

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
RUMPUT GANDUM (*Triticum aestivum*) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing
Antioxidant Power*)**



KARYA TULIS ILMIAH

OLEH
FIKEY HAYKAL ADITAMA
NIM. 2712056

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
RUMPUT GANDUM (*Triticum aestivum*) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing
Antioxidant Power*)**

**ANTIOXIDANTS EXTRACT OF WHEAT GRASS (*Triticum
aestivum*) BY FRAP METHOD (*Ferric Reducing
Antioxidant Power*)**



**KARYA TULIS ILMIAH
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH
FIKEY HAYKAL ADITAMA
NIM. 2712056**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RUMPUT
GANDUM (*Triticum aestivum*) DENGAN METODE FRAP (*Ferric
Reducing Antioxidant Power*)**

Disusun Oleh :

FIKEY HAYKAL ADITAMA

NIM. 2172056

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji dan telah dinyatakan memenuhi syarat/

sah

Pada tanggal 19 Juni 2020

Tim Penguji :

C.E Dhurhania, S.Farm., M.Sc

(Ketua)

Wimpy, S.Pd. Kim., M.Pd

(Penguji 1)

Novena Yety L, S.Farm, M.Sc., Apt

(Penguji 2)

Menyetujui,
Pembimbing Utama

Novena Yety L, S.Farm, M.Sc., Apt

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Farmasi

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
RUMPUT GANDUM (*Triticum aestivum*) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing
Antioxidant Power*)**

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar dilingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 19 Juni 2020



Fiky Haykal Aditama

NIM. 2171056

MOTTO

Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal itu amat baik bagimu,
Dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu padahal itu amat buruk bagimu.
Ketahuilah Allah mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.

(Q.S Al-Baqarah: 216)

Maka sesungguhnya,
bersama kesulitan, ada kemudahan.

(Q.S Asy.Syarh: 5)

Panjang umur untuk semua hal-hal yang baik
(Adhit tshirttokoh)

Pendidikan adalah senjata paling ampuh untuk mengubah dunia
(Nelson Mandela)

Apa guna punya ilmu tinggi, kalau hanya untuk mengibuli.
Apa guna banyak baca buku, kalau mulut kau bungkam melulu.
(Wiji Thukul)

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNya yang begitu besar kepada saya.
2. Nabi besar Muhammad SAW yang telah membimbing umat islam menuju hari kemenangan.
3. Kedua orang tua saya dan seluruh keluarga besar yang telah mendukung secara moril maupun materil.
4. Indah Sayekti, yang senantiasa menemani dan mendukung setiap prosesku selama ini.
5. Ibu Novena Yety L, M.Sc., Apt yang telah membimbing dan mengarahkan KTI saya dari awal sampai akhir.
6. Rekan-rekan dari tim keluarga inti Aisah Farhani, Alya Alfat, Annissa Endah, Arditya Purwa, dan Muhammad Isak yang telah menemani dari awal perkuliahan hingga akhir, juga tak henti membantu dan memberikan semangat kepada saya untuk menyelesaikan KTI ini.
7. Almamaterku tercinta STIKES Nasional.

PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RUMPUT GANDUM (*Triticum aestivum*) DENGAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**” dengan lancar. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan DIII FARMASI di STIKES Nasional. Dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka perlu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis.
2. Hartono, S.Si, M.Si., Apt selaku Ketua STIKES Nasional yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyusun dan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Novena Yety L, M.Sc., Apt selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing penulis hingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. C. E. Dhurhania, S.Farm., M.Sc, selaku ketua penguji Karya Tulis Ilmiah.
5. Wimpy, S.Pd. Kim., M.Pd selaku penguji yang telah memberikan kritik dan saran terhadap penelitian ini.
6. Ratih Guswinda Lestari, S.Farm, selaku instruktur, yang telah mengarahkan penulis selama penelitian.

7. Tim laboran Laboratorium Kimia Instrumental, Laboratorium Kimia Kuantitatif dan Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat Wibowo, A.Md; Johan, A.Md; Petrus, A.Md; dan Lulu, A.Md yang telah membantu penulis selama melaksanakan penelitian.
8. Dosen serta asisten dosen STIKES Nasional yang telah memberikan ilmu pengetahuannya kepada penulis.
9. Petugas perpustakaan dan laboratorium STIKES Nasional atas segala bantuan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Segenap keluarga, Bapak, Ibu dan Indah Sayekti yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
11. Teman-teman tingkat 3 reguler B prodi DIII Farmasi

Penulis menyadari dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini masih terdapat kekurangan maka dari itu penulis mengharapkan kritik serta saran yang membangun bagi Karya Tulis Ilmiah ini. Akhir kata, penulis berharap Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan bagi STIKES Nasional.

Surakarta, 19 Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRAC</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Landasan Teori.....	6
B. Kerangka Pikir	21
C. Hipotesis.....	21
BAB III METODE PENELITIAN.....	22
A. Desain Penelitian.....	22
B. Tempat dan Waktu Penelitian	22
C. Instrumen Penelitian.....	22
D. Alur Penelitian	24
E. Jalannya Penelitian.....	25
F. Analisis Data	32

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Determinasi Tanaman	35
B. Preparasi Sampel.....	35
C. Pembuatan Ekstrak.....	36
D. Skrining Fitokimia	38
E. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP.....	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Kesimpulan	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak etanol rumput gandum.....	38
Tabel 2. Hasil Uji skrining fitokimia ekstrak etanol rumput gandum.....	39
Tabel 3. Operating time.....	43
Tabel 4. % Inhibisi baku vitamin C	45
<u>Tabel 5. % Inhibisi sampel ekstrak etanol rumput gandum</u>	45
<u>Tabel 6. Nilai IC₅₀ baku vitamin C</u>	47
<u>Tabel 7. Nilai IC₅₀ sampel ekstrak etanol rumput gandum</u>	47
<u>Tabel 8. Interpretasi nilai IC₅₀.....</u>	47
<u>Tabel 9. Hasil output SPSS uji kolmogrov-smirnov pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum.....</u>	48
<u>Tabel 10. Hasil output SPSS uji homogenitas pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum.....</u>	49
<u>Tabel 11. Hasil output SPSS uji independent sampel t-test pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum</u>	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman rumput gandum (Dokumen Pribadi).....	14
Gambar 2. Kerangka pikir.....	20
Gambar 3. Alur penelitian.....	23
Gambar 4. Spektrum panjang gelombang	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Rumput Gandum	55
Lampiran 2. Perhitungan Persen (%) Rendemen	56
Lampiran 3. Skrinning Fitokimia.....	59
Lampiran 4. Perhitungan Penimbangan Bahan Larutan Pereaksi	61
Lampiran 5. Penentuan <i>Operating Time</i>	64
Lampiran 6. Penentuan Panjang Gelombang	65
Lampiran 7. Absorbansi Larutan Kontrol Antioksidan	66
Lampiran 8. Pembuatan Larutan dan Seri Konsentrasi Baku Vitamin C	67
Lampiran 9. Perhitungan Nilai Antioksidan (IC_{50}) Baku Vitamin C.....	69
Lampiran 10. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol Rumput Gandum.....	77
Lampiran 11. Perhitungsn Nilai Antioksidan (IC_{50}) Sampel Ekstrak Etanol Rumput Gandum	79
Lampiran 12. Metode SPSS Independent Sampel T-Test.....	87

INTISARI

Rumput gandum diketahui mengandung vitamin A, C, E, klorofil, bioflavonoids, linoleic acid, lysine, peroxidase, super oxide dismutase (SOD), essential fatty acids, linole-nic acid (ALA) yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan sebutan untuk zat yang berfungsi melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum. Ekstrak etanol rumput gandum dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Hasil ekstrak etanol rumput gandum kemudian diuji skrining fitokimia. Uji antioksidan ini dilakukan dengan metode FRAP menggunakan Spektrofotometri UV – VIS. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan nilai IC_{50} . Hasil uji skrining fitokimia dari penelitian menunjukkan bahwa rumput gandum positif alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, minyak atsiri, fenol, dan vitamin C. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput gandum dengan nilai IC_{50} sebesar 111,88 ppm, dimana hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rumput gandum mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang dan diperoleh nilai Koefisien Variasi sebesar 1,35 %. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C diperoleh sebesar 113 ppm dengan nilai Koefisien Variasi sebesar 1,10 %. Hasil T-test diperoleh nilai signifikan 0,385 yang berati aktivitas antioksidan vitamin C dengan aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol rumput gandum diperoleh hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai signifikan lebih dari 0,05.

Kata Kunci : Antioksidan, Rumput Gandum, Ekstrak Etanol, FRAP

ABSTRACT

Wheat grass is known to contain vitamins A, C, E, chlorophyll, bioflavonoids, linoleic acid, lysine, peroxidase, super oxide dismutase (SOD), essential fatty acids, linole-nic acid (ALA) which act as antioxidants. Antioxidants are a term for substances that function to protect the body from free radical attack. This study aims to determine the antioxidant activity of wheat grass ethanol extract. The ethanol extract of wheat grass was made using maceration method. The results of ethanol extract of wheat grass were then tested for phytochemical screening. This antioxidant test was carried out by the FRAP method using UV-VIS Spectrophotometry. Determination of antioxidant activity was carried out using IC₅₀ values. Phytochemical screening test results from the study showed that wheatgrass was positively alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, essential oil, phenol, and vitamin C. The results of antioxidant activity test of wheatgrass extract with IC₅₀ value of 111.88 ppm, where these results showed that the extract wheat ethanol has moderate antioxidant activity and the coefficient of variation is obtained at 1.35%. Vitamin C antioxidant activity test results obtained by 113 ppm with a coefficient of variation of 1.10%. T-test results obtained a significant value of 0.385 which means antioxidant activity of vitamin C with antioxidant activity of ethanol extract samples of wheat grass obtained results there are no significant differences because the significant value is more than 0.05.

Keywords: Antioxidants, Wheat Grass, Ethanol Extract, FRAP

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Hati merupakan salah satu organ terbesar dalam tubuh manusia yang tersusun hepatosit atau sel hati. Fungsi utama hati adalah sebagai tempat terjadinya metabolisme karbohidrat, protein dan lemak. Hati juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan berbagai zat seperti mineral, vitamin, glikogen dan juga berbagai racun yang tidak dapat dikeluarkan dari tubuh (Batticacca, 2009).

Racun yang tersimpan dalam hati dapat berasal dari konsumsi makanan yang banyak mengandung radikal bebas, radikal bebas merupakan salah satu senyawa reaktif yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya. Paparan dari zat tersebut secara terus menerus akan menyebabkan kerusakan sel-sel dalam tubuh menjadi sel kanker atau penyakit degeneratif yang lain salah satunya sirosis hepatis. Sirosis hepatis merupakan penyakit kronis progresif yang dikarakteristik oleh penyebaran inflamasi dan fibrosis pada hepar. Penyakit ini ditandai dengan adanya peradangan difusi dan menahun pada hati kemudian diikuti dengan poliferasi jaringan ikat juga degenerasi dan regenerasi sel hati sehingga timbul kekacauan dalam susunan parenkim hati yang akan berdampak pada penurunan hingga disfungsi pada hepar.

Pencegahan sirosis hepatis dapat dilakukan dengan cara konsumsi antioksidan yang berfungsi menangkal radikal bebas. Antioksidan tersebut

menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, kemudian menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh secara alami dan sintetik. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat potensial untuk dikembangkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan senyawa oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksida lipid pada makanan (Winarsih, 2007).

Rumput gandum dikenal sebagai sebuah panganan lengkap yang dapat memberikan semua nutrisi dibandingkan panganan lainnya. Rumput gandum berisi hampir semua vitamin dan mineral, seperti vitamin B kompleks dan asam amino. Rumput gandum juga mengandung vitamin A, B, C, dan E yang dapat berguna sebagai antioksidan. Kandungan antioksidan lainnya dalam rumput gandum yaitu klorofil, bioflavonoids, linoleic acid, lysine, peroxidase, super oxide dismutase (SOD), essential fatty acids, linole-nic acid (ALA). Molekul klorofil dalam rumput gandum hampir identik dengan hemoglobin dalam darah manusia. Rumput gandum disebut “Green Blood” (Nazla, 2015)

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nazla (2015) bahwa jus rumput gandum yang mempunyai antioksidan sedang pada formula 1 dengan IC₅₀ 190,197 ppm atau 0,1901 mg/ml. Pada penelitian Nazla (2015) yang berjudul Aktivitas Antioksidan Jus Rumput Gandum (*Triticum aestivum*) Sebagai Minuman Kesehatan Dengan Metode DPPH tidak disebutkan zat

antioksidan yang terkandung dalam jus rumput. Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya dilakukan pengambilan zatnya dengan cara dijus, sedangkan penelitian yang akan dilakukan sekarang pengambilan zat dengan cara maserasi dimana hasilnya berupa ekstrak, keuntungan dari ekstrak mempunyai zat yang tersari atau terambil lebih banyak.

Berdasarkan hal-hal diatas maka peneliti terdorong untuk melakukan analisis aktivitas antioksidan pada ekstrak rumput gandum dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) secara spektfotometri uv-vis karena penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nazla pada tahun 2016 dengan menggunakan metode DPPH Metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan dari metode FRAP adalah cukup sederhana, reagennya mudah disiapkan dan metodenya juga murah. Metode FRAP akan menentukan kandungan antioksidan total berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dari suatu bahan yang akan mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{+2} sehingga dapat dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa dengan kekuatan antioksidan suatu senyawa. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal FRAP yaitu IC_{50} yaitu konsentrasi ekstrak atau fraksi uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal FRAP sebanyak 50%. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat gunanya ekstrak rumput gandum sebagai antioksidan dan dapat sebagai anti hepatoprotektor.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ada aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum (*Triticum aestivum*) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)?
2. Berapa nilai kapasitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum (*Triticumaestivum*) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) menggunakan IC₅₀?
3. Apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan antara baku vitamin C dan sampel ekstrak etanol rumput gandum?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui rumput gandum (*Triticum aestivum*) memiliki aktivitas antioksidan.

2. Tujuan khusus

- a. Untuk mengetahui kapasitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum (*Triticum aestivum*) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).
- b. Untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antioksidan antara baku vitamin C dan sampel ekstrak etanol rumput gandum.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penellitian ini adalah memberikan informasi mengenai uji aktivitas ekstrak etanol rumput gandum (*triticum aestivum*)dengan metode FRAP.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian pada Karya Tulis Ilmiah ini adalah penelitian eksperimental karena bertujuan untuk menjelaskan analisa perbedaan dari hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum (*Triticum aestivum*) dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Instrumental, Laboratorium Kimia Kuantitatif dan Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

2. Waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan mulai bulan November 2019 sampai dengan bulan Januari 2020.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

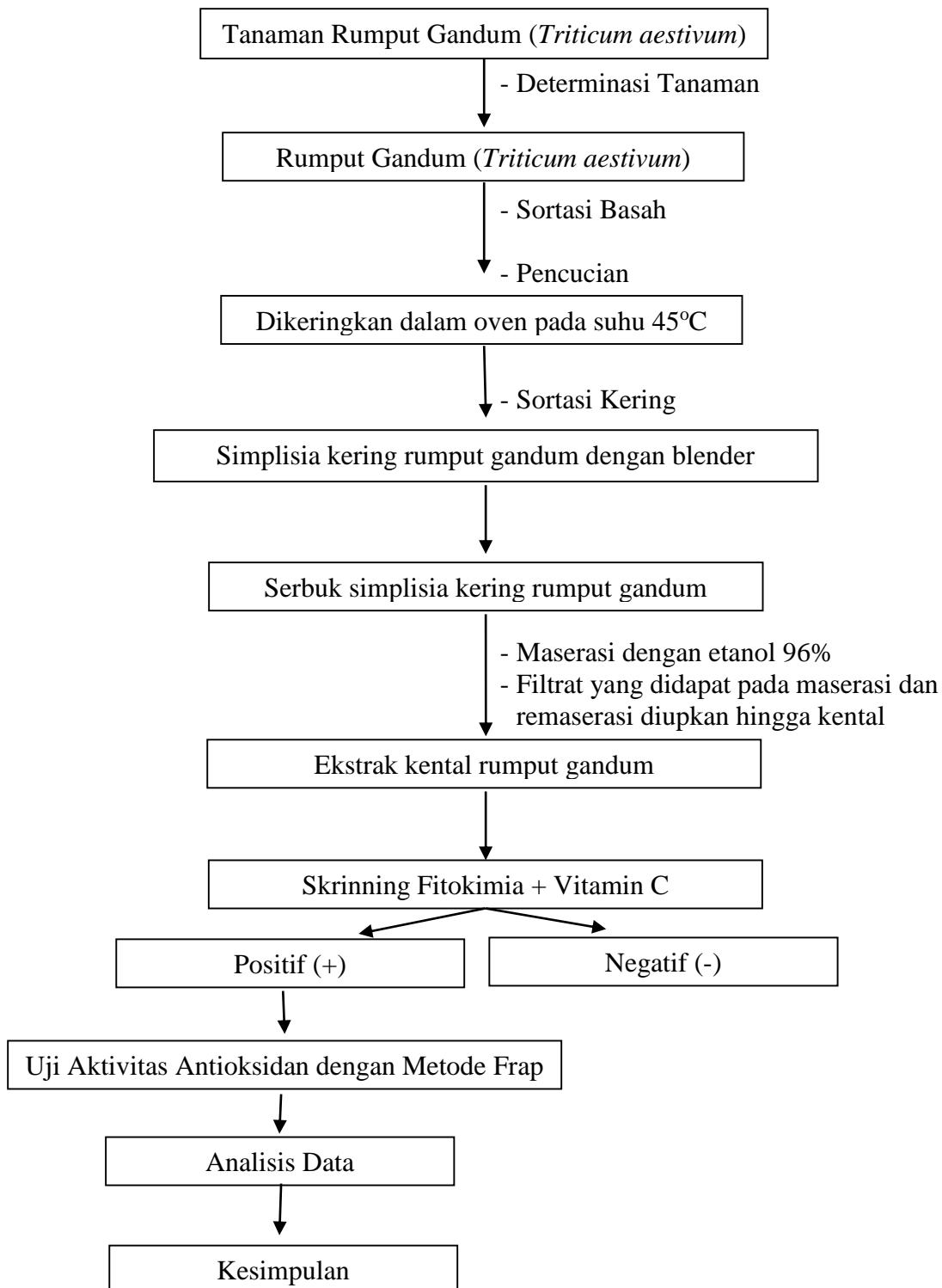
Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu UV mini-1240), setrifuge (Dragon LC-04S), timbangan analitik (Acis AD – 600 H), batang pengaduk, gelas kimia (pyrex), kuvet, Erlenmeyer (pyrex),

labu ukur (pyrex), mikropipet (pyrex), tabung reaksi (pyrex), tabung sentrifuge (pyrex), .

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah aquadest, asam trikloroasetat (TCA) 10%, larutan dapar fosfat 0,2 N pH 6,6, etanol p.a 96%, rumput gandum (*Triticum aestivum*), larutan kalium ferrisianida 1%, larutan FeCl_3 0,1 %, NaOH.

D. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Identifikasi tanaman dimaksudkan untuk menetapkan kebeneran sampel rumput gandum (*Triticum aestivum*) yang akan digunakan penelitian. Determinasi meliputi kesesuaian ciri – ciri morfologi yang ada pada tanaman rumput gandum terhadap pustaka dan dibuktikan di Balai Besar Penelitian Pengembangan Tanaman Obat & Obat Tradisional (B2P2TOOT).

2. Pembuatan ekstrak rumput gandum

a. Penyiapan sampel ekstrak

Pada penyiapan sampel ekstrak dibuat dengan cara, rumput gandum yang akan diekstraksi dicuci terlebih dulu dengan air bersih dan mengalir, kemudian ditiriskan. Setelah dilakukan pencucian rumput gandum ditiriskan dan dilanjutkan dengan rumput gandum dimasukkan di oven pada suhu 45°C sampai mengering dan dilakukan sortasi kering. Simplisia rumput gandum dikatakan kering dengan ditandai daun yang mudah diremas. Simplisia rumput gandum yang telah kering diserbu dengan blender sampai halus. Setelah didapatkan serbuk rumput gandum kering maka dilakukan langkah selanjutnya yaitu maserasi.

b. Ekstraksi Rumput Gandum

Ekstraksi yang dilakukan dengan cara maserasi menggunakan perbandingan 1:10. Serbuk rumput gandum kering ditimbang sebanyak 100 gram, dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Kemudian dilakukan penambahan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml. Serbuk

dimaserasi terlebih dahulu dengan etanol 7,5 bagian terlebih dahulu, kemudian ditutup dan dibiarkan selama lima hari pada suhu kamar dan dilakukan pengadukan secara periodik. Hasil perendaman setelah 5 hari disaring dan ampas yang diperoleh dilarutkan dengan sisa pelarut 2,5 bagian kemudian didiamkan selama dua hari dengan tetap dilakukan pengadukan. Setelah dua hari perlu disaring hingga diperoleh maserat. Maserat yang diperoleh dijadikan satu, ditampung pada wadah dan diuapkan (Anief. Moh, 2006). Penguapan dilakukan menggunakan evaporator dengan suhu 40°C pada kecepatan 120 rpm sampai diperoleh ekstrak yang mulai kental, kemudian dilanjutkan dengan waterbath pada suhu kurang dari 50°C sampai diperoleh ekstrak kental etanol. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pada pembuatan ekstrak etanol rumput gandum.

3. Uji fitokimia

a. Uji alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah 2 mL HCl 2N dan dikocok. Setelah dikocok sampel yang sudah ditetesi HCL dibagi dalam 3 tabung yang berbeda. Pada tabung pertama ditetesi 1 tetes reagen Mayer, pada tabung kedua ditetesi 1 tetes reagen Dragendorff, dan pada tabung reaksi ketiga ditambahkan 1 tetes reagen Wagner. Adanya senyawa alkaloid jika pada penambahan reagen Mayer terbentuk endapan kuning, pada penambahan reagen Dragendorff terbentuk endapan merah dan pada penambahan reagen Wagner terbentuk endapan coklat atau merah.

b. Uji Flavonoid

Hasil penyaringan 2 ml ekstrak ditambah pita Mg sebanyak 0,1 g dan 0,5ml HCl pekat. Uji positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan adanya warna merah.

c. Uji saponin

Sampel ekstrak 1 ml ditambah 1 tetes HCl 2 N. Jika filtrat Positif mengandung saponin maka ditandai dengan adanya buih yang konstan.

d. Uji Steroid/triterpenoid

Sampel ekstrak 1 ml ditambah 3-4 tetes LP bouchardat. Jika filtrat positif mengandung steroid/triterpenoid maka ditandai dengan warna merah/ungu.

e. Minyak atsiri

Sampel ekstrak 1 ml ditambah 2-3 tetes Sudan III. Apabila warna merah ungu maka positif mengandung minyak atsiri (Lully, 2016).

f. Fenol

Sampel ekstrak 1 ml ditambah FeCl₃ 2 tetes, apabila positif ditandai dengan adanya endapan putih (Lully, 2016).

g. Vitamin C

Sampel ekstrak diambil 5 ml, ditambah 2 tetes NaOH 10% dan 2 mL FeSO₄. Campurkan akan menghasilkan larutan kuning hingga orange jika mengandung vitamin C.

4. Pembuatan Larutan Preaksi

- a. Larutan dapar fosfat 0,2 N pH 6,6

Dilakukan penimbangan 2 gram NaOH dan dilarutkan dengan air bebas CO₂ hingga 250 ml dalam labu tentukur. Kemudian ditimbang KH₂PO₄ sebanyak 6,8 gram dan dilarutkan dengan air bebas CO₂ hingga 250 ml dalam labu tentukur. Setelah itu dipipet sebanyak 16,4 ml NaOH, dimasukkan dalam labu tentukur dan dicampurkan 50 ml KH₂PO₄, selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dan dicukupkan dengan air bebas CO₂ hingga 200 ml.

- b. Larutan kalium ferrisianida 1%

Dilakukan penimbangan 1 gram kalium ferrisianida dan dilarutkan dengan air suling, dicukupkan hingga 100 ml dalam labu tentukur.

- c. Larutan FeCl₃ 0,1%

Dilakukan penimbangan 0,1 gram FeCl₃ dan dilarutkan dengan air suling, dicukupkan hingga 100 ml dalam labu tentukur.

- d. Larutan asam trikloroasetat (TCA) 10%

Dilakukan penimbangan 10 gram TCA dan dilarutkan dengan air suling, dicukupkan hingga 100 ml dalam labu tentukur.

5. Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

- 1) Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 1 ml baku induk vitamin C dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, tambahkan 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan K₃Fe(CN)₆ 1% kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C.

Setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA sebanyak 1 ml selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 5,0 ml, ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl_3 dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Serapan diukur pada panjang gelombang 700 nm (maesaroh, ddk 2018), serapan mulai diukur dari menit ke 0 dan diulangi pada interval 1 menit hingga diperoleh serapan yang stabil.

2) Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ maks)

Sebanyak 1 ml baku induk vitamin C dimasukkan ke dalam labu ukur 5ml, ditambahkan 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA sebanyak 1 ml selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 5,0 ml, ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl_3 dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 600 – 800 nm.

3) Pembuatan larutan kontrol Antioksidan

Sebanyak 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA

sebanyak 1 ml selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml kedalam labu ukur 5,0 ml, ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl_3 dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas kemudian diamkan selama *operating time* yang telah didapatkan (15 menit). Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Dilakukan replikasi 3 kali pada pembuatan larutan kontrol

4) Pengukuran Larutan Pembanding Vitamin C

a) Pembuatan larutan induk vitamin C 1000 ppm

Larutan induk vitamin C yang digunakan dibuat dengan cara menimbang saksama kurang lebih 10 mg vitamin C dan dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu tentukur 10 ml kemudian dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas.

b) Pembuatan larutan vitamin C berbagai konsentrasi

Larutan induk vitamin C 1000 ppm dipipet masing-masing 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml dan 0,6 ml pada labu tentukur 5 ml, didapatkan konsentrasi sebesar 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan 120 ppm.

c) Pengukuran serapan larutan induk vitamin C

Larutan induk vitamin C yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi, yaitu konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan sebanyak 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% kedalam labu ukur 5,0

ml kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA sebanyak 1 ml selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 5,0 ml, ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl₃ dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal.

5) Pengukuran Larutan Sampel Ekstrak Etanol Rumput Gandum

- a) Pembuatan larutan induk sampel ekstrak etanol rumput gandum 1000 ppm

Larutan induk sampel ekstrak etanol rumput yang digunakan dibuat dengan cara menimbang saksama kurang lebih 10 mg sampel ekstrak etanol rumput gandum dan dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu tentukur 10 ml kemudian dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas.

- b) Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol rumput gandum dengan berbagai konsentrasi

Larutan induk sampel ekstrak etanol rumput 1000 ppm dipipet masing-masing 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; dan 0,6 ml pada labu tentukur 5 ml, didapatkan konsentrasi sebesar 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan 120 ppm.

- c) Pengukuran serapan larutan sampel ekstrak etanol rumput gandum

Larutan sampel ekstrak etanol rumput gandum yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi, yaitu konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm dipipet 1 ml, kemudian ditambahkan sebanyak 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan K₃Fe(CN)₆ 1% didipet kedalam labu ukur 5,0 ml. Diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C, setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA sebanyak 1 ml selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 5,0 ml, ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl₃ dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal.

F. Analisis Data

1. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

a. Perhitungan % Inhibi Radikal Bebas Larutan

1) Larutan pembanding vitamin C

Perhitungan % inhibisi radikal bebas dicari dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi radikal FRAP} = \frac{(Absorban Kontrol) - (Absrban Sampel)}{Absorban Kontrol} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban Kontrol : Absorbansi kontrol yang berisi radikal bebas yang utuh.

Absorban Sampel : Absorbansi dari kontrol yang sudah ditambah vitamin C (radikal bebas yang tidak terikat oleh vitamin C)

2) Sampel ekstrak etanol rumput gandum

Perhitungan % inhibisi radikal bebas dicari dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi radikal FRAP} = \frac{(Absorban Kontrol) - (Absorban Sampel)}{Absorban Kontrol} \times 100\%$$

Keterangan

Absorban Kontrol : Absorbansi kontrol yang berisi radikal bebas yang utuh.

Absorban Sampel : Absorbansi dari kontrol yang sudah ditambah ekstrak etanol rumput gandum atau (radikal bebas yang tidak terikat oleh sampel ekstrak etanol rumput gandum).

3) Penentuan Nilai IC₅₀

Konsentrasi sampel atau vitamin C dan persen inhibisi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear dibandingkan konsentrasi sehingga didapatkan rumus :

$$y = bx + a$$

Dimana :

y : nilai probit 50% adalah 50

x : nilai IC₅₀

a : perpotongan pada sumbu y; x = 0 (intership)

b : koefisien regresi / kemiringan (slope)

r : koefisien korelasi

Setelah mendapatkan persamaan regresi linear antara % inhibisi dan konsentrasi selanjutnya mencari nilai IC₅₀konsentasi dengan memasukkan nilai y sebesar 50.

2. Presisi

Presisi diukur dengan menentukan koefisien variasi (CV) yang dapat dihitung sebagai berikut :

$$CV = \frac{SD}{x} \times 100 \%$$

Kriteria presisi yang baik adalah ketika metode memberikan nilai koefisiensi varian atau simpangan baku relative tidak lebih dari 2 % (Harmita, 2004).

3. Metode T – Test

Data yang telah diperoleh dari perhitungan nilai IC₅₀ baku pembanding vitamin c dan sampel ekstrak etanol rumput gandum kemudian dianalisa perbandingannya dengan menggunakan metode t – test. Dimana metode t – test yang digunakan adalah metode independent t – test. Metode independent t – test ini bertujuan untuk membandingkan rata dari dua grup yang tidak berhubungan satu dengan yang lain, apakah kedua grup tersebut mempunyai rata – rata yang sama atau tidak secara signifikan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Bahwa ekstrak etanol rumput gandum memiliki aktivitas antioksidan.
2. Ekstrak etanol rumput gandum memberikan aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 111,88 ppm.
3. Aktivitas antioksidan vitamin C tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum.

B. Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput gandum dengan menggunakan metode yang lain.
2. Diharapkan dilakukan uji fitokimia pada ekstrak etanol rumput gandum pada replikasi 2 dan 3 agar benar – benar membuktikan senyawa yang ada didalam ekstrak etanol rumput gandum.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M., 2006, *Farmasetika*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Amirudin, R., 2006, *Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi IV*, FKUI, Jakarta
- Azizah., dan Barokati., 2013, Standarisasi Parameter Non spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(1): 82-90
- Bar-Sela, G., Cohen, M., Ben-Arye, E., Epelbaum, R., 2015, *Penggunaan Medis Wheatgrass Tinjauan Kesenjangan Antara Aplikasi Dasar dan Klinis, Ulasan Mini dalam Kimia Obat*, 15 (12): 1002-10
- Batticaca, F.B., 2009, *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Metabolisme*, Salemba Medika, Jakarta
- Goldberg, E., Chopra, S., 2012, *Diagnostic Approach to the Patients with Cirrhosis*, Upto date version14, 1
- Hariyatmi., 2004, Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia, *MIPA*, 14(1): 52-60
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia. Edisi ke-2*, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Harmita, R., 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungan, *Majalah Kefarmasian*, 1(3) : 117-135
- Hernani, Raharjo, M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar, Makasar
- Irmayanti., 2016, *Nilai Rendemen dan Karakteristik Organoleptik Dangke Berbahan Dasar Susu Segar dan Susu Bubuk Komersial*, Fakultas Peternakan Universitas Hasanudin, Makasar
- Juniarti, Osmeli, D., Yuherinta., 2009, Kandungan senyawa kimia, uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrusprecatorius L.*), *Makara Sains*, 13(1): 50-54
- Kim, O, S., 2005, Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Acrtivity of The Vitamin Fraction In rice bran. *J Food Sci*, 2(3): 208-213

- Kurniasih, N., 2015, *Potensi Daun Sirsak (Annona muricata Linn), Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis), Dan Daun Benalu Mang (Dendrophoe pentandra) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker*, UIN Gunung Djati dan Politeknik Kesehatan, Bandung
- Ketaren, S., 2008, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, UI Press, Jakarta
- Lully., 2016, *Farmakologi dan Fitokimia*, Depkes RI, Jakarta
- Maesaroh., Kurnia, D., dan Anshori, J., 2018, Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, Asam Galat dan kuersetin, *Chimica et Natura Acta*, 6(2): 93-100
- Nazla, M.A., 2015, Aktivitas Antioksidan Jus Rumput Gandum (Triticum aestivum) Sebagai Minuman Kesehatan Dengan Metode DPPH, *Jurnal MKMI*, hal. 197-202
- Neldawati., Ratnawulan., Gusnedi., 2013, Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat, *Pillar of Physics*, 2, 76-83
- Pramono, S., Supardjan, A., 2005, Uji Daya Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Plantago major L, *Majalah Farmasi Indonesia*, 11(4): 234-245
- Praptiwi, D, P., Harapini, M., 2006, Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Diphenyl Picric Hydrazil Hydrate Ekstrak Metanol, *Knema Indonesia*, 4(1): 102-114
- Siagian, P., Sondang., 2002, *Manajemen Sumber Daya Manusia.*, Bumi Aksara, Jakarta
- Singh, R, R., Sanjay, K., & Rajendran, N., 2012, Wheatgrass: an alternative household nutritional food security. *International Research Journal of Pharmacy*, 7(3): 87-95
- Shakya, G., Randhi, P,K., Pajaniradje, S., Mohankumar, K., Rajagopalan, R., 2016, Peran hipoglikemik dari wheatgrass dan pengaruhnya terhadap enzim metabolisme karbohidrat pada tikus diabetes tipe II, *Toxicol Ind Health*, 32 (6): 26-32
- Terry, L, A., Vicente, A., & Cools, K., 2011, Methodologies for Extraction, Isolation, Characterization and Quantification of Bioactive Compounds, Health-Promoting Properties of Fruits and Vegetables, *CAB International*, 375-6

Tjandra, O., Taty, R, R., Zulhipr., 2011, Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapiyah, *Nephelium Lappaceum*, 4(1): 73-81

Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta

Zuhra, C, F., Tarigan, J, B., dan Sihotang, H., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauvagesia androgynus* (L) Merr.), *Jurnal Biologi Sumatra*, 3(1): 7-10