

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* L.) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
NOVI WULANDARI
NIM. 2172069**

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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* L.) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
NOVI WULANDARI
NIM. 2172069**

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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* L.) DENGAN
METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE FRACTION
ETHANOL EXTRACT OF BASIL LEAVES (*Ocimum x africanum* L.)
WITH THE FRAP METHOD (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**



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

**OLEH
NOVI WULANDARI
NIM. 2172069**

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

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

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

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* L.) 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, 03 Maret 2020



Novi Wulandari

NIM. 2172069

MOTTO

“ Man Jadda, Wajada ”

Barangsiapa yang bersungguh-sungguh, maka dia akan berhasil

Jangan pernah remehkan impian,

Walau setinggi apapun.

Sungguh Allah selalu bersama kita dan maha pengasih lagi maha penyayang.

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini saya persembahkan kepada :

Bismillahirrahmanirrahim..

Yang utama dari segalanya, sembah sujud syukur kepada Allah SWT. Nikmat dan kasih sayang-Mu telah memberikan kekuatan, membekaliku Ilmu serta kesabaran.

Kedua orang tua saya, untuk bapak saya Suwarno dan ibu saya Karmiyati yang telah memberikan dukungan dan senantiasa memberikan semangat serta do'a kepada putrinya

Kakak-kakak saya Febriana Lestyani dan Mughni Effendi yang telah memberikan semangat dan semoga kita semua menjadi anak yang membanggakan kedua orang tua

Yulianto yang selalu memberikan semangat, motivasi, do'a dan yang pasti selalu meyakinkan saya untuk bisa menyelesaikan karya tulis ilmiah ini

Ibu Alip Desi Suyono S., M. Farm selaku dosen pembimbing KTI saya, terima kasih atas waktu, ilmu dan kesabarannya dalam membimbing hingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini

Semua dosen maupun asisten dosen di STIKES Nasional yang telah memberikan ilmu kepada saya

Teman-teman dalam satu bimbingan Karya Tulis Ilmiah yang saling memberikan dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini

Teman-teman Farmasi angkatan 2017 yang telah menemani berjuang menempuh D III Farmasi

PRAKATA

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini yang berjudul UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* L.) DENGAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*). Karya Tulis Ilmiah ini diajukan sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan DIII Farmasi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Hartono, S.Si., Apt selaku ketua STIKES Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Iwan Setiawan, S. Farm., M. Sc., Apt selaku ketua program Studi DIII FarmasiStikes Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Alip Desi Suyono S., M. Farm selaku pembimbing yang telah membimbing penulis untuk menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Susilowati, M.Sc., Apt selaku Ketua Penguji yang telah memberi nasihat dan saran penulis untuk menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Vivin Nopiyanti, S. Farm., M.Sc., Apt selaku penguji 1 yang telah memberi nasihat dan saran penulis untuk menyelesaikan penulisan Karya tulis Ilmiah ini.
6. Muhammad Sa'ad, A.MD selaku instruktur penelitian yang telah membimbing dan membantu dalam proses penelitian Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Wibowo, A.MD selaku laboran yang telah membantu proses praktikum Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Dosen dan asisten dosen Prodi DIII Farmasi STIKES Nasional Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.

9. Segenap karyawan perpustakaan STIKES Nasional Surakarta yang membantu mendapatkan buku-buku sebagai pedoman Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Rekan-rekan mahasiswa dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satupersatu yang telah membantu terlaksananya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.

Surakarta, Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan	3
D. Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
B. Kerangka Pikir	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
A. Desain Penelitian	14
B. Tempat Dan Waktu Penelitian	14
C. Instrumen Penelitian	14
1. Alat.....	14
2. Bahan	15
D. Alur Penelitian	16
1. Bagan	16
2. Cara Kerja	17

E. Analisis Data Penelitian	23
BAB IV HASIL PENELITIAN	24
A. Hasil	24
B. Pembahasan	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Randemen Ekstrak.....	28
Tabel 2. Randemen fraksi	29
Tabel 3. Skrining Fitokimia	32
Tabel 4. Operating Time	34
Tabel 5. Hasil Absorbansi Vitamin C	34
Tabel 6. Pengukuran Sampel	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun kemangi	4
Gambar 2. Bagan Kerangka Pikir	13
Gambar 3. Bagan Alur Penelitian	16
Gambar 4. Daun Kemangi Segar	25
Gambar 5. Simplicia Kering	26
Gambar 6. Hasil Ekstrak	29
Gambar 7. Hasil Fraksi Etil Asetat	30
Gambar 8. Uji Fenol	31
Gambar 9. Reaksi kimia Fenol	31
Gambar 10. Uji Flavonoid	31
Gambar 11. Reaksi Kimia Flavonoid	32
Gambar 12. Hasil Spectrum Panjang Gelombang	33
Gambar 13. Kurva Regresi Linier	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Sampel	41
Lmpiran 2. Preparasi Sampel	42
Lampiran 3. Fraksinasi.....	44
Lampiran 4. Uji Fitokimia.....	45
Lampiran 5. Perhitungan Randemen.....	46
Lampiran 6. Perhitungan & Penimbangan Bahan.....	47
Lampiran 7. Data Perhitungan	54

INTISARI

Kemangi adalah salah satu tanaman yang sering dikonsumsi masyarakat sebagai pelengkap makanan dan juga untuk pengobatan. Bagian dari tanaman kemangi yang digunakan adalah daunnya. Akan dilakukan penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum x africanum* L.) Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan potensi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.). Daun kemangi mengandung flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan alami. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode FRAP dan deskripsi aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai mgAAE. Fraksinasi dilakukan secara bertahap menggunakan pelarut etil asetat. Fraksi etil asetat yang diperoleh diuji kandungan senyawanya menggunakan pemeriksaan fitokimia.

Hasil pemeriksaan fitokimia dari fraksi etil acetate daun kemangi mengandung flavonoid dan fenol. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat adalah sebesar 0,00268 mgAAE/g.

Kata kunci: daun kemangi, antioksidan, fraksi etil asetat, FRAP, mgAAE/g.

ABSTRACT

Basil is one of the plants that are often consumed by the public for fresh food and also for treatment. Part of the basil plant that is commonly used as fresh vegetables and medicine is the leaves. Conducted a study with the title Antioxidant Activity Test Of Ethyl Acetate Fraction Ethanol Extract Basil Leaves (*Ocimum x africanum* L.) With FRAP Method.

This study aims to determine the potential antioxidant activity of the basil ethyl acetate fraction (*Ocimum x africanum* L.). Basil leaves contain flavonoids which can act as natural antioxidants. Testing for antioxidant activity was carried out using the FRAP method and the description of antioxidant activity was expressed as mgAAE / g. Fractionation is carried out in stages using ethyl acetate solvents. The ethyl acetate fraction obtained was tested for its compound content using phytochemical examination.

Phytochemical examination results of basil leaf ethyl acetate fraction containing flavonoids and phenols. The results of the measurement of the antioxidant activity of basil leaves ethyl acetate fraction was 0.0268 mgAAE / g.

Keywords: basil leaves, antioxidants, ethyl acetate fraction, FRAP, mgAAE /

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal, meskipun hanya memiliki berat molekul yang sangat kecil. Senyawa antioksidan juga dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat molekul yang sangat reaktif dan radikal bebas. Akibatnya kerusakan sel akan dihambat. Sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas sudah dimiliki dalam tubuh manusia, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Senyawa oksigen reaktif yang melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, dapat menyerang komponen protein, lipid, maupun DNA sehingga dapat mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif.

Antioksidan dapat berupa vitamin (misalnya vitamin E, C, A, dan β -karoten), enzim (misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). Senyawa-senyawa tersebut dapat mencegah terjadinya reaksi berantai serta berfungsi menangkap senyawa oksidan (Winarsi, *et al.*, 2003; Chen, *et al.*, 1990; Sichel, *et al.*, 1991).

Sumber antioksidan alami yang paling banyak didapat adalah dari tumbuhan karena umumnya pada bagian tumbuhan baik biji, daun, kayu, akar,

buah, bunga, maupun serbuk dari masing-masing mempunyai senyawa fenolik yang tersebar

dibagian tumbuhan tersebut (sunarni, pramono dkk., 2007, pp. 112; putra dkk, 2010, pp. 49).

Ocimum x africanum atau yang biasa dikenal dengan kemangi yang biasa dikonsumsi masyarakat sebagai bahan pelengkap lalapan diberbagai warung makan. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun *Ocimum x africanum* berupa flavonoid, fenolik, terpenoid, tanin, lignin, saponin, karbohidrat dan minyak atsiri. Kandungan flavonoid dalam kemangi yaitu apigenin yang merupakan golongan dari flavon yang berfungsi sebagai anti radikal bebas (Dhale *et al.*, 2010).

Aktivitas antioksidan pada daun kemangi menurut penelitian Hasanbaglou *et al.*, (2012) dideteksi menggunakan metode yang berbeda-beda untuk mengetahui karakteristik yang berbeda dalam pengukuran aktivitas antioksidan tersebut, hal ini dikarenakan pada metode pengukuran aktivitas yang berbeda akan mempengaruhi pada pengamatan mekanisme kerja antioksidan yang berbeda pula.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum Basilicum*) dengan metode DPPH telah diteliti oleh Linda Erviana didapatkan hasil daun kemangi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 52,68 µg/mL. dan pada metode fosfomolibdat, daun kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) telah diteliti oleh Warsi, Gita Puspitasari didapatkan hasil antioksidan 94,210 mgQE/.

Pengujian tentang aktivitas antioksidan dengan mekanisme lain perlu dilakukan, diantaranya adalah daya reduksi terhadap FRAP, untuk pengukuran daya antioksidan total. Metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan, hal ini dikemukakan oleh Benzie

& Strain (1996). Kelebihan dari metode FRAP adalah cukup sederhana, reagensinya mudah disiapkan dan metodenya juga murah (Halvorsen *et al.*, 2002).

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan Uji Aktivitas Antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) dengan menggunakan metode FRAP, dimana metode ini dipilih karena merupakan metode yang cukup sederhana dan cepat.

B. Rumusan Masalah

Berapakah aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kemangi dengan metode FRAP

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kemangi dengan metode FRAP yang dinyatakan dengan $mgAAE/g$.

D. Manfaat Penelitian

Untuk memberikan informasi secara ilmiah kepada masyarakat mengenai aktivitas antioksidan yang terkandung pada daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) dengan adanya penelitian ini agar masyarakat tahu bahwa daun kemangi ini dapat digunakan sebagai antioksidan alami.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara non eksperimental dengan menggunakan metode FRAP untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) di Laboratorium Teknologi Bahan Alam & Sintesis Obat.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboatorium Teknologi Farmasi Bahan Alam & Sintesis Obat Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Waktu penelitian ini dilakukan dari bulan November 2019 hingga bulan Januari 2020.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometri UV-Vis, sepasang kuvet, neraca analitik, corong pisah, rotary evaporator, nampan, toples

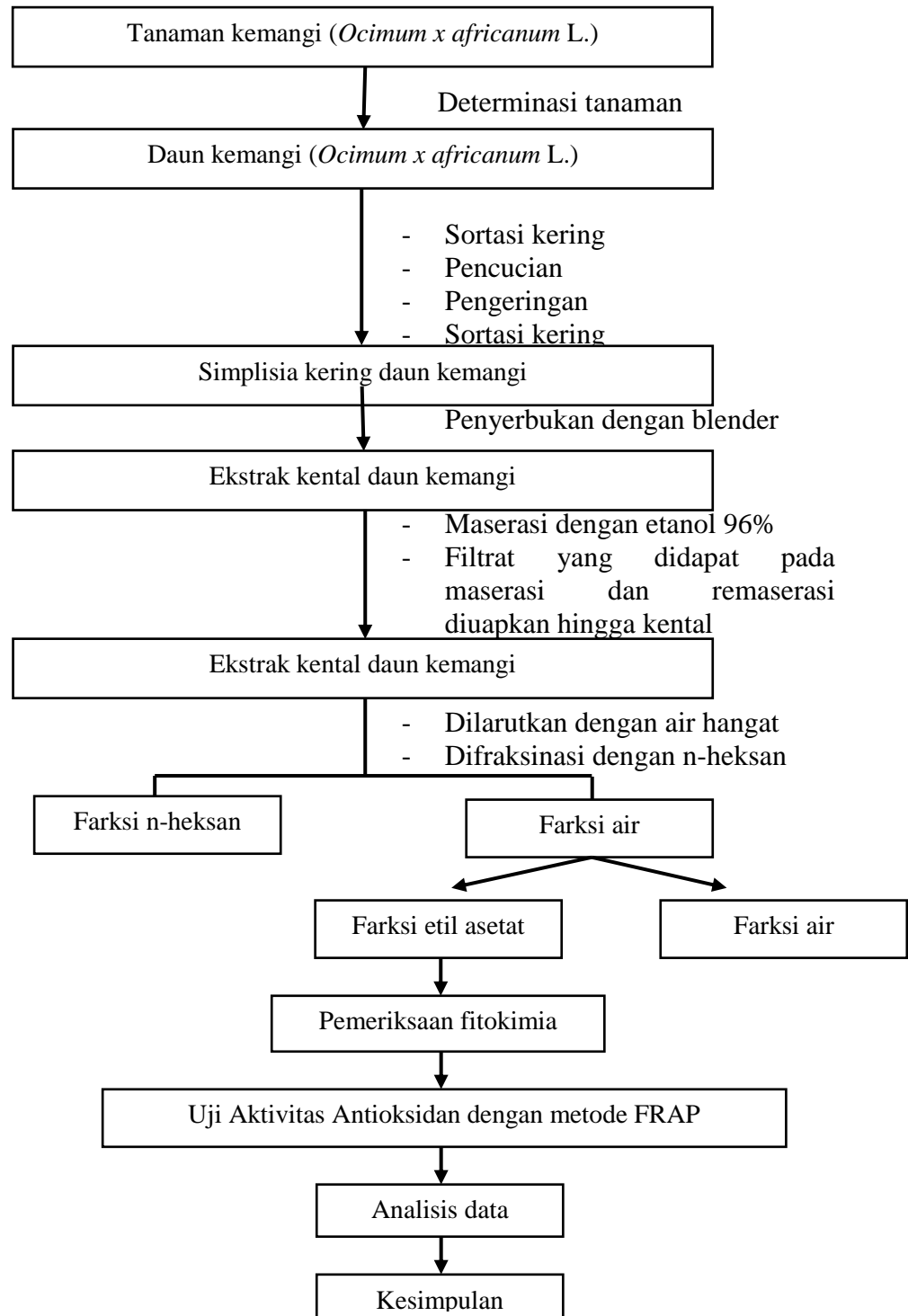
kaca/ wadah maserasi, batang pengaduk, wadah penampung filtrat, waterbath elektrik, penjepit tabung, rak tabung reaksi, corong kaca, baskom, blender, labu ukur, cawan porselin, gelas arloji, kertas saring, PH meter, mikropipet, pipet tetes, pipet volum, sentrifuge, tabung sentrifuge, dan sendok takar.

2. Bahan

Daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.), aquades, asam askorbat, asam trikloroasetat 10%, FeCl_3 0,1 %, dapar fosfat (0,2 M pH6,6), etanol 96%, kalium ferrisianida 1%, n-heksan, dan etil asetat.

D. Alur Penelitian

1. Bagan



Gambar 3. Alur Penelitian

2. Cara Kerja

a. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) yang akan digunakan penelitian. Determinasi meliputi kesesuaian ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman kemangi terhadap pustaka dan dibuktikan di Balai Besar Penelitian & Pengembangan Tanaman Obat & Obat Tradisional (B2P2TOOT).

b. Persiapan sampel

1) Pembuatan simplisia

Daun kemangi segar ± 6 kg dipetik dari daerah Sobokerto Ngemplak Boyolali, disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing lainnya pada daun. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain yang masih menempel pada daun. Selanjutnya proses pengeringan dengan cara dikering anginkan dan dilakukan sortasi kering. Simplisia yang benar-benar sudah kering dilakukan penyerbukan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk simplisia dan diayak menggunakan ayakan no. 40 mesh untuk mendapatkan serbuk halus.

2) Ekstrak daun kemangi

Simplisia daun kemangi dalam bentuk serbuk ditimbang sebanyak 250 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan etanol 96% sebanyak 2 liter hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil diaduk secara periodik. Setelah 3 hari kemudian disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyarian yang didapat kemudian dikumpulkan jadi satu dan dipekatkan di rotary evaporator pada suhu 50°C, kemudian dilanjutkan dengan waterbath pada suhu yang sama sampai diperoleh ekstrak kental etanol daun kemangi (Dirjen POM, 1987).

3) Fraksinasi ekstrak etanol daun kemangi

Ekstrak etanol daun yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metode cair-cair. Ekstrak etanol kental sebanyak 10 g dilarutkan dalam air hangat 50 ml, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan difraksinasi dengan n-heksan 50 ml, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil yang diperoleh yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi air difraksinasi lebih lanjut dengan etil asetat 25 ml dan dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi etil asetat dipekatkan di atas waterbath sampai kental dengan suhu 50°C.

c. Pemeriksaan fitokimia

1) Flavonoid

Sebanyak 0,1 g fraksi dilarutkan dengan aquades 10 ml dan dipanaskan sampai mendidih kemudian disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Sampel ditambahkan 1 ml HCl pekat kemudian dikocok kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

2) Fenol

Sebanyak 0,1 g fraksi dilarutkan dengan etanol 20 ml. sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau kebiruan (Harborne, 1987 dalam Nugrahani, 2015).

d. Penyiapan Larutan FRAP

1) Larutan Dapar Fosfat 0,2 M pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang 2 g NaOH dan dilarutkan dengan aquades bebas CO_2 hingga tepat 250 ml dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 g KH_2PO_4 dan dilarutkan dengan aquades bebas CO_2 250 ml dalam labu takar dan dicampurkan 50 ml KH_2PO_4 , selanjutnya diukur sampai

pH 6,6 dan dicukupkan dengan aquades bebas CO₂ hingga 200 ml.

2) Larutan Kalium Ferrisianida 1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 1 g kalium ferrisianida dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 ml.

3) Larutan FeCl₃ 0,1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 0,1 g FeCl₃ 0,1% dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 ml.

4) Larutan asam trikloroasetat (TCA) 10%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 10 g TCA dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 ml.

e. Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP (Vijayalakshmi, 2016)

1) Penentuan panjang gelombang maksimal asam askorbat

Larutan asam askorbat pada konsentrasi 30 ppm dipipet sebanyak 1 ml kalium ferrisianida dimasukkan kedalam tabung reaksi dan di inkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. setelah di inkubasi larutan ditambahkan 1 ml TCA, larutan disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil 1 ml lapisan atas kemudian ditambahkan 1 ml aquades dan 0,4 ml FeCl₃, cukupkan etanol p.a hingga tanda batas. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur

panjang gelombang dari 400-800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

2) Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara, larutan asam askorbat pada konsentrasi 20 ppm dipipet sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml kalium ferrisianida dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian dicukupkan dengan etnaol p.a hingga tanda batas.

3) Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml kalium ferrisianida dipipet kedalam labu ukur 5 ml, kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Setelah diinkubasi tambahkan 1 ml TCA , lalu disentrifuge selama 10 menit, kemudian bagian atas larutan dipipet 1 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml, lalu ditambahkan 1 ml aquades dan 0,4 FeCl₃, cukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas kemudian diamkan selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimal.

4) Pembuatan larutan Vitamin C berbagai konsentrasi dengan metode FRAP

Menimbang seksama 10 mg Vitamin C dan dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

Larutan induk asam askorbat dipipet masing-masing 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, dan 0,5 ml pada labu ukur 10 ml hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm kemudian dari masing-masing konsentrasi dipipet 1 ml ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan 1 ml dapar fosfat pH 6,6 dan 1 ml larutan $K_3Fe(CN)_6$ 1% dipipet ke dalam labu ukur 5 ml kemudian 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 kemudian didiamkan selama 30 menit kemudian ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml $FeCl_3$ dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal.

5) Pengukuran serapan sampel

Sebanyak 5 mg fraksi dilarutkan dalam 5 ml etanol 96%, lalu dipipet 1 ml, ditambahkan 1 ml dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1% setelah itu, diinkubasi selama 20 menit dengan suhu $50^\circ C$. setelah diinkubasi ditambahkan 1 ml TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 1 ml lapisan atas ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml $FeCl_3$ 0,1%. Larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada 720 nm. Sebagai blanko digunakan

campuran larutan dapar fosfat dan kalium ferrisianida yang ditambahkan larutan TCA. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/gr fraksi.

E. Analisis Data Penelitian

Aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak etanol dinyatakan dalam mg *asam askorbat ekuivalen/gram*(mgAAE/g). parameter tersebut diperoleh dari persamaan regresi linier hubungan antara absorbansi (y) versus konsentrasi *asam askorbat* (x).

$$y = bx + a$$

Keterangan :

a dan b diperoleh dari kurva baku

y = absorbansi sampel

x = kadar

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat untuk menghitung aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mgAAE. Dari rumus regresi linier kemudian digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan dalam

asam askorbat ekivalen dengan menggunakan nilai absorbansi sampel sehingga diperoleh sebagai konsentrasi AAE.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) menggunakan metode FRAP dengan larutan pembanding asam askorbat diperoleh aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.) sebesar 0,00268 mgAAE/g fraksi.

B. Saran

Perlu dilakukan lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan dengan fraksi-fraksi lain yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air pada daun kemangi (*Ocimum x africanum* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul ROHMAN. (2007). *Kimia Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Benzie, IFF., and Strain, J.J, 1996, The Ferric Reducing Ability of Plasma as a Measure of “Antioxidant Power” : The FRAP assay, *Analytical Biochemicritical* 239: 70-76
- Fessenden, R. J. & Fessenden, J. S. (1996). *Kimia Organik*. Diterjemahkan oleh A. H. Pudjaaymaka. Institut Teknologi Bandung: Bandung
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Depkes RI
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta (ID). Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dhale, D. A., Birari, A. R., 2010. Preliminary Screening of Antimicrobial And Phytochemical Studies of *Jatropha gossypifolia* Linn. *Rec Res Sci Tech*. Vol. 2 No. 7, p. 24-28
- Ditjen POM. (1978). *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal:42-46
- Halvorsen, B.L., Holte, Myhrstad, C.W., Mari, I., Barikmo, E., Hvattum, R. S., Fagertun, W., Anne-Brit, H., Karin, B., Halvard, A.L., Frost, M., Jan, J.D. and Rune, B. 2002. *A Systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plants*. *Journal of Nutrition* 132(3): 461-
- Harborne., JB. 2006. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB. Hal.47, 69
- Hassanbaglou, B., Hamid, A. A., Roheeyati, A. M., Saleh, N. M., Abdulamir, A. S., Khatib, A., Sabu, M. C, 2012, Antioxidant Activity Of Different Extract Form Leaves Of *Pereskia bleo* (Cactaceae), *Journal of Medicinal Plants Research* volume 6 (15): 2932-2937
- Prior, R.L., 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, 4290-4320

Sunarni, T., Pramono, S.& Asmah, R., 2007, Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelecharpus burahol*) (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111-116

Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius

Vijayalakshmi, M., and Ruckmani, K. 2016. Ferric Reducing Antioxidant Power assay in Plant Extract. *ISI Impact Factor*. (11). Pp.570-572