (**Tabel 5**) dengan koefisien korelasi 0.9976 dan persamaan garis linear $y = 1.317x + 21.87$ (**Gambar 5**).

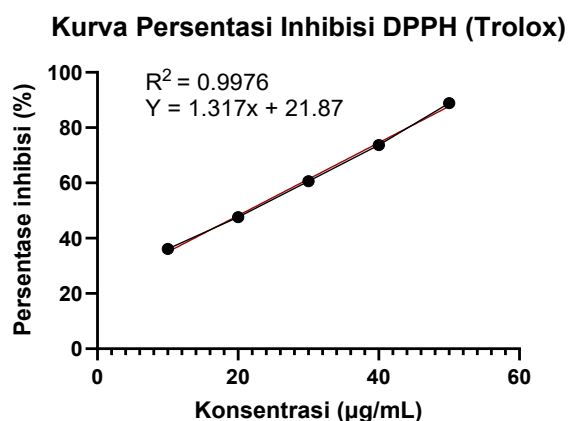
Nilai IC₅₀ ekstrak PHF didapatkan sebesar 105.04 µg/mL (**Tabel 6**) dengan koefisien korelasi 0.9825 dan persamaan garis linier $y = 0.5377x - 6.478$ (**Gambar 6**) dengan menggunakan metode yang sama. Berdasarkan kriteria IC₅₀ oleh Blois *et al.*, nilai IC₅₀ uji kapasitas antioksidan DPPH ekstrak PHF termasuk sedang.¹⁸

Tabel 5. Persentase inhibisi dan nilai IC₅₀ DPPH larutan Trolox

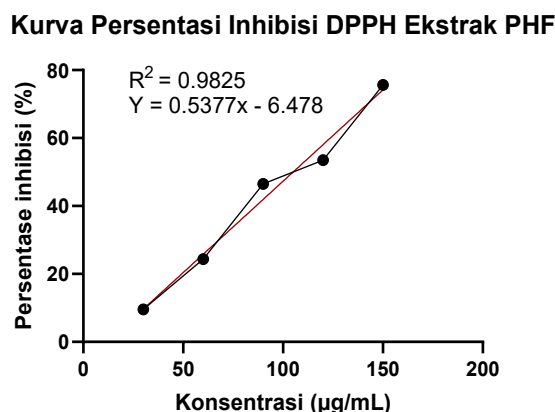
Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
10	36.087	21.353
20	47.609	
30	60.652	
40	73.696	
50	88.913	

Tabel 6. Persentase inhibisi dan nilai IC₅₀ DPPH ekstrak *Penta Herbs Forte*

Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
30	9.565	105.04
60	24.348	
90	46.522	
120	53.478	
150	75.652	



Gambar 5. Kurva persentasi inhibisi DPPH larutan Trolox



Gambar 6. Kurva persentasi inhibisi DPPH ekstrak *Penta Herbs Forte*

Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP)

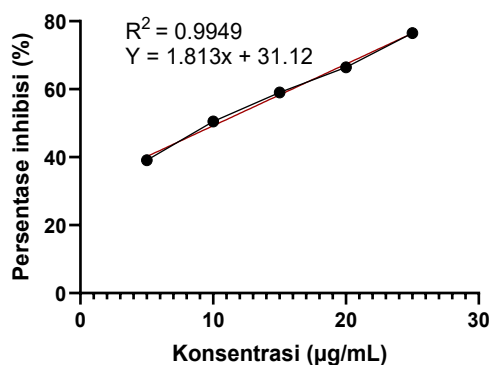
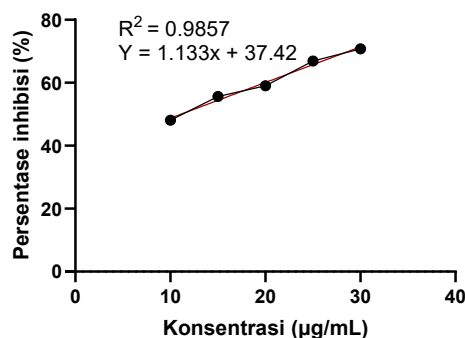
Hasil pengukuran FRAP larutan pembanding Trolox menggunakan rumus persentase inhibisi didapatkan nilai EC₅₀ sebesar 10.413 µg/mL dengan koefisien korelasi 0.9949 dan persamaan garis linear $y = 1.813x + 31.12$ (Tabel 7 dan Gambar 7). Nilai IC₅₀ ekstrak PHF sebesar 11.101 µg/mL dengan koefisien korelasi 0.9825 dan persamaan garis linier $y = 1.133x + 37.42$ didapatkan dengan menggunakan metode yang sama (Tabel 8 dan Gambar 8). Uji ini juga pernah dilakukan terhadap salah satu tanaman ekstrak PHF yaitu temulawak dan diperoleh nilai EC₅₀ sebesar 49.69 µg/mL. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak PHF memiliki kemampuan inhibisi FRAP lebih baik jika dibandingkan dengan temulawak sendiri.

Tabel 7. Persentase Inhibisi dan Nilai EC₅₀ FRAP Larutan Trolox

Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	EC ₅₀ (µg/mL)
5	39.103	10.413
10	50.521	
15	59.052	
20	66.431	
25	76.485	

Tabel 8. Persentase Inhibisi dan Nilai EC₅₀ FRAP Ekstrak *Penta Herbs Forte*

Konsentrasi (µg/mL)	Persentase Inhibisi (%)	EC ₅₀ (µg/mL)
10	48.087	11.101
15	55.607	
20	59.052	
25	66.899	
30	70.769	

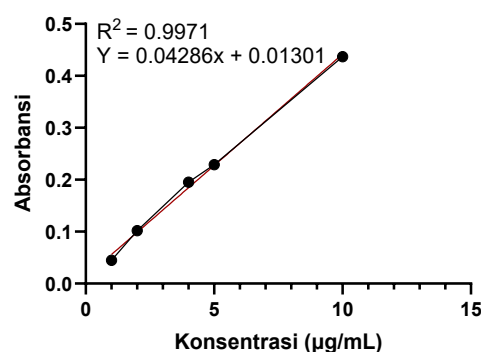
Kurva Persentasi Inhibisi FRAP (Trolox)**Gambar 7. Kurva persentasi inhibisi FRAP larutan Trolox****Kurva Persentasi Inhibisi FRAP Ekstrak PHF****Gambar 8. Kurva persentasi inhibisi FRAP ekstrak *Penta Herbs Forte***

Uji hewan coba

Standar GSH

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 412 nm dengan konsentrasi GSH 1, 2, 4, 5, 10 µg/mL dan

diperoleh persamaan linier $y = 0.04286x + 0.01301$ dan nilai $R = 0.9971$. (Gambar 9)

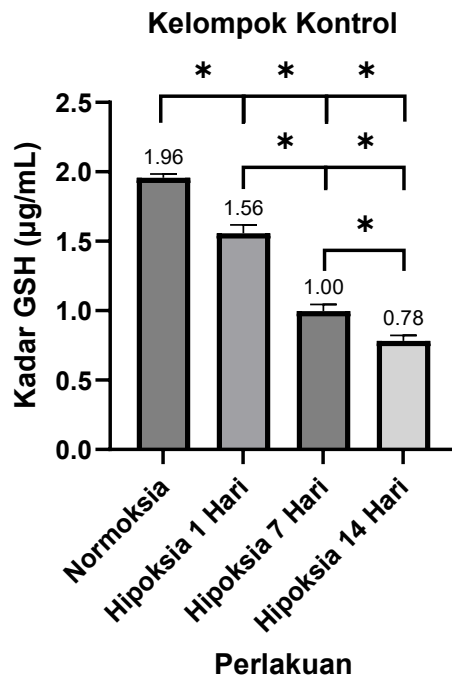
Kurva Standar GSH**Gambar 9. Kurva standar GSH**

Kadar GSH kelompok jantung kontrol

Persamaan linier $y = 0.04286x + 0.01301$ yang diperoleh dari kurva standar GSH digunakan untuk menghitung rata-rata kadar GSH jantung dari setiap kelompok kontrol. Perubahan yang bermakna didapatkan pada kadar GSH jantung normoksia jika dibandingkan dengan hipoksia 14 hari berdasarkan Uji One Way Anova. (Gambar 10)

Simbol asterisk (*) menunjukkan adanya penurunan kadar GSH jantung signifikan ($p < 0,05$) dari normoksia, hipoksia 1 hari, 7 hari menuju hipoksia dengan durasi

lebih lama. Temuan ini mengindikasikan bahwa semakin lama paparan hipoksia berlangsung, semakin besar penggunaan GSH dalam menghadapi radikal bebas, sehingga kadarnya menurun.



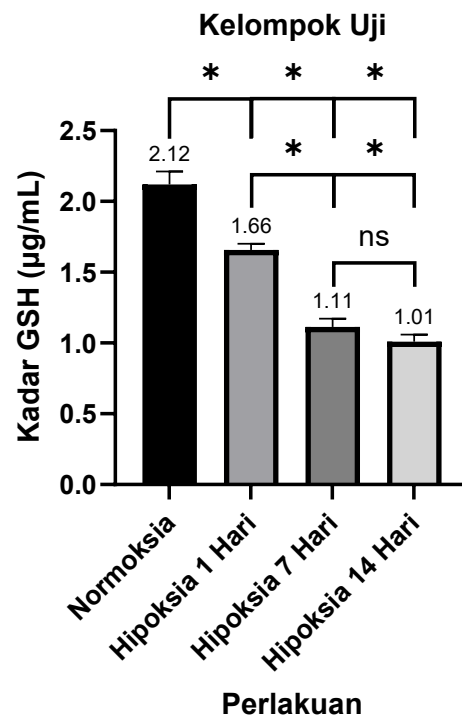
Gambar 10. Grafik kadar GSH pada jantung kelompok kontrol

Kadar GSH kelompok jantung uji

Studi ini didapatkan perubahan yang bermakna pada kadar GSH jantung normoksia jika dibandingkan dengan hipoksia 14 hari berdasarkan uji One Way Anova. (Gambar 11)

Simbol asterisk (*) menunjukkan adanya penurunan kadar GSH jantung signifikan ($p < 0,05$) dari normoksia, hipoksia 1 hari, 7 hari menuju hipoksia dengan durasi lebih lama. Namun, pada hari ke 7 menuju hari ke 14, penurunan tidak

signifikan secara statistik. Temuan ini mengindikasikan bahwa semakin lama paparan hipoksia berlangsung, semakin besar penggunaan GSH dalam menghadapi radikal bebas, sehingga kadarnya menurun.



Gambar 11. Grafik kadar GSH pada jantung kelompok uji

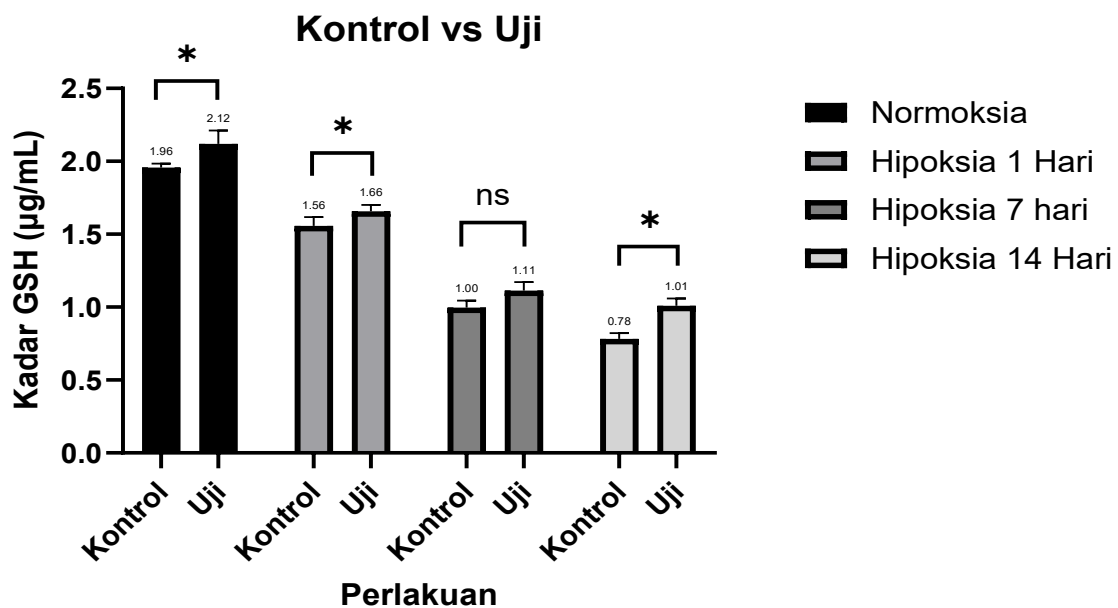
Perbandingan kadar GSH jantung kelompok kontrol dan uji

Berdasarkan data kedua kelompok tersebut, menunjukkan adanya penurunan kadar GSH jantung dari perlakuan normoksia hingga hipoksia 14 hari. Pada kelompok uji dengan perlakuan yang sama, didapatkan kadar GSH jantung yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol berdasarkan uji Two Way Anova.

Peningkatan GSH signifikan ditemukan pada kelompok uji dibandingkan kontrol pada setiap perlakuan kecuali hipoksia 7 hari. (**Gambar 12**)

Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak PHF sebagai antioksidan eksogen dapat membantu meningkatkan aktivitas

antioksidan GSH dengan meningkatkan ekspresi dan aktivitas enzim sintesis dan regenerasi, lalu secara langsung menangkap ROS sebelum GSH bereaksi, sehingga GSH yang digunakan menurun dan kadar GSH jantung meningkat.



Gambar 12. Grafik perbandingan kadar GSH pada jantung kelompok uji dan kontrol

KESIMPULAN

Studi ini menyimpulkan bahwa campuran jahe, temulawak, daun meniran, daun sembung, dan daun sambiloto memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat membantu antioksidan endogen seperti GSH untuk membantu melawan radikal bebas dalam keadaan stres oksidatif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Liu T, Sun L, Zhang Y, Wang Y, Zheng J. Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death. *J Biochem Mol Toxicol.* 2022;36(1):e22942.
2. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev.* 2014;94(2):329-54.
3. Rana JS, Khan SS, Lloyd-Jones DM, Sidney S. Changes in Mortality in Top 10 Causes of Death from 2011 to 2018. *J Gen Intern Med.* 2020;36(8):2517-18.

4. McGarry T, Biniecka M, Veale DJ, Fearon U. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2018;125:15–24.
5. Hasegawa H, Yamada Y, Komiyama K, Hayashi M, Ishibashi M, Yoshida T, et al. Dihydroflavonol BB-1, an extract of natural plant *Blumea balsamifera*, abrogates TRAIL resistance in leukemia cells. *Blood*. 2006;107(2):679–88.
6. Sunarti, Fachrial E, Harahap U, Delyuzar, Widyawati T, Lubis LD. Hepatoprotective effect of red ginger rhizome extract in deep frying oil-fed male wistar rats. *Universa Medicina*. 2017;36(3):228–35.
7. Lee NYS, Khoo WKS, Adnan MA, Mahalingam TP, Fernandez AR, Jeevaratnam K. The pharmacological potential of *Phyllanthus niruri*. *J Pharm Pharmacol*. 2016;68(8):953–69.
8. Lim JCW, Chan TK, Ng DS, Sagineedu SR, Stanslas J, Wong WF. Andrographolide and its analogues: versatile bioactive molecules for combating inflammation and cancer. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2012;39(3):300–10.
9. Devaraj S, Ismail S, Ramanathan S, Yam MF. Investigation of antioxidant and hepatoprotective activity of standardized curcuma xanthorrhiza rhizome in carbon tetrachloride-induced hepatic damaged rats. *The Scientific World Journal*. 2014;2014:353128.
10. Jirakitticharoen S, Wisuttiprot W, Jitareerat P, Wongs-Aree C. Phenolics, antioxidant and antibacterial activities of immature and mature *blumea balsamifera* leaf extracts eluted with different solvents. *J Trop Med*. 2022;2022:7794227.
11. Alafiatayo AA, Ahmad S, Maziah M. total anti-oxidant capacity, flavonoid, phenolic acid and polyphenol content in ten selected species of Zingiberaceae rhizomes. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2014;11(3):7-13.
12. Ghafoor K, Al Juhaimi F, Özcan MM, Uslu N, Babiker EE, Mohamed Ahmed IA. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT*. 2020;126:109354.
13. Harish R, Shivanandappa T. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chem*. 2006;95(2):180–5.
14. Adiguna SP, Panggabean JA, Swasono RT, Rahmawati SI, Izzati F, Bayu A, et al. Evaluations of Andrographolide-Rich Fractions of *Andrographis paniculata* with Enhanced Potential Antioxidant, Anticancer, Antihypertensive, and Anti-Inflammatory Activities. *Plants*. 2023;12(6):1220.
15. Al Mamari HH. Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. In: Badria FA, Carmoba-Ribeiro AM (Editors). *Phenolic Compounds – Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Application*. [Internet]. IntechOpen;2022. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.94825>
16. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45(1):31–4.
17. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, et al. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *J Ethnopharmacol*. 2004;92(2–3):177–91.
18. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199–200.