



Analisis Mekanisme Aktivitas Antioksidan Senyawa Bioaktif Alami dan Potensinya dalam Menghambat Stres Oksidatif

Qomariah Hasanah*

Universitas Islam Negeri Fatmawati Sukarno Bengkulu, Indonesia

Email: qomariah.hasanah@mail.uinfasbengkulu.ac.id

ABSTRACT

Purpose: This article analyzes the biochemical mechanisms by which naturally occurring bioactive compounds influence oxidative reactions and examines the evidentiary limits of their proposed role in mitigating oxidative stress.

Design/Methodology: A conceptual narrative review critically synthesizes established biochemical mechanisms and analytical methods relating to reactive oxygen species, endogenous defenses, phenolics, flavonoids, carotenoids, and other natural compounds. No primary laboratory measurements or clinical effectiveness estimates are claimed.

Findings: Antioxidant actions depend on molecular structure, reaction kinetics, bioavailability, cellular localization, and biological context. Radical scavenging, metal chelation, and modulation of endogenous defense pathways can contribute to protection, but in vitro chemical assay activity cannot be equated with efficacy in humans.

Practical Implications: The synthesis provides a cautious basis for designing extraction, characterization, cell-based evaluation, and controlled studies of plant-derived bioactive compounds, emphasizing dose, safety, appropriate controls, and reproducibility.

Originality/Value: The article connects chemical reaction mechanisms to biological relevance through a staged evidence framework and differentiates antioxidant capacity, cellular redox regulation, and demonstrated health outcomes.

Keywords: natural bioactive compounds; antioxidant mechanisms; oxidative stress; phenolics; redox homeostasis; bioavailability.

Received: 17/09/2026

Accepted: 24/09/2026

Published: 12/10/2026

A. INTRODUCTION (PENDAHULUAN)

Latar Belakang Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan keadaan ketika pembentukan spesies reaktif melampaui kapasitas jaringan untuk mempertahankan keseimbangan redoks. Istilah ini tidak berarti bahwa semua oksidan selalu merugikan. Di dalam sel, molekul reaktif dibentuk secara fisiologis selama respirasi, metabolisme, dan respons imun. Dalam jumlah yang terkendali, sebagian spesies reaktif berfungsi sebagai pembawa sinyal yang membantu sel menyesuaikan diri terhadap perubahan lingkungan. Masalah timbul ketika produksi berlebihan, pertahanan antioksidan melemah, atau oksidan terkonsentrasi pada kompartemen yang rentan sehingga memicu kerusakan biomolekul. Perspektif ini menuntut perbedaan antara fungsi sinyal normal dan cedera oksidatif yang berkepanjangan.

Ketertarikan pada senyawa bioaktif alami berkembang karena tumbuhan, mikroorganisme, dan sumber pangan menghasilkan molekul dengan struktur kimia beragam. Kelompok tersebut mencakup asam fenolat, flavonoid, tanin, antosianin, karotenoid, terpenoid, serta beberapa senyawa yang mengandung sulfur. Cincin aromatik, gugus hidroksil, ikatan rangkap terkonjugasi, dan kemampuan berinteraksi dengan ion logam dapat memengaruhi perilaku kimianya. Namun, hasil uji pada larutan sederhana tidak selalu menggambarkan proses yang berlangsung di dalam sel hidup. Konsentrasi, kelarutan, metabolisme, dan lokasi molekul menentukan apakah aktivitas kimia yang terukur mempunyai konsekuensi biologis.

Kajian antioksidan perlu menghindari penyederhanaan bahwa makin besar nilai aktivitas penangkapan radikal dalam satu uji, makin besar pula manfaat suatu bahan bagi kesehatan. Uji

berbasis DPPH atau ABTS mengukur reaksi dalam kondisi kimia tertentu yang dapat berbeda jauh dari cairan biologis. Ketika senyawa dikonsumsi, penyerapan usus, transformasi enzimatis, konjugasi, distribusi jaringan, dan eliminasi dapat mengubah struktur serta konsentrasi senyawa asal. Karena itu, kerangka penilaian harus bergerak dari identifikasi kimia menuju pengamatan dalam sistem biologis yang relevan, kemudian menuju hasil kesehatan yang benar-benar diuji.

Artikel ini bertujuan menjelaskan mekanisme utama aktivitas antioksidan senyawa bioaktif alami dan keterkaitannya dengan pencegahan kerusakan oksidatif. Pembahasan berfokus pada sifat radikal dan spesies reaktif, pertahanan endogen, hubungan struktur dan aktivitas, metode pengujian, serta tantangan penerapan. Artikel disusun sebagai kajian konseptual berbasis literatur, bukan laporan pengujian sampel tanaman tertentu. Dengan demikian, kesimpulan disampaikan sebagai sintesis mekanisme dan penilaian mutu bukti, tanpa mengklaim besaran efek klinis yang belum ditentukan.

B. LITERATURE REVIEW (KAJIAN PUSTAKA)

Radikal Bebas dan Spesies Reaktif

Radikal bebas ialah spesies yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga sering mempunyai reaktivitas tinggi. Akan tetapi, tidak setiap reactive oxygen species bersifat radikal. Anion superoksida dan radikal hidroksil termasuk contoh spesies radikal, sedangkan hidrogen peroksida merupakan spesies nonradikal yang dapat terlibat dalam pembentukan oksidan lebih reaktif. Pemisahan kategori tersebut penting karena jalur pembentukan, lama hidup, mobilitas, serta target biologisnya berbeda. Menyamakan seluruh oksidan dengan satu mekanisme dapat menyebabkan interpretasi yang keliru terhadap hasil percobaan penangkapan radikal.

Mitokondria, oksidase membran, peroksisom, dan berbagai reaksi metabolik menyediakan sumber spesies reaktif dalam sel. Besarnya kontribusi masing-masing sumber berubah mengikuti jaringan, substrat, status fisiologis, serta paparan lingkungan. Dalam sel imun, pembentukan oksidan juga merupakan komponen pertahanan terhadap patogen. Akan tetapi, aktivasi yang berlangsung lama dapat mengubah keadaan redoks di lingkungan jaringan. Dengan demikian, aktivitas antioksidan tidak seharusnya dinilai sebagai usaha menghilangkan seluruh spesies reaktif, tetapi sebagai kemungkinan membantu mempertahankan rentang sinyal dan perlindungan yang sesuai.

Kerusakan oksidatif dapat mengenai lipid, protein, dan asam nukleat. Peroksidasi lipid pada membran menghasilkan reaksi berantai yang dapat mengubah permeabilitas dan fungsi membran; oksidasi protein dapat memengaruhi struktur, aktivitas enzim, dan pengenalan seluler. Modifikasi oksidatif pada materi genetik berpotensi mengganggu integritas molekul apabila tidak diperbaiki. Meski demikian, biomarker oksidasi tertentu tidak selalu spesifik terhadap satu sumber kerusakan atau satu penyakit. Pemilihan penanda perlu mempertimbangkan metode analitik, stabilitas sampel, serta kondisi biologis yang mendasarinya.

Gagasan homeostasis redoks memberikan perspektif yang lebih luas dibanding skema sederhana oksidan versus antioksidan. Sinyal redoks diatur oleh lokasi dan waktu, perubahan reversible pada residu protein tertentu, serta rangkaian enzim pertahanan yang saling berkaitan. Literatur redox biology menekankan peranan hidrogen peroksida dalam transmisi sinyal dan pentingnya kompartemen seluler (Sies, 2017; Sies & Jones, 2020). Oleh sebab itu, efek senyawa bioaktif harus dianalisis pada tingkat proses yang benar-benar terukur: reaksi kimia, perubahan ekspresi protein, status oksidasi target, atau penurunan cedera jaringan.

B. LITERATURE REVIEW (KAJIAN PUSTAKA)

Pertahanan Antioksidan Endogen

Sel mempertahankan keseimbangan redoks melalui jaringan enzim dan molekul kecil. Superoxide dismutase mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen, sementara katalase serta glutathione peroxidase membantu mereduksi hidrogen peroksida sesuai keadaan kompartemen. Peroxiredoxin dan sistem thioredoxin juga berperan dalam pengaturan peroksida serta proses pensinyalan. Aktivitas unsur-unsur tersebut tidak berdiri sendiri; fungsi satu enzim dipengaruhi ketersediaan kofaktor, keadaan metabolik, dan kinerja jalur lain yang menyediakan ekuivalen pereduksi.

Glutathione merupakan molekul penting yang membantu mempertahankan lingkungan seluler dalam keadaan tereduksi. Perbandingan glutathione tereduksi dan teroksidasi dapat memberikan informasi redoks, tetapi penafsiran membutuhkan kehati-hatian karena rasio itu berbeda antar-kompartemen. Regenerasi antioksidan dipengaruhi oleh NADPH dan metabolisme pentosa fosfat. Oleh karena itu, zat yang tampak sebagai penangkap radikal secara langsung tidak selalu menjadi faktor penentu utama bila kegagalan pertahanan berasal dari defisit energi, perubahan enzim, atau cedera organel.

Salah satu mekanisme adaptif yang banyak dibahas adalah aktivasi jalur Nrf2 yang mengatur ekspresi berbagai gen pertahanan sel. Dalam kondisi tertentu, senyawa elektrofilik atau perubahan keadaan redoks dapat memengaruhi regulator yang mengendalikan Nrf2. Respons tersebut sering dijelaskan sebagai peningkatan kapasitas protektif melalui ekspresi enzim fase II dan sistem metabolisme antioksidan. Namun, aktivasi jalur ini harus dibuktikan menggunakan penanda yang relevan dan kontrol khusus; meningkatnya ekspresi satu protein bukan bukti bahwa seluruh cedera oksidatif telah berkurang.

Perlu dibedakan antara antioksidan eksogen yang berinteraksi secara langsung dengan oksidan dan senyawa bioaktif yang memodulasi mekanisme pertahanan endogen. Sebagian polifenol memperlihatkan reaktivitas kimia pada konsentrasi uji, tetapi konsentrasinya dalam jaringan setelah konsumsi mungkin terlalu rendah untuk berperan sebagai penangkap radikal utama. Perubahan pensinyalan dan metabolisme dapat menjadi mekanisme alternatif yang lebih layak diuji. Perbedaan ini merupakan salah satu alasan mengapa pendekatan biokimia modern menekankan pengukuran metabolit serta target molekuler, bukan hanya nilai kapasitas antioksidan total.

B. LITERATURE REVIEW (KAJIAN PUSTAKA)

Polifenol dan Hubungan Struktur–Aktivitas

Polifenol adalah kelompok senyawa yang memiliki satu atau lebih struktur fenolik dengan keragaman substituen yang luas. Flavonoid meliputi beberapa subkelompok yang berbeda pola hidroksilasi, oksidasi, dan glikosilasi. Asam fenolat, stilben, serta tanin menunjukkan karakter kelarutan dan reaktivitas yang berlainan. Dalam uji kimia, kemampuan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sering berkaitan dengan stabilisasi bentuk radikal hasil reaksi. Namun, hubungan tersebut tidak linear karena lingkungan pelarut, pH, dan keberadaan logam dapat mengubah mekanisme yang dominan.

Gugus hidroksil pada cincin aromatik dapat menyediakan atom hidrogen dan membantu delokalisasi elektron melalui sistem resonansi. Posisi dan jumlah substituen memengaruhi energi ikatan serta kestabilan produk reaksi. Gugus katekol pada molekul tertentu dapat berkontribusi terhadap penangkapan radikal dan interaksi dengan logam transisi. Namun,

keberadaan gugus fungsional yang sama tidak menjamin perilaku biologis yang sama: struktur tiga dimensi, ukuran molekul, kemampuan melewati membran, dan pembentukan metabolit dapat mengubah paparan target dalam jaringan.

Glikosilasi memengaruhi sifat fisikokimia banyak flavonoid. Ikatan dengan residu gula dapat mengubah kelarutan, stabilitas terhadap pencernaan, dan cara molekul diproses oleh enzim usus. Setelah konsumsi, aglikon atau metabolit konjugat mungkin lebih dominan dalam sirkulasi daripada senyawa pada bahan awal. Oleh karena itu, pengujian bentuk murni yang diekstrak dari tumbuhan hanya merupakan tahap awal. Kajian mengenai kemungkinan mekanisme biologis harus menyertakan perbandingan antara senyawa asal, produk transformasi, serta konsentrasi yang realistis untuk sistem yang diteliti.

Penilaian hubungan struktur–aktivitas juga perlu membahas kemungkinan sifat prooksidan. Senyawa fenolik tertentu dapat mengalami autooksidasi dalam kondisi percobaan, terutama ketika terdapat logam transisi atau pH yang memfasilitasi pembentukan spesies reaktif. Fenomena tersebut tidak otomatis berarti bahan berbahaya dalam semua konteks, tetapi menegaskan bahwa label antioksidan bukan sifat mutlak yang terlepas dari dosis dan lingkungan reaksi. Desain penelitian harus membandingkan rentang konsentrasi, kondisi pelarut, blanko reagen, serta indikator kerusakan biologis untuk menghindari kesimpulan satu arah.

B. LITERATURE REVIEW (KAJIAN PUSTAKA)

Karotenoid, Vitamin, dan Molekul Nonfenolik

Karotenoid merupakan pigmen lipofilik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Karakter ini memungkinkan interaksi dengan beberapa spesies eksitasi dan radikal melalui jalur transfer energi atau reaksi kimia. Namun, kemampuan perlindungannya bergantung pada keadaan oksigen, struktur karotenoid, dan lingkungan lipid. Aktivitas dalam larutan organik tidak boleh langsung dipindahkan menjadi klaim tentang perlindungan jaringan. Di samping itu, pengolahan bahan pangan dan keberadaan matriks lemak memengaruhi pelepasan serta penyerapan karotenoid.

Vitamin C berperan dalam reaksi reduksi dan terdapat terutama pada kompartemen berair, sedangkan vitamin E membantu menghentikan beberapa reaksi peroksidasi dalam lingkungan lipid. Regenerasi antar-komponen dapat berlangsung melalui jejaring reaksi sehingga pengaruh satu zat tidak selalu dapat dinilai secara terpisah. Dosis, status gizi awal, penyakit penyerta, dan bentuk suplementasi menentukan relevansi biologisnya. Keberadaan fungsi antioksidan yang terukur tidak menjamin bahwa pemberian tambahan pada individu dengan asupan memadai selalu menghasilkan keuntungan kesehatan.

Senyawa alami yang mengandung sulfur, beberapa alkaloid, dan terpenoid dapat menimbulkan respons redoks melalui mekanisme yang berbeda dari polifenol. Sebagiannya mengubah ekspresi enzim protektif atau memodulasi jalur inflamasi; sebagian lagi dapat berinteraksi dengan target protein tertentu. Penafsiran manfaat harus merujuk pada mekanisme dan sistem pengujian yang relevan. Menyebut semua senyawa bioaktif sebagai penangkap radikal bebas langsung akan menghilangkan perbedaan jalur molekuler yang justru penting untuk menjelaskan potensi dan keterbatasan masing-masing bahan.

Interaksi antar-komponen dalam ekstrak alami meningkatkan kompleksitas penilaian. Satu ekstrak dapat memuat puluhan atau ratusan molekul yang memiliki aktivitas berbeda, termasuk senyawa pengganggu pada alat ukur spektrofotometri. Efek gabungan dapat bersifat aditif, saling memperkuat, atau saling menghambat, tetapi dugaan sinergi memerlukan pengujian

campuran menggunakan model interaksi yang tepat. Mencatat profil kimia dan menguji fraksi secara bertahap lebih informatif daripada menyimpulkan sinergi hanya karena ekstrak menunjukkan nilai penghambatan lebih tinggi dibanding salah satu komponen tunggal.

C. METHOD (METODE)

Desain Kajian dan Logika Penilaian Bukti

Artikel ini menggunakan kajian konseptual-analitis terhadap literatur dasar biokimia oksidatif, pengukuran kapasitas antioksidan, dan pemanfaatan senyawa bioaktif alami. Sintesis disusun menurut empat tingkatan bukti, yaitu identitas serta struktur kimia, reaksi dalam sistem nonbiologis, respons pada model sel atau jaringan, dan dampak pada organisme atau manusia. Pemisahan tersebut dimaksudkan untuk mencegah lompatan penafsiran dari hasil uji tabung langsung menuju klaim manfaat klinis. Karena tidak dilakukan pencarian sistematis dengan protokol PRISMA, hasil tidak dinyatakan sebagai systematic review.

Kerangka penilaian memerhatikan definisi senyawa, identitas bahan, proses ekstraksi, kondisi pengujian, jenis kontrol, konsentrasi, serta keluaran yang diukur. Pada kajian ini, berbagai metode diperbandingkan berdasarkan pertanyaan yang dapat dijawab dan pertanyaan yang tidak dapat dijawabnya. Uji penangkapan radikal dapat menginformasikan reaktivitas terhadap reagen tertentu, tetapi tidak menjelaskan secara utuh metabolisme, efek jalur Nrf2, atau distribusi jaringan. Percobaan seluler lebih dekat kepada sistem biologis, tetapi tetap dipengaruhi jenis sel, media kultur, dan dosis.

Analisis juga mempertimbangkan apakah ukuran efek dilaporkan dalam satuan yang jelas dan apakah pembandingnya relevan. Nilai IC50 tidak dapat dibandingkan begitu saja antarpemeriksaan yang menggunakan reagen, waktu inkubasi, pelarut, atau konsentrasi radikal berbeda. Studi biologis memerlukan pemeriksaan sitotoksitas agar penurunan sinyal oksidatif tidak salah dibaca sebagai efek protektif ketika sel sebenarnya kehilangan viabilitas. Untuk penilaian hasil pada organisme, informasi dosis, rute paparan, status awal, dan durasi penting untuk mempertahankan keterbandingan bukti.

Pendekatan sintesis menempatkan pemahaman mekanisme sebagai hasil utama. Pernyataan tentang potensi biologis diberi batas sesuai tingkat bukti; istilah potensi berarti kemungkinan yang layak diuji lebih lanjut, bukan efektivitas yang telah terbukti. Keterbatasan kajian ini ialah tidak menyediakan estimasi kuantitatif gabungan maupun data eksperimen baru. Nilai utamanya adalah menyediakan panduan bernalar untuk memilih uji yang saling melengkapi serta menafsirkan klaim antioksidan secara proporsional.

C. METHOD (METODE)

Pengujian Kimia dan Parameter Analitis

Uji DPPH memakai perubahan absorbansi radikal stabil setelah berinteraksi dengan zat pereduksi. Hasilnya sering dinyatakan sebagai persentase inhibisi atau konsentrasi yang menghasilkan respons tertentu. Akan tetapi, reaktivitas bergantung pada pelarut, waktu, dan kompatibilitas warna sampel. Ekstrak yang pekat warna dapat mengganggu pembacaan pada panjang gelombang pengujian sehingga blanko sampel mutlak diperlukan. Konsentrasi radikal awal dan kondisi inkubasi harus dicantumkan agar hasil dapat direproduksi dan tidak disalahgunakan sebagai ukuran universal aktivitas antioksidan.

Uji ABTS menggunakan kation radikal yang bereaksi dengan berbagai zat pereduksi pada kondisi yang ditetapkan. Metode FRAP menilai kemampuan reduksi kompleks besi, bukan secara langsung besarnya pencegahan kerusakan oksidatif di sel. Metode ORAC menggunakan

pendekatan kinetika terhadap reaksi yang melibatkan radikal peroksil dalam sistem pengujian tertentu. Setiap metode menonjolkan aspek kimia yang berbeda, sehingga hasil dapat bervariasi antar-sampel. Pemilihan lebih dari satu uji dapat memperluas pemahaman, tetapi tidak boleh dipakai sekadar untuk mendapatkan angka aktivitas yang paling menguntungkan.

Jumlah fenolik total sering diukur menggunakan reagen Folin–Ciocalteu. Metode tersebut berguna sebagai penanda kapasitas reduksi dalam kondisi tertentu, tetapi tidak sepenuhnya spesifik untuk seluruh molekul fenolik; berbagai zat pereduksi lain dapat turut memengaruhi sinyal. Oleh karena itu, jumlah fenolik total tidak dapat dianggap identik dengan konsentrasi satu senyawa bioaktif tertentu. Untuk identifikasi komponen, kromatografi cair yang dipadukan dengan deteksi spektral atau spektrometri massa memberikan informasi yang lebih spesifik, selama terdapat acuan identifikasi dan validasi analitik yang memadai.

Pelaporan hasil sebaiknya memasukkan bahan awal, bagian tanaman, tahap pengeringan, rasio pelarut, suhu, waktu ekstraksi, rendemen, serta dasar satuan seperti massa kering. Replikasi biologis dan teknis harus dibedakan agar variasi ekstraksi tidak tertutup oleh pembacaan instrumen berulang pada sampel sama. Galat pengukuran, rentang linear, serta interferensi matriks perlu dievaluasi. Keputusan analitik tersebut memengaruhi keterbandingan lebih besar daripada sekadar banyaknya digit desimal yang dicantumkan dalam tabel hasil.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Mekanisme Penangkapan Radikal dan Transfer Elektron

Penangkapan radikal dalam kajian kimia sering dijelaskan melalui hydrogen atom transfer dan single electron transfer. Pada mekanisme transfer atom hidrogen, donor menyediakan atom hidrogen kepada spesies radikal, sedangkan pada transfer elektron terjadi perpindahan muatan yang dapat diikuti reaksi protonasi. Dalam sistem nyata, kedua jalur dapat berkaitan dan dipengaruhi polaritas pelarut serta energi bebas reaksi. Karena itu, klasifikasi mekanisme didasarkan pada kondisi pengujian, bukan label tunggal yang dianggap melekat selamanya pada satu senyawa.

Kekuatan ikatan O–H, kemampuan delokalisasi elektron, dan keadaan ionisasi dapat memengaruhi kemungkinan transfer. Senyawa fenolik yang membentuk radikal relatif stabil setelah donasi hidrogen dapat menunjukkan aktivitas dalam assay tertentu. Namun, kestabilan produk reaksi tidak berarti seluruh tahapan berlangsung cepat dalam sistem biologis. Kinetika menjadi penting karena radikal atau oksidan dapat bereaksi terlebih dahulu dengan target lain yang lebih melimpah. Untuk menilai kelayakan suatu antioksidan langsung, laju reaksi dan konsentrasi molekul di lokasi yang relevan perlu dipertimbangkan bersama.

Perlu dibedakan reaksi terhadap radikal sintetik dan terhadap oksidan fisiologis. DPPH memiliki struktur dan sifat pelarut yang berbeda dari radikal peroksil lipid atau spesies reaktif pada mitokondria. Senyawa yang kuat mereduksi DPPH belum tentu memiliki akses kepada membran atau ruang intraseluler yang membutuhkan perlindungan. Sebaliknya, molekul yang kurang menonjol pada reagen tertentu mungkin memengaruhi jalur pertahanan di sel. Oleh karena itu, satu assay tidak cukup untuk menyimpulkan aktivitas biologis secara luas.

Interpretasi yang lebih tepat ialah mengaitkan struktur senyawa dengan reaksi yang terukur, lalu memeriksa apakah paparan biologis memungkinkan reaksi itu terjadi. Langkah lanjutan dapat berupa identifikasi metabolit setelah pencernaan, pengukuran distribusi kompartemen, dan pemilihan biomarker yang spesifik. Penggunaan beberapa metode yang saling melengkapi akan menghasilkan penjelasan lebih kuat dibanding penyajian peringkat ekstrak berdasarkan

satu nilai IC50. Kesimpulan demikian sejalan dengan kehati-hatian terhadap pemakaian istilah kapasitas antioksidan total pada bahan pangan (Huang et al., 2005).

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Khelasi Logam dan Pencegahan Peroksidasi Lipid

Ion logam transisi tertentu dapat berpartisipasi dalam rangkaian reaksi oksidatif, termasuk pembentukan radikal sangat reaktif dari prekursor yang lebih stabil. Senyawa bioaktif yang mempunyai gugus pengikat logam berpotensi mengubah ketersediaan ion bebas atau lingkungan koordinasinya. Namun, efek khelasi ditentukan oleh kekuatan kompleks, pH, konsentrasi, dan adanya ligan biologis yang bersaing. Uji pengikatan logam dalam larutan sederhana karena itu harus ditafsirkan secara terbatas dan tidak langsung dijadikan bukti perubahan distribusi logam dalam jaringan manusia.

Lipid tidak jenuh rentan terhadap reaksi berantai peroksidasi. Dalam model sederhana, tahap inisiasi membentuk radikal lipid; reaksi dengan oksigen menghasilkan radikal peroksil yang dapat menyerang lipid lain. Antioksidan pemutus rantai dapat menghambat propagasi jika cukup dekat dengan lokasi reaksi dan bereaksi dengan laju kompetitif. Sifat lipofilik atau hidrofilik molekul menentukan distribusinya pada antarmuka membran dan fase air. Ini menjelaskan mengapa pengujian dalam emulsi atau membran model kadang memberikan hasil berbeda dari uji pada pelarut homogen.

Produk sekunder peroksidasi sering digunakan sebagai indikator, tetapi beberapa assay berbasis reagen dapat menangkap senyawa selain target yang diharapkan. Pengukuran malondialdehid menggunakan pendekatan sederhana, misalnya, memerlukan perhatian terhadap spesifisitas analitik. Alternatif yang lebih selektif dapat dipakai sesuai fasilitas laboratorium dan kebutuhan penelitian. Penting pula menetapkan waktu pengambilan sampel karena produk oksidasi dapat terbentuk, berinteraksi dengan protein, atau terdegradasi selama proses penelitian. Stabilitas penyimpanan turut menentukan kesahihan nilai biomarker.

Implikasi biokimia dari dua mekanisme tersebut bersifat komplementer. Penangkapan radikal dapat memengaruhi tahap propagasi, sedangkan khelasi logam berpotensi memengaruhi reaksi pembentukan oksidan pada kondisi tertentu. Kedua mekanisme tidak membuktikan bahwa suatu ekstrak akan mencegah penyakit. Efek tersebut harus dibuktikan pada model yang memungkinkan interaksi biologis terjadi, dengan pengukuran konsentrasi senyawa serta uji keselamatan. Sintesis mekanisme membantu memilih hipotesis pengujian tanpa memaksakan kesimpulan yang melampaui data.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Regulasi Jalur Seluler dan Konteks Inflamasi

Perubahan status oksidatif berhubungan dengan berbagai jalur sinyal sel, tetapi hubungan tersebut tidak selalu satu arah. Jalur Nrf2 sering dibahas dalam konteks peningkatan ekspresi gen sitoprotektif; jalur NF- κ B dan mediator inflamasi dapat terlibat pada respons terhadap rangsangan tertentu. Senyawa bioaktif yang mengubah aktivitas protein regulator dapat memengaruhi keseimbangan tersebut melalui mekanisme langsung maupun tidak langsung. Karena itu, hasil pengukuran aktivitas antioksidan dalam kultur sel sebaiknya dilengkapi bukti mengenai jalur yang benar-benar berubah dan apakah perubahan itu berkaitan dengan penurunan kerusakan.

Desain uji sel perlu membedakan perlakuan sebelum paparan oksidan, perlakuan bersamaan, dan perlakuan setelah kerusakan terjadi. Setiap rancangan menjawab pertanyaan yang

berlainan: pencegahan, interaksi kimia sesaat, atau dukungan pemulihan. Konsentrasi paparan perlu dibandingkan dengan viabilitas sel serta kondisi fisiologis yang mungkin tercapai. Penggunaan zat oksidan yang sangat tinggi dalam kultur dapat menghasilkan cedera yang jauh dari proses kronis pada jaringan. Akibatnya, hasil proteksi sel tidak boleh ditafsirkan sebagai estimasi dosis yang efektif bagi manusia.

Pengujian ekspresi mRNA saja tidak menjamin perubahan aktivitas enzim. Transkripsi, translasi, modifikasi pascatranslasi, dan ketersediaan substrat dapat membentuk keluaran yang berbeda. Peneliti dapat mengombinasikan analisis ekspresi dengan aktivitas enzim, produk oksidasi, fungsi mitokondria, atau parameter seluler lain yang sesuai. Kontrol negatif dan positif perlu dipilih berdasarkan pertanyaan mekanistik, sedangkan penghambatan jalur secara selektif dapat membantu menguji apakah perubahan benar-benar dimediasi protein yang diduga. Hal ini memperkuat penalaran kausal pada tingkat eksperimen.

Keterkaitan antara redoks dan inflamasi turut menjelaskan mengapa klaim antioksidan perlu ditempatkan dalam konteks fisiologis. Respons imun yang wajar membutuhkan oksidan untuk fungsi tertentu, sedangkan kerusakan berkepanjangan dapat mengaktifkan umpan balik inflamasi. Intervensi yang menekan satu indikator radikal belum tentu memperbaiki keseluruhan fungsi jaringan. Penilaian mutu bukti yang hati-hati akan menempatkan perbaikan biomarker sebagai keluaran antara dan tetap meminta pengamatan fungsi biologis sebagai bukti tambahan.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Bioavailabilitas, Metabolisme, dan Mikrobiota

Sebelum senyawa bioaktif menimbulkan efek biologis, molekul perlu dilepaskan dari matriks bahan, bertahan atau berubah selama pencernaan, dan mencapai lokasi target. Penyerapan usus dipengaruhi ukuran molekul, kelarutan, transporter, serta keadaan makanan yang dikonsumsi bersamaan. Senyawa polifenol dapat mengalami metabolisme fase II, termasuk glukuronidasi, sulfatasi, dan metilasi. Karena metabolit sirkulasi berbeda dari bentuk yang diukur pada ekstrak, hubungan aktivitas antioksidan antara keduanya tidak dapat diasumsikan identik tanpa pengujian terpisah.

Mikrobiota usus dapat mengubah sebagian senyawa yang tidak terserap menjadi metabolit berukuran lebih kecil. Variasi komposisi komunitas mikroba, pola makan, dan penggunaan obat dapat membuat profil metabolit berbeda antarindividu. Perbedaan ini relevan saat membandingkan percobaan kultur sel dengan hasil setelah konsumsi bahan pangan. Pengujian yang hanya menggunakan konsentrasi tinggi senyawa murni dalam media mungkin mengabaikan bentuk molekul yang sebenarnya dialami jaringan. Pendekatan metabolomik atau pengukuran metabolit terarah dapat membantu memperkecil kesenjangan penafsiran tersebut.

Istilah bioavailabilitas perlu dinyatakan dengan ukuran spesifik, misalnya konsentrasi plasma, luas area di bawah kurva konsentrasi-waktu, atau keberadaan metabolit dalam jaringan. Besarnya total senyawa yang ditelan tidak sama dengan jumlah bentuk aktif yang mencapai target. Interaksi dengan protein plasma, difusi melalui membran, dan proses ekskresi membatasi konsentrasi setempat. Jika efek pada percobaan sel hanya terlihat pada dosis yang jauh melebihi paparan realistis, relevansi temuan perlu dikaji ulang, bukan dianggap sebagai bukti otomatis peningkatan manfaat kesehatan.

Pengolahan pangan dapat memengaruhi ketersediaan senyawa, tetapi tidak selalu dengan arah yang sama. Pemanasan mungkin merusak sebagian molekul sekaligus memudahkan pelepasan komponen lain dari matriks. Fermentasi dapat mengubah bentuk kimia atau

menghasilkan metabolit baru. Hasil akhir perlu ditentukan melalui pengukuran, termasuk evaluasi stabilitas dan kemungkinan kontaminan. Perspektif ini menunjukkan bahwa bahan alami tidak dapat dinilai hanya dari konsentrasi teoritis yang dilaporkan pada tumbuhan mentah.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Keamanan, Dosis, dan Keterbatasan Klaim

Pernyataan bahwa suatu senyawa berasal dari alam tidak menjadi jaminan keamanan pada seluruh dosis. Beberapa molekul dapat berinteraksi dengan enzim metabolisme obat, transporter, atau target biologis yang tidak terkait tujuan penggunaan. Ekstrak pekat dapat memberikan paparan berbeda jauh dari jumlah yang diperoleh melalui konsumsi pangan biasa. Oleh sebab itu, karakterisasi toksikologi, kesesuaian dosis, serta pengujian interaksi perlu menjadi bagian dari pengembangan produk berbasis senyawa bioaktif. Prinsip kehati-hatian sangat penting ketika bahan dikonsumsi dalam jangka panjang atau oleh kelompok rentan.

Perbedaan antara klaim aktivitas antioksidan dan klaim pencegahan penyakit harus dijelaskan. Nilai FRAP tinggi adalah hasil kimia dalam sistem uji, bukan bukti penurunan kejadian penyakit kronis. Penurunan biomarker oksidasi pada model hewan dapat memberikan dukungan mekanistik, tetapi tetap memerlukan pertimbangan kesesuaian spesies, dosis, dan kondisi percobaan. Uji klinis dengan rancangan yang memadai dibutuhkan jika kesimpulan hendak diarahkan kepada manfaat pada manusia. Hasil yang tidak konsisten juga harus disajikan karena dapat menunjukkan pengaruh konteks biologis.

Sumber variasi penelitian mencakup asal bahan, identifikasi spesies, umur panen, metode pengeringan, jenis pelarut, dan lama penyimpanan. Standardisasi ekstrak dapat dilakukan dengan penetapan penanda kimia tertentu disertai pemeriksaan kontaminan serta stabilitas. Akan tetapi, satu penanda tidak selalu mewakili seluruh komponen yang memengaruhi aktivitas. Untuk menghasilkan produk yang dapat direproduksi, pengendalian bahan baku dan proses sama pentingnya dengan uji aktivitas akhir. Dokumentasi yang baik memungkinkan perbandingan antar-batch dan memudahkan identifikasi sumber perubahan mutu.

Komunikasi ilmiah sebaiknya membedakan kata menghambat reaksi oksidasi dalam model, mengurangi biomarker kerusakan pada sel, dan memberikan manfaat kesehatan pada manusia. Ketiganya berada pada tingkatan bukti yang berbeda. Hasil negatif bukan kegagalan yang perlu disembunyikan, melainkan informasi yang dapat memperbaiki pemilihan dosis dan mekanisme. Pendekatan demikian mendorong pemanfaatan sumber daya alam secara bertanggung jawab serta mengurangi risiko promosi yang tidak sejalan dengan dukungan ilmiah.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Arah Riset dan Model Evaluasi Bertahap

Pengembangan riset dapat dimulai melalui pemilihan spesies dan bagian tumbuhan yang memiliki dasar etnobotani atau bukti komposisi kimia, diikuti autentikasi bahan secara memadai. Tahap berikutnya adalah optimasi ekstraksi yang melaporkan rendemen, pelarut, dan kondisi proses. Identifikasi senyawa dominan sebaiknya melibatkan metode kromatografi yang sesuai sehingga hubungan antara komposisi dan aktivitas dapat ditelusuri. Uji kimia multidimensi kemudian digunakan untuk membangun hipotesis mekanisme awal, bukan sebagai pengganti studi biologis.

Tahapan selanjutnya perlu memeriksa stabilitas, sitotoksitas, dan respons model biologis pada konsentrasi yang dapat dipertanggungjawabkan. Pengukuran mekanisme hendaknya menggunakan lebih dari satu keluaran, misalnya perubahan biomarker oksidasi serta fungsi sel

yang spesifik. Jika relevan, jalur molekuler diuji menggunakan strategi penghambatan atau pengukuran protein. Studi organisme harus melaporkan rancangan, kelompok kontrol, penentuan ukuran sampel, paparan, serta keselamatan. Pengujian pada manusia baru layak dirancang ketika dasar keamanan dan manfaat awal mencukupi.

Penelitian lintas disiplin dapat menggabungkan ahli biokimia, kimia analitik, farmasi, nutrisi, statistika, dan ilmu pangan. Ahli kimia membantu memastikan identitas senyawa serta validitas pengukuran, sedangkan peneliti biologi menguji respons pada model yang relevan. Statistika diperlukan untuk membedakan variasi alamiah dari perubahan akibat perlakuan dan untuk menghindari pemilihan hasil yang menguntungkan semata. Kolaborasi demikian tidak hanya meningkatkan ketelitian metode, tetapi juga menolong memilih pertanyaan riset yang berkontribusi nyata bagi pengetahuan.

Nilai kebaruan pada penelitian antioksidan sebaiknya tidak sekadar dinyatakan sebagai bahan lokal yang belum pernah diuji. Kontribusi yang lebih kuat muncul dari identifikasi mekanisme baru, pemahaman hubungan struktur–aktivitas pada kondisi tertentu, penilaian interaksi komponen yang benar-benar terukur, atau pengujian bioavailabilitas yang memperbaiki interpretasi hasil sebelumnya. Penelitian berbasis biodiversitas Indonesia memiliki ruang pengembangan luas, tetapi perlu menghormati keberlanjutan bahan baku, keselamatan, dan transparansi bukti. Keberhasilan ilmiah ditentukan oleh mutu penjelasan serta keterulangan hasil, bukan nilai uji tertinggi saja.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Penilaian Metabolit dan Validasi pada Sistem Biologis

Pemeriksaan aktivitas antioksidan pada tingkat jaringan sebaiknya tidak bergantung pada satu biomarker yang mudah berubah akibat proses pengambilan sampel. Penanda oksidasi lipid, perubahan protein, dan keseimbangan glutathione menggambarkan aspek yang berbeda serta memiliki keterbatasan analitik masing-masing. Penggunaan beberapa keluaran yang berkaitan dengan hipotesis akan membantu mengetahui apakah perlakuan sekadar mengubah pembacaan satu instrumen atau benar-benar memengaruhi proses biologis. Peneliti juga harus mempertimbangkan penyimpanan sampel, penggunaan antioksidan pada media preparasi, waktu pemrosesan, dan pengendalian variasi antar-batch, sebab oksidasi dapat terjadi setelah sampel keluar dari sistem hidup.

Metabolit fenolik dapat memiliki pola reaktivitas yang berlainan dari molekul asal. Metode kromatografi yang dikombinasikan dengan detektor massa berguna untuk menyelidiki keberadaan metabolit, tetapi identifikasi tentatif sebaiknya dipisahkan dari identifikasi yang dikonfirmasi dengan standar autentik. Ketika metabolit ditemukan dalam darah atau jaringan, kadar terukur perlu dibandingkan dengan konsentrasi yang menghasilkan respons dalam sistem eksperimen. Kesesuaian skala dosis memperkuat argumen biologis; ketidaksesuaian yang sangat besar menjadi alasan untuk meninjau kembali mekanisme yang diduga atau mencari jalur tidak langsung yang lebih masuk akal.

Penggunaan model organoid atau sistem ko-kultur dapat memperluas pemahaman tentang interaksi antarsel, meskipun kompleksitas teknisnya juga meningkat. Dalam model jaringan yang beragam, sebagian sel mungkin menghasilkan oksidan dan sel lain memberi respons adaptif. Senyawa bioaktif dapat memengaruhi banyak proses sekaligus sehingga penurunan satu biomarker belum tentu menggambarkan perbaikan fungsi jaringan. Oleh sebab itu, parameter biologis yang lebih dekat dengan tujuan penelitian perlu dijadikan indikator utama, sementara penanda stres oksidatif diposisikan sebagai pendukung penjelasan mekanisme.

Kesimpulan dari data seluler memerlukan pengulangan dengan sumber sel yang berbeda apabila generalisasi menjadi tujuan. Sel yang telah diabadikan sering memiliki metabolisme dan respons stres berbeda dari sel primer. Perbedaan metode kultur, kadar oksigen, serta waktu paparan dapat mengubah hasil. Replikasi independen dan transparansi kondisi pengujian diperlukan sebelum hasil dinyatakan stabil. Tidak semua variasi harus dihapus karena keragaman respons dapat mengungkap mekanisme yang bergantung pada jenis jaringan, metabolisme, atau kondisi awal organisme.

D. RESULT AND DISCUSSION (HASIL DAN PEMBAHASAN)

Implikasi Pengembangan Produk Bahan Alam dan Keberlanjutan

Potensi pemanfaatan senyawa bioaktif perlu dipertimbangkan bersama standardisasi bahan baku. Komposisi kimia tumbuhan dapat dipengaruhi kondisi tanah, cahaya, ketersediaan air, kematangan panen, serta proses pascapanen. Tanaman dengan nama umum sama belum tentu identik secara botani; identifikasi taksonomi dan dokumentasi asal bahan memperkuat keterlacakan. Analisis kimia dari beberapa batch dapat membantu menilai konsistensi senyawa penanda sebelum ekstrak digunakan untuk pengujian lanjutan. Tanpa informasi tersebut, perbedaan aktivitas dapat berasal dari perubahan bahan, bukan dari keunggulan proses ekstraksi atau metode formulasi.

Pengembangan produk harus memperhitungkan stabilitas senyawa selama penyimpanan dan penggunaannya. Paparan cahaya, panas, oksigen, serta kelembapan dapat menurunkan kadar beberapa komponen atau menghasilkan produk transformasi yang berbeda aktivitasnya. Strategi formulasi seperti enkapsulasi dapat dipertimbangkan untuk memperbaiki kestabilan atau pelepasan, tetapi manfaatnya perlu dibuktikan dengan pengujian yang setara. Kenaikan angka kapasitas antioksidan setelah formulasi tidak cukup untuk menyatakan peningkatan bioavailabilitas. Pengujian pelepasan, stabilitas, metabolit, dan keamanan dapat menyediakan jembatan dari bahan awal menuju produk yang lebih terkarakterisasi.

Keberlanjutan sumber bahan alam juga menjadi perhatian. Pengumpulan liar yang berlebihan dapat menekan populasi tanaman serta mengganggu habitat, terutama jika bagian yang diambil menyebabkan kematian tumbuhan. Sistem budidaya dan standar pemanenan dapat mengurangi tekanan tersebut, sementara pemanfaatan bagian samping industri pangan berpotensi menekan limbah. Namun, keberlanjutan perlu dinilai melalui informasi produksi, penggunaan pelarut, kebutuhan energi, dan pengelolaan residu; label alami saja tidak menunjukkan bahwa rantai pasok bebas dampak lingkungan.

Pada tingkat kebijakan penelitian, penilaian bahan bioaktif memerlukan hubungan yang jelas antara klaim, bukti, dan penggunaan yang dituju. Produk pangan, bahan kosmetik, maupun calon obat dapat mempunyai persyaratan keselamatan serta pembuktian yang berbeda. Peneliti tidak seharusnya memakai hasil uji kimia sebagai dasar langsung untuk klaim penyembuhan penyakit. Pelaporan yang jujur mengenai keterbatasan studi dapat mendukung inovasi jangka panjang karena membantu menentukan eksperimen mana yang paling penting dan menghindari pengulangan klaim yang belum tervalidasi.

E. CONCLUSION (KESIMPULAN)

Kesimpulan dan Implikasi

Aktivitas antioksidan senyawa bioaktif alami melibatkan mekanisme kimia maupun biologis yang berbeda. Donasi elektron atau atom hidrogen, khelasi logam, serta interaksi dengan reaksi peroksidasi dapat teramati dalam kondisi yang sesuai, sedangkan modulasi jalur pertahanan

endogen merupakan kemungkinan mekanisme seluler yang memerlukan bukti langsung. Polifenol, karotenoid, vitamin, dan senyawa nonfenolik tidak dapat diperlakukan sebagai satu kelompok homogen. Struktur molekul menentukan sebagian reaktivitas, tetapi hasil biologis dipengaruhi pula oleh metabolisme, dosis, lokasi, dan konteks fisiologis.

Kajian ini menekankan bahwa kemampuan mereduksi reagen pada uji kimia bukan ukuran langsung efektivitas kesehatan. DPPH, ABTS, FRAP, dan pendekatan sejenis dapat digunakan untuk menjelaskan aspek tertentu aktivitas, tetapi perlu dilengkapi identifikasi senyawa, pengukuran metabolit, model biologis yang relevan, serta penilaian keamanan. Bukti yang tersedia harus ditempatkan sesuai tingkatannya agar kesimpulan tidak melampaui desain penelitian. Kajian ini tidak melakukan pengujian laboratorium baru dan tidak menyimpulkan manfaat klinis dari senyawa atau ekstrak tertentu.

Implikasi praktisnya ialah kebutuhan protokol penelitian bertahap dan dapat direproduksi, mulai dari autentikasi bahan hingga evaluasi fungsi biologis. Data analitis perlu memuat kontrol interferensi, detail ekstraksi, satuan yang konsisten, replikasi, dan ketidakpastian. Dalam pengembangan bahan alam, ketersediaan sumber daya serta keberlanjutan pemanenan juga penting. Pengujian lanjutan sebaiknya memprioritaskan senyawa yang terkarakterisasi baik, memiliki dasar mekanistik, dan menunjukkan paparan biologis yang mungkin dicapai secara aman.

Penelitian masa depan dapat membandingkan aktivitas senyawa asal dengan metabolit yang terbentuk setelah pencernaan, menguji interaksi dengan jalur Nrf2 dan sistem glutathione, serta menggunakan model biologis yang lebih representatif. Studi yang melaporkan hasil negatif maupun tidak konsisten akan membantu memperjelas batas penggunaan konsep antioksidan. Dengan pendekatan yang terukur, potensi senyawa bioaktif alami dapat dinilai tanpa menyamakan hipotesis mekanistik dengan kepastian manfaat bagi manusia.

F. BIBLIOGRAPHY (DAFTAR PUSTAKA)

- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., & Saran, M. (1990). Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 186, 343–355. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86128-I](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86128-I)
- Cao, G., Alessio, H. M., & Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(3), 303–311. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90027-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90027-R)
- Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20, 689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*, 10, 514–528. <https://doi.org/10.1039/C8FO01997E>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.

- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1(1), 244–257. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.01.014>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(5), 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
- Ma, Q. (2013). Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53, 401–426. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320>
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Winterbourn, C. C. (2008). Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature Chemical Biology*, 4, 278–286. <https://doi.org/10.1038/nchembio.85>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>

- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650. <https://doi.org/10.1080/01926230290166724>
- Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, 39(7), 791–800. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.003>
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111–125. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Jones, D. P. (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(9–10), 1865–1879. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865>
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M. C. (1998). Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *LWT - Food Science and Technology*, 31(7–8), 694–698. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0490>
- Rodrigo, R., & Bosco, C. (2006). Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 142(3–4), 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.11.002>
- Trautinger, F. (2001). Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*, 26(7), 573–577. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2001.00893.x>
- Bast, A., & Haenen, G. R. M. M. (2013). Ten misconceptions about antioxidants. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(8), 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.05.010>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Dinkova-Kostova, A. T., & Talalay, P. (2008). Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(S1), S128–S138. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700195>
- Kensler, T. W., Wakabayashi, N., & Biswal, S. (2007). Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1–Nrf2–ARE pathway. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47, 89–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046>
- Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>
- Urquiaga, I., & Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33(2), 55–64. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602000000200004>