



## Analisis Fitokimia, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Kucai (*Allium schoenoprasum*) secara In Vitro

### *In Vitro Analysis for Phytochemical, Antioxidant Activity, and Toxicity of Chive Leaves Methanolic Extract (*Allium schoenoprasum*)*

Gabriella Frederica Tanowijono, Siufui Hendrawan\* & Frans Ferdinal

Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanegara, Indonesia

#### Abstrak

Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan komposisi radikal bebas dan kapasitas antioksidan, sehingga berkontribusi terhadap patogenesis berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu, suplementasi antioksidan alami sangat penting sebagai langkah preventif. Daun kucai (*Allium schoenoprasum*) merupakan bahan pangan fungsional dengan beragam senyawa bioaktif, namun kemampuannya sebagai antioksidan alami belum banyak dipelajari. Studi bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak secara *in vitro*. Ekstraksi menggunakan pelarut metanol melalui teknik maserasi dan perkolasi. Analisis meliputi identifikasi senyawa metabolit sekunder melalui skrining fitokimia, pengukuran total senyawa fenolik menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*, pengujian kapasitas antioksidan menggunakan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonat)]. Hasil fenolik total sebesar 439.45 µg/mL atau 14.65 mgGAE/g DW. Nilai IC<sub>50</sub> sebesar 21.93 µg/mL (ABTS) dan 13,06 µg/mL (FRAP). Pengujian toksisitas menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) nilai LC<sub>50</sub> sebesar 333,86 µg/mL, mengindikasikan ekstrak memiliki toksisitas rendah. Maka, ekstrak berpotensi dikembangkan sebagai agen antioksidan alami yang aman serta prospektif sebagai bahan dasar fitofarmaka.

**Kata Kunci:** Daun Kucai; Antioksidan; Fenolik Total; Uji Toksisitas; Fitofarmaka

#### Abstract

The development of degenerative diseases is influenced by oxidative stress, which stems from an imbalance between free radicals and the body's antioxidant defenses. Therefore, natural antioxidant supplementation is considered an essential preventive strategy. Chives leaves (*Allium schoenoprasum*) are functional foods containing various bioactive compounds; however, their potential as natural antioxidants remains underexplored. This study aims to evaluate the antioxidant activity and toxicity profile of the extract through *in vitro* assays. The extraction process using maceration and percolation techniques with methanol as the solvent. The analytical procedures encompassed phytochemical profiling, quantification of total phenolic compounds using the *Folin-Ciocalteu* reagent, and antioxidant capacity evaluations utilizing the *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) and ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). The resulting total phenolic content of 439.45 µg/mL, equivalent to 14.65 mg gallic acid equivalent (GAE) per gram of dry weight (DW). The IC<sub>50</sub> values were 21.93 µg/mL (ABTS) and 13.06 µg/mL (FRAP), indicating strong antioxidant activity. Toxicity assessment using the *Brine Shrimp Lethality Test* yielded an LC<sub>50</sub> value of 333.86 µg/mL, suggesting low toxicity. These results indicate that the extract holds a great promise as a safe and effective source of natural antioxidants.

**Keywords:** *Allium Schoenoprasum*; Antioxidant Activity; Phenolic Content; Toxicity; Phytopharmaceuticals

**How to Cite:** Tanowijono, G.F, Hendrawan, S., & Ferdinal, F. (2025). Analisis Fitokimia, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Kucai (*Allium schoenoprasum*) secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 7(2): 147-156

\*E-mail: [siufui@fk.untar.ac.id](mailto:siufui@fk.untar.ac.id)

ISSN 2722-9777 (Online)



## PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai negara tropis, memiliki kekayaan hayati lebih dari 30.000 spesies tanaman, termasuk diantaranya sekitar 9.600 tanaman herbal yang potensial sebagai obat tradisional. Kondisi ini menjadikan Indonesia salah satu pusat tanaman obat dunia, yang penting untuk penyediaan bahan obat alami dan pengembangan produk herbal (Cahyaningsih *et al.*, 2021).

Daun kucai (*Allium schoenoprasum*) yang tersebar di wilayah tropis dan subtropik termasuk di Indonesia, mengandung beragam senyawa bioaktif yang memiliki manfaat kesehatan. Tanaman ini dapat menjadi sumber antioksidan alami yang efektif menangkal radikal bebas, sehingga berpotensi mengurangi risiko stres oksidatif dan penyakit degeneratif (Singh *et al.*, 2018). Penggunaan antioksidan alami dari tumbuhan dianggap lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis yang berpotensi menimbulkan efek samping (Zahra *et al.*, 2024).

Pemanfaatan daun kucai secara tradisional meliputi fungsi sebagai bahan makanan dan obat untuk mengatasi pencernaan, hipertensi, infeksi, serta meningkatkan stamina (Vuković *et al.*, 2023). Studi fitokimia juga mengungkapkan keberadaan flavonoid, fenolik, saponin, dan steroidal glikosida yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Ekstrak daun kucai memiliki kandungan total senyawa fenolik yang menunjukkan potensi antioksidan tinggi. Aktivitas antioksidan *in vitro* biasanya diuji dengan metode valid seperti *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)] (ABTS) yang sederhana dan cepat dalam pengukuran kapasitas antioksidan (Bibi Sadeer *et al.*, 2020; Silvestrini *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2018). Evaluasi toksisitas ekstrak dapat dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk menentukan keamanan penggunaannya (Ulfa *et al.*, 2024).

Meskipun daun kucai mengandung senyawa bioaktif, studi komprehensif mengenai aktivitas antioksidan dan toksisitas *Allium schoenoprasum* asal Indonesia masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menilai aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum*) secara *in vitro* menggunakan berbagai metode analisis yang telah tervalidasi. Diharapkan hasil penelitian dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengembangan daun kucai sebagai sumber antioksidan alami dan bahan fitofarmaka.

## METODE PENELITIAN

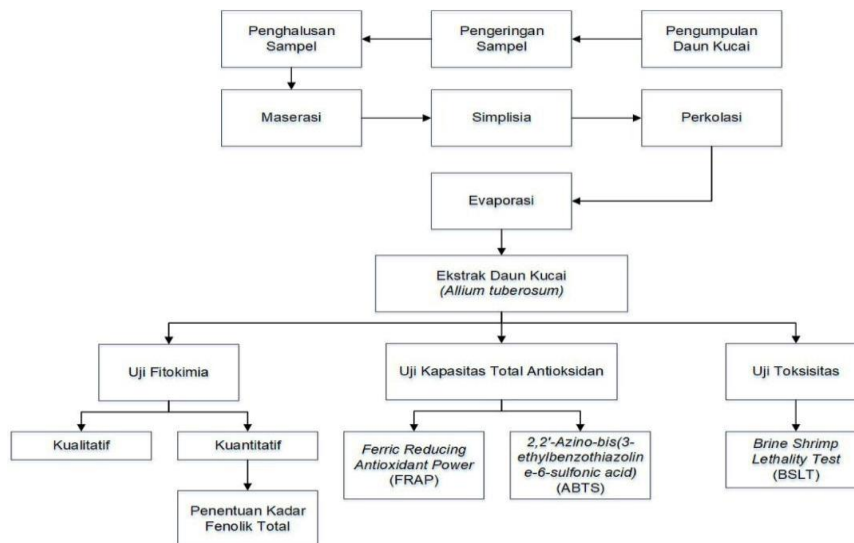
Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vitro* yang dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara. Sampel uji berupa daun kucai diperoleh dari wilayah Jakarta, Indonesia (Gambar 1). Analisis meliputi skrining fitokimia kualitatif, penentuan total fenolik, uji aktivitas antioksidan, serta evaluasi toksisitas ekstrak daun kucai.



Gambar 1. Sampel Uji Berupa Daun *Allium schoenoprasum* yang Telah Dikeringkan

## Ekstraksi Daun Kucai

Daun kucai dikeringkan pada suhu ruang tanpa paparan langsung dari sinar matahari untuk menjaga kestabilan kandungan senyawa bioaktif. Daun yang telah dikeringkan digiling hingga menjadi bubuk simplisia. Sebanyak 50 gr serbuk simplisia diekstraksi dengan 100 mL pelarut metanol melalui metode maserasi dan dilanjutkan perkolasi selama 24 jam. Filtrat hasil perkolasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak dengan konsistensi pekat. Tahapan lengkap mulai dari proses ekstraksi hingga analisis biokimia disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Proses Ekstraksi dan Tahapan Analisis Biokimia Ekstrak Daun Kucai

### **Analisis Skrining Fitokimia**

Analisis skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun kucai, meliputi alkaloid, flavonoid, kardioglikosida, glikosida, saponin, kumarin, fenol, kuinon, antosianin/betasianin, senyawa steroid, terpenoid, dan tanin. Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan pereaksi spesifik untuk masing-masing kelompok senyawa. Terbentuknya perubahan warna atau endapan tertentu dijadikan indikator hasil positif, mengacu pada metode standar (Dauda *et al.*, 2020; Doloking *et al.*, 2022; Kancherla *et al.*, 2019; Sadeq *et al.*, 2021).

### **Analisis Fenolik Total**

Analisis kandungan fenolik total dilakukan berdasarkan modifikasi dari metode Folin–Ciocalteu yang dikembangkan oleh Singleton dan Rossi. Ekstrak dilarutkan dalam campuran air: metanol (1:1 v/v) direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu dan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% dan diinkubasi pada suhu ruang selama dua jam dalam kondisi gelap. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer (Genesys 30-Vis) pada panjang gelombang 765 nm. Asam galat digunakan sebagai standar pembanding dan hasilnya dinyatakan dalam satuan miligram ekuivalen asam galat per gram berat kering (mg GAE/g DW).

### **Penentuan Kapasitas Antioksidan *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)***

Pengujian kapasitas antioksidan menggunakan metode FRAP dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun kucai pada berbagai konsentrasi (10, 15, 20, 25, dan 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) dengan reagen FRAP yang mengandung natrium asetat,  $\text{FeCl}_3$ , TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazin). Campuran diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 10 menit, dan dilakukan pengukuran absorbansi pada 594 nm, sebagai pembanding digunakan Trolox. Aktivitas antioksidan dinyatakan berdasarkan nilai  $\text{IC}_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mereduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  sebanyak 50%.

### **Penentuan Kapasitas Antioksidan [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)] (ABTS) (Benzie & Devaki, 2018)**

Analisis kemampuan antioksidan dilakukan melalui metode ABTS. Larutan radikal ABTS dihasilkan dari reaksi ABTS dengan kalium persulfat ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) dan diinkubasi dalam kondisi gelap selama 12 jam. Campuran diencerkan dan direaksikan dengan ekstrak daun

kucai, pada berbagai konsentrasi sebesar 10, 15, 20, 25, dan 30 µg/mL, dengan Trolox sebagai pembanding yang diuji pada konsentrasi identik seperti pada metode FRAP. Pengukuran absorbansi dilakukan pada 734 nm, dan aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC<sub>50</sub>.

### Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Waghulde *et al.*, 2019)



Uji toksisitas menggunakan BSLT diawali dengan penetasan larva udang laut *Artemia salina* sebanyak 10 mg yang dilarutkan dalam 250 mL air laut tersaring, disinari dengan cahaya lampu, serta diberikan aerasi selama 48 jam. Ekstrak daun kucai dilarutkan dalam DMSO (dimetil sulfoksida) dan diencerkan hingga menghasilkan konsentrasi 100, 200, 400, 600, 800, hingga 1000 µg/mL, kemudian ditambahkan 10 larva *A. salina* ke dalam masing-masing konsentrasi uji dan diinkubasi selama 24 jam. Persentase kematian larva dihitung, dan nilai LC<sub>50</sub> (*Lethal Concentration* 50) ditentukan berdasarkan kurva log konsentrasi ekstrak terhadap persentase mortalitas larva. Nilai ini mencerminkan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian larva sebanyak 50%.








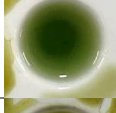
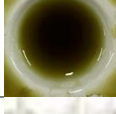

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kucai

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak metanol daun kucai mengandung beragam senyawa metabolit sekunder, meliputi flavonoid, alkaloid, glikosida, fenolik, kuinon, antosianin, tannin, dan saponin (Tabel 1). Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2018) yang juga menemukan adanya flavonoid dan saponin dalam ekstrak daun kucai melalui metode maserasi (Singh *et al.*, 2018). Kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun kucai tersebut berperan penting dalam berbagai aktivitas biologis termasuk antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi (Zeb, 2020).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia terhadap Ekstrak Daun *Allium schoenoprasum*

Kandungan Fitokimia	Interpretasi	Hasil
Alkaloid	Kiri (Dragendorff): Jingga (Positif) Kanan (Mayer): Keruh (Positif)	
Flavonoid	Kuning gelap (Positif)	

<b>Kardioglikosida</b>	Coklat (Positif)	
<b>Glikosida</b>	Merah muda (Positif)	
<b>Saponin</b>	Busa (Positif)	
<b>Kumarin</b>	Fluoresensi kuning (Positif)	
<b>Fenolik</b>	Hijau gelap (Positif)	
<b>Kuinon</b>	Cincin merah (Positif)	
<b>Antosianin</b>	Hijau kebiruan (Positif)	
<b>Steroid</b>	Hijau (Positif)	
<b>Terpenoid</b>	Coklat (Positif)	
<b>Tanin</b>	Hijau kehitaman (Positif)	

### Fenolik Total Ekstrak Daun Kucai

Senyawa fenolik bersifat antioksidan dikarenakan gugus hidroksilnya yang mampu melepaskan atom hidrogen, yang kemudian berfungsi menetralkan dan menstabilkan radikal bebas. Dengan demikian, pengukuran kadar fenolik penting sebagai representasi aktivitas antioksidan suatu senyawa (Zeb, 2020). Pada studi ini, kadar fenolik total ekstrak daun kucai ditemukan sebesar 439.45 µg/mL atau setara dengan 14.65 mg GAE/g DW (Tabel 2).

Tabel 2. Kapasitas Fenolik Ekstrak Daun Kucai

Rata - Rata Absorbansi	Kadar Fenolik (µg/mL)	Kadar Total Fenolik (mgGAE/g DW)
0.318 ± 0.01	439.45 ± 9.09	14.65 ± 0.30

Kadar tersebut mengindikasikan potensi antioksidan yang cukup tinggi. Senyawa fenolik berfungsi sebagai donor atom hidrogen yang stabil untuk menetralkan radikal

bebas, sehingga mencegah kerusakan oksidatif pada jaringan (Abdel-Gawad *et al.*, 2014; Zeb, 2020). Korelasi erat antara kadar fenolik dan aktivitas antioksidan ini mendukung peran fenolik sebagai indikator kapasitas antioksidan ekstrak.

### **Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun kucai Menggunakan Metode FRAP**

Metode FRAP digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan total suatu ekstrak tanaman. Teknik ini bekerja melalui reduksi ion besi trivalen ( $Fe^{3+}$ ) menjadi besi bervalensi dua ( $Fe^{2+}$ ), yang kemudian menghasilkan kompleks berwarna biru jika bereaksi dengan reagen TPTZ dalam kondisi asam (Zhong & Shahidi, 2015). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak daun kucai sebesar 13.06  $\mu\text{g/mL}$ , sementara senyawa pembanding Trolox sebesar 10,42  $\mu\text{g/mL}$  (Tabel 3).

Tabel 3. Perbandingan Kapasitas Antioksidan antara Ekstrak Daun Kucai dan Senyawa Standar Trolox

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak kucai		Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Trolox	
	% Inhibisi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		% Inhibisi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
10	42.67 $\pm$ 4.11	13.06	5	39.07 $\pm$ 1.81	10.42
15	54.67 $\pm$ 5.13		10	50.51 $\pm$ 0.77	
20	62.99 $\pm$ 5.98		15	59.05 $\pm$ 0.64	
25	70.26 $\pm$ 7.56		20	66.43 $\pm$ 0.36	
30	74.67 $\pm$ 0.80		25	76.48 $\pm$ 0.15	

Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya Singh *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa ekstrak etanolik *Allium schoenoprasum* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 15,32  $\mu\text{g/mL}$  menggunakan metode FRAP (Singh *et al.*, 2018). Hasil perbandingan tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak daun kucai memiliki potensi sebagai agen reduktor melalui mekanisme donasi elektron. Jumlah total antioksidan dalam ekstrak tersebut memengaruhi langsung kapasitas reduksinya, sejalan dengan peran fenolik dan flavonoid sebagai agen pereduksi elektron.

### **Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Kucai Menggunakan Metode ABTS**

Metode ABTS digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan, yakni dengan melihat kemampuan senyawa sebagai donor proton atau elektron dalam menetralkan radikal  $ABTS^{\bullet+}$ , yang dicirikan dengan perubahan warna larutan dari biru kehijauan ke tak berwarna (Bibi Sadeer *et al.*, 2020). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak daun kucai tercatat sebesar 21.93  $\mu\text{g/mL}$ . Sebagai pembanding, Trolox menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 13.27  $\mu\text{g/mL}$ , yang setara dengan nilai TEAC sebesar 0.90 (Tabel 4).

Tabel 4. Perbandingan Kapasitas Antioksidan antara Ekstrak Daun Kucai dan Senyawa Standar Trolox

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak kucai		Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Trolox	
	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )		% Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
10	12.65 $\pm$ 1.22	21.93	5	37.55 $\pm$ 0.18	13.27
15	34.06 $\pm$ 2.43		10	44.69 $\pm$ 0.48	
20	48.34 $\pm$ 3.91		15	52.20 $\pm$ 0.66	
25	58.88 $\pm$ 3.65		20	60.99 $\pm$ 0.73	
30	75.43 $\pm$ 8.60		25	67.95 $\pm$ 0.48	

Hasil ini sejalan dengan temuan Kurnia *et al.* (2021) yang melaporkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 24,10  $\mu\text{g/mL}$  pada ekstrak metanol daun *Allium schoenoprasum* menggunakan metode ABTS (Kurnia *et al.*, 2021). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kucai memiliki kemampuan dalam menetralkan radikal bebas secara efektif. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mengurangi aktivitas radikal ABTS sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh, maka semakin besar kemampuan antioksidan dari ekstrak tersebut. Hasil ini mendukung studi sebelumnya yang mengungkapkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman genus *Allium* kaya akan senyawa flavonoid dan fenolik, yang secara signifikan berperan dalam aktivitas antioksidan dan dapat dianalisis menggunakan metode ABTS (Kurnia *et al.*, 2021).

### Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kucai

BSLT merupakan metode skrining awal yang efisien untuk mendeteksi senyawa toksik, dan penting sebagai dasar bagi pengujian toksisitas lanjutan *in vivo* (Waghulde *et al.*, 2019). Metode ini memanfaatkan larva udang *Artemia salina* yang dikenal memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi terhadap senyawa toksik, sehingga dapat diperoleh nilai persentase mortalitas larva yang merepresentasikan toksisitas berbagai konsentrasi bahan uji (Tabel 5).

Tabel 5. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kucai terhadap Larva *Artemia salina*

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Persen Mortalitas (%)	LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
100	8.93	333.86
200	25.00	
400	50.00	
600	72.00	
800	88.14	
1000	95.83	

Pada pengujian toksisitas ekstrak daun kucai diperoleh nilai Nilai LC<sub>50</sub> sebesar 333.86  $\mu\text{g/mL}$  (Tabel 5). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak memiliki tingkat toksisitas sedang berdasarkan klasifikasi Hamidi *et al.* (2014), di mana suatu bahan dianggap toksik apabila LC<sub>50</sub> < 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil ini sejalan dengan penelitian Jovanova *et al.* (2019) yang

melaporkan nilai LC<sub>50</sub> ekstrak daun *Allium schoenoprasum* sebesar 302 µg/mL, menunjukkan kesamaan tingkat toksisitas dalam genus yang sama (Hamidi *et al.*, 2014; Jovanova *et al.*, 2019). Tingkat toksisitas sedang pada ekstrak daun kucai ini diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, dan glikosida, yang diketahui dapat berinteraksi dengan membran sel dan memicu stres oksidatif pada organisme uji (Alam *et al.*, 2023). Dengan demikian, hasil BSLT ini terutama berfungsi sebagai indikasi awal bahwa ekstrak daun kucai mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas biologis signifikan, yang layak untuk dikaji lebih lanjut dalam konteks toksisitas dan potensi terapeutik yang lebih spesifik.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, ekstrak metanol dari daun kucai asal Jakarta diketahui mengandung beragam senyawa metabolit sekunder, termasuk flavonoid, alkaloid, glikosida, senyawa fenolik, kuinon, antosianin, tanin, betasianin, serta saponin. Keanekaragaman senyawa fitokimia tersebut mengindikasikan adanya potensi aktivitas biologis yang relevan, terutama sebagai sumber antioksidan alami. Temuan ini memperkuat peran *Allium schoenoprasum* sebagai bahan alami yang berpotensi dikembangkan dalam bidang pangan fungsional dan farmasi sebagai obat herbal terstandar. Namun, untuk memastikan aktivitas biologis spesifik dan keamanan penggunaannya, diperlukan penelitian lanjutan melalui pengujian *in vitro* maupun *in vivo* yang lebih mendalam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Gawad, M., Abdel-Aziz, M., El-Sayed, M., El-Wakil, E., & Abdel-Lateef, E. (2014). In vitro antioxidant, total phenolic and flavonoid contents of six *Allium* species growing in Egypt. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(4), 343.
- Alam, A., Al Arif Jahan, A., Bari, M. S., Khandokar, L., Mahmud, M. H., Junaid, M., Chowdhury, M. S., Khan, M. F., Seidel, V., & Haque, M. A. (2023). *Allium* vegetables: Traditional uses, phytoconstituents, and beneficial effects in inflammation and cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6580–6614.
- Benzie, I. F. F., & Devaki, M. (2018). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications*, 77–106.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
- Cahyaningsih, R., Magos Brehm, J., & Macted, N. (2021). Gap analysis of Indonesian priority medicinal plant species as part of their conservation planning. *Global Ecology and Conservation*, 26(February), e01459. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01459>
- Dauda, H., Uba, G., & Ali, U. (2020). Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Flavonoids from the Stem Bark Extract of *Commiphora africana* (Burseraceae). *Bulletin of Environmental Science and Sustainable Management (e-ISSN 2716-5353)*, 4(1), 25–27.
- Doloking, H., Tahar, N., & Ningsi, S. (2022). Flavonoids: A review on extraction, identification, quantification, and antioxidant activity. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 1–26.
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, T. K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin/Makedonsko Farmaceutski Bilten*, 60(1).
- Jovanova, B., Kulevanova, S., & Kadifkova Panovska, T. (2019). Determination of the total phenolic content, antioxidant activity and cytotoxicity of selected aromatic herbs. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 84(1), 51–58.

- Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., & Komaram, R. B. (2019). Preliminary analysis of phytoconstituents and evaluation of anthelmintic property of *Cayratia auriculata* (in vitro). *Maedica*, *14*(4), 350.
- Kurnia, D., Ajiati, D., Heliawati, L., & Sumiarsa, D. (2021). Antioxidant properties and structure-antioxidant activity relationship of *Allium* species leaves. *Molecules*, *26*(23), 7175.
- Sadeq, O., Mechchate, H., Es-Safi, I., Bouhrim, M., Jawhari, F. Z., Ouassou, H., Kharchoufa, L., N. AlZain, M., M. Alzamel, N., & Mohamed Al Kamaly, O. (2021). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of pollen extracts from *micromeria fruticosa*, *achillea fragrantissima*, and *phoenix dactylifera*. *Plants*, *10*(4), 676.
- Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., & Mancini, A. (2023). Total antioxidant capacity: biochemical aspects and clinical significance. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(13), 10978.
- Singh, V., Chauhan, G., Krishan, P., & Shri, R. (2018). *Allium schoenoprasum* L. : a review of phytochemistry , pharmacology and future directions. *Natural Product Research*, *6419*, 1–15. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1367783>
- Ulfa, D. M., Tulandi, S. M., & Sulistiyo, J. (2024). Toxicity Evaluation with Brine Shrimp Lethality Test and Phytochemical Analysis of Some Indonesian Plant Extracts As Potential Anti-Colon Cancer Agents. *Tropical Journal of Natural Product Research*, *8*(4), 6864–6867.
- Vuković, S., Popović-Djordjević, J. B., Kostić, A. Ž., Pantelić, N. D., Srećković, N., Akram, M., Laila, U., & Katanić Stanković, J. S. (2023). *Allium* species in the Balkan region—major metabolites, antioxidant and antimicrobial properties. *Horticulturae*, *9*(3), 408.
- Waghulde, S., Kale, M. K., & Patil, V. (2019). Brine shrimp lethality assay of the aqueous and ethanolic extracts of the selected species of medicinal plants. *Proceedings*, *41*(1), 47.
- Zahra, M., Abrahamse, H., & George, B. P. (2024). Flavonoids: Antioxidant Powerhouses and Their Role in Nanomedicine. *Antioxidants*, *13*(8). <https://doi.org/10.3390/antiox13080922>
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*, *44*(9). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2015). 12 - Methods for the assessment of antioxidant activity in foods fn11. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (Issue 2005). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00012-9>