

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI DAUN PEGAGAN
(*Centella asiatica (L) urban*) DENGAN METODE FRAP**



KARYA TULIS ILMIAH

OLEH

ARISTIKA LINDA PUSPITA

NIM.2182036

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2021

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI DAUN PEGAGAN
(*Centella asiatica (L) urban*) DENGAN METODE FRAP**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY FRACTION OF HANDLED
LEAVES (*Centella asiatica (L) urban*) USING FRAP METHOD**



KARYA TULIS ILMIAH

**DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

OLEH

ARISTIKA LINDA PUSPITA

NIM. 2182036

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2021

KARYA TULIS ILMIAH

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI DAUN PEGAGAN (*Centella Asiatica (L) urban*) DENGAN METODE FRAP

Disusun oleh :
Aristika Linda Puspita
NIM. 2182036

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 3 Maret 2021

Tim Penguji:

Alip Desi Suyono S.,M.Farm

(Ketua)

apt. Disa Andriani, M.Sc

(Anggota)

apt. Susilowati, M.Sc

(Anggota)

Menyetujui,
Pembimbing Utama

apt. Susilowati, M.Sc

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Farmasi

apt. Dwi Saryanti, M.Sc



PERNYATAAN KEASLIAN KTI

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

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban) DENGAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

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

Surakarta, 3 Maret 2021


Aristika Linda Puspita

MOTTO

“All our dreams can come true if we have the courage to pursue them”

“Semua impian kita bisa menjadi kenyataan jika kita memiliki keberanian untuk
mengejarinya”.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur Alhamdulillah, penulis persembahkan dengan tulus

Karya Tulis Ilmiah ini kepada :

- ❖ Bp.Suwatno dan Ibu Titik Sundari Selaku kedua Orang Tua yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, perhatian serta kasih sayang yang tak ternilai harganya.
- ❖ Bp.Suparno S.pd dan Ibu Sulastri Selaku kakek dan Nenek yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, perhatian serta kasih sayang .
- ❖ Teman-teman seperjuangan sesama KTI bidang minat Obat Tradisional
- ❖ Teman-teman Alla Receh yang selalu membantu dalam penyelesaian KTI
- ❖ Teman-teman DIII Farmasi Angkatan 2018 STIKES Nasional Surakarta khususnya Reguler B

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul “**Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Pegagan dengan Metode FRAP**” Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program studi DIII Farmasi di STIKES Nasional Surakarta.

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini tentu tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Apt. Hartono, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
2. Apt. Dwi Saryati, M. Sc. selaku Ketua Kaprodi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
3. C.E Dhurhania, S. Farm.,M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
4. Apt. Susilowati, M. Sc. selaku Dosen Pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
5. Alip Desi Suyono S., M. Farm selaku Ketua penguji Karya tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
6. Apt. Disa Andriani, M. Sc selaku penguji Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.

7. Ratih Guswinda Lestari, S.Farm selaku Instruktur Penelitian yang telah memberikan banyak pelajaran berharga kepada penulis.
8. Seluruh staf pengajar dan karyawan STIKES Nasional Surakarta yang telah memberikan banyak pelajaran berharga kepada penulis.
9. Teman-teman DIII Farmasi angkatan 2018, atas persaudaraan dan kebersamaan telah membantu penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah.

Harapan penulis bahwa Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk menambah wawasan dan pengetahuan.

Surakarta, 24 Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KTI.....	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 Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Landasan teori	4
B. Kerangka Pikir	26
C. Hipotesis.....	26
BAB III METODE PENELITIAN	27
A. Desain Penelitian.....	27
B. Tempat dan Waktu penelitian	27
C. Instrumen Penelitian.....	27
a. Alat	27
b. Bahan.....	28
D. Populasi dan sampel	28
E. Besar Sampel.....	28
F. Identifikasi Variabel	29
G. Definisi operasional variabel penelitian	29
H. Alur penelitian.....	30
a. Bagan.....	30
b. Cara Kerja.....	31
I. Analisis Data Penelitian	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Pengumpulan Bahan.....	38
B. Preparasi Sampel	39
1. Ekstraksi	39
2. Fraksinasi	41
3. Uji Aktivitas Antioksidan.....	44

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan kimia Herba Pegagan	10
Tabel 2. Penentuan Operating Time	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Pegagan	4
Gambar 2. Bagian Spektrofotometri	24
Gambar 3. Kerangka Pikir	26
Gambar 4. Alur Penelitian	30
Gambar 5. Ekstrak Kental Daun Pegagan	41
Gambar 6. Fraksi N Heksana	43
Gambar 7. Fraksi Etil Asetat	43
Gambar 8. Fraksi Fase Air	43
Gambar 9. Kurva Panjang Gelombang Vs ABS Vit C.....	45
Gambar 10. Kurva Baku Vitamin C	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	54
Lampiran 2	54
Lampiran 3	59
Lampiran 4	60
Lampiran 5	60

INTISARI

Pegagan merupakan salah satu Tanaman yang memiliki kandungan vitamin C, vitamin C merupakan salah satu zat antioksidan yang sangat kuat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui Potensi antioksidan tertinggi dalam tiga fraksi dari ekstrak pegagan. Uji kualitatif menggunakan pereaksi Dapar fosfat dan Ferrisianida memberikan warna kuning, serta pereaksi FeCl memberikan warna biru sampai biru berlin.

Uji kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 676,0 nm dan operating time menit ke-27. Hasil dari uji kuantitatif, kapasitas antioksidan dari masing – masing fraksi yaitu Etil asetat , Fase air dan N Heksana. Didapatkan rata – rata kapasitas antioksidan Etil Asetat 0,09349, Fase air 0,08742, Nheksana 0,0621.

Pada uji anova, menunjukkan hasil $p = 0,714$ yang artinya lebih besar dari 0,05 bahwa kadar vitamin C tidak ada perbedaan yang signifikan atau tidak ada perbedaan yang bermakna.

Kata kunci : Herba pegagan, vitamin C, fraksi, spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Gotu kola is a plant that contains vitamin C, vitamin C is a very powerful antioxidant. The purpose of this study was to determine the highest antioxidant potential in three fractions of gotu kola extract. Qualitative test using phosphate and ferricyanide buffer reagent gave yellow color, and FeCl reagent gave blue to blue berlin.

The quantitative test was performed using UV-Vis spectrophotometry with a wavelength of 676.0 nm and operating time 27 minutes. The results of the quantitative test showed that the antioxidant capacity of each fraction were ethyl acetate, water phase and N hexane. The average antioxidant capacity of ethyl acetate was 0.09349, water phase 0.08742, Nhexane 0.0621.

In the ANOVA test, the results showed $p = 0.714$ which means that it is greater than 0.05 that there is no significant difference or no significant difference in vitamin C levels.

Key words: gotu kola herb, vitamin C, fraction, UV-Vis spectrophotometry

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

COVID-19 merupakan virus yang menyerang saluran pernafasan dan menyebabkan penyakit demam tinggi, batuk, flu, sesak nafas serta nyeri tenggorokan, dan sampai sekarang belum ditemukannya obat yang pasti untuk pengobatan COVID-19. Sehingga diperlukan upaya pencegahan dari setiap individu untuk menanggulangi penyebarannya. Beberapa peneliti telah banyak melakukan penelitian untuk menyelesaikan permasalahan ini seperti pembuatan vaksin yang berfungsi untuk menjaga imunitas atau daya tahan tubuh (Shang dkk.,2020)

Penanggulangan penyebaran COVID-19 juga harus dengan menjaga daya tahan tubuh dengan mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung vitamin C atau antioksidan tinggi, seperti halnya tanaman tradisional yang dapat diolah sebagai makanan atau minuman sehingga memudahkan masyarakat dalam mengonsumsinya. Keterkaitan antioksidan dan COVID-19 adalah dikarenakan COVID-19 sebuah virus yang menyerang pada sistem imun atau kekebalan tubuh manusia yang dapat menyebabkan sakit flu, demam, sesak nafas dan penyakit lain maka diperlukannya salah satu cara untuk membantu dengan mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung antioksidan. Keberadaan antioksidan didalam tubuh berkaitan dengan kerja fungsi sistem imunitas tubuh, terutama untuk menjaga integritas dan berfungsinya membran

lipid, protein sel, asam nukleat serta mengontrol transaksi signal dan ekskresi gen dalam sel imun (Winarsi,2011).

Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan adalah pegagan (*Centella asiatica L urban*). Herba pegagan banyak mengandung komponen yang memiliki sifat sebagai antioksidan tinggi. Penelitian terhadap kandungan senyawa aktif terbesar terletak pada zat triterpen saponinnya (Winarto dan Subakti,2003).

Berdasarkan penelitian sebelumnya pegagan dibuat dengan sediaan ekstrak kental untuk diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan pelarut etanol 70% yang memiliki kelebihan lebih efektif untuk semua jenis pelarut dan tidak mudah ditumbuhi kapang dan mikroorganisme (Depkes RI,2016). Untuk mengetahui mengembangkan dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan maka dilakukan fraksinasi dari beberapa pelarut pada daun pegagan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Harbone,19870)

Berdasarkan penelitian sebelumnya daun pegagan telah di uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH yang dimana kandungan antioksidan dalam daun pegagan masih rendah, untuk mengembangkan penelitian sebelumnya maka dilakukan pengujian antioksidan dengan metode FRAP yang merupakan salah satu metode yang baik untuk mengidentifikasikan kandungan antioksidan dalam bahan alam yang memiliki kelebihan lebih cepat, murah, dan tidak menggunakan alat yang khusus untuk menghitung total antioksidan (Salewa , 2013).

B. Rumusan Masalah

1. Berapa potensi aktivitas antioksidan dari masing-masing Fraksi(N-heksana, Etil asetat, Air) dari Ekstrak Etanol herba Pegagan ?
2. Fraksi apa yang memiliki nilai potensi antioksidan tertinggi ?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan pada masing-masing Fraksi (N-heksana, Etil asetat, Air) dari Ekstrak Etanol herba Pegagan.
2. Untuk mengetahui potensi antioksidan tertinggi dari ketiga Fraksi.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat memberikan Informasi kepada masyarakat tentang penelitian daun pegagan sebagai sumber antioksidan yang mampu menanggulangi penyebaran Virus Covid 19.

2. Manfaat metodologis

Penelitian ini dapat memberikan Informasi mengenai penggunaan Metode FRAP sebagai salah satu Uji Aktivitas Antioksidan yang terdapat pada bahan alam.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu jenis penelitian Eksperimental karena adanya perbandingan antara ketiga fraksi yaitu n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun pegagan yang digunakan untuk menentukan perbandingan antara ketiga fraksi yang memiliki potensi antioksidan lebih tinggi.

B. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional, Laboratorium Kimia Analisis Kualitatif dan Laboratorium Bakteriologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan Januari-Februari 2021.

C. Instrumen Penelitian

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah, Spektrofotometri UV Vis, Rotary evaporator, labu alas bundar 500ml, labu ukur 100ml, labu ukur 10ml, pipet tetes, pipet volume 1ml, pipet volume 10ml, kertas saring, corong, kaca arloji, cawan porselin, pisau, timbangan, batang pengaduk, Blender, Mikropipet, Oven, Timbangan analitik, tabung sentrifuges, tabung reaksi.

b. Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah FRAP, etanol 70%, metanol, etil asetat, N-heksana, Aquadest, Asam askorbat, Asam trikloroasetat 10%, FeCl₃ 0,1%, Dapar fosfat (0,2 MpH 6,6), Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*), Kalium ferrisianida 1 %.

D. Populasi Dan Sampel

a. Populasi

Populasi adalah jumlah keseluruhan dari analisis yang ciri-cirinya akan diduga. Populasi dalam penelitian ini adalah daun pegagan yang tumbuh liar di Desa Kemuning, Kabupaten Karanganyar, Provinsi Jawa tengah.

b. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diharapkan mampu mewakili populasi. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah Daun Pegagan yang diambil dari Desa Kemuning, Kabupaten Karanganyar, Provinsi Jawa tengah.

E. Besar Sampel

Besar sampel harus mampu memberikan gambaran seberapa besar sampel dapat bersifat representative terhadap populasinya. Tidak terikat sampel yang ada dalam satu populasi dapat dijangkau, karena keterbatasan waktu, tenaga, ruang lingkup dan biaya. Maka perlu ditentukan besaran dari sampel yang akan digunakan. Berat Daun Pegagan di ambil sebanyak 300g.

F. Identifikasi Variabel Penelitian

a) Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi daun pegagan (*Centella asiatica L urban*) dari daerah dengan zona iklim dingin.

b) Variabel Terikat

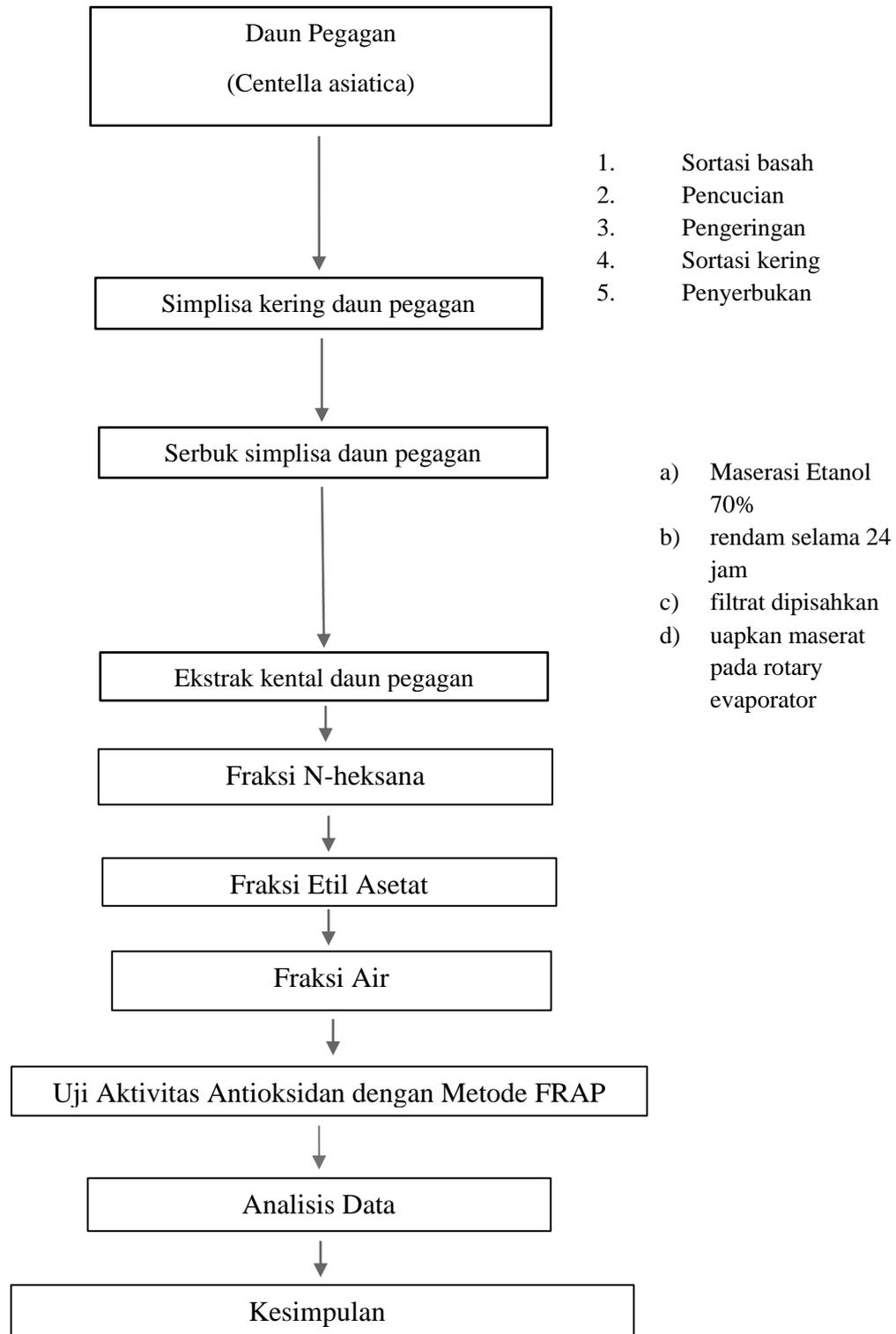
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang merupakan senyawa kimia yang dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi sehingga sering digunakan untuk penghambat radikal bebas.

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Tanaman yang digunakan adalah Daun Pegagan (*Centella asiatica*) adalah daun yang segar diambil dari Kebun teh kemuning ngargoyoso Tawangmangu Karanganyar.
2. Daun Pegagan yang akan digunakan dicuci bersih, daun yang akan digunakan dipotong — potong lalu dikeringkan.
3. Fraksi yang digunakan adalah Etil asetat , Fraksi Air dan Fraksi N Heksana.

H. ALUR PENELITIAN

1. Bagan



Gambar 4. Alur Penelitian

2. Cara kerja

a) Penyiapan Sampel

Daun pegagan dibersihkan dari kotoran, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan ditimbang sebagai berat basah. Daun Pegagan tersebut dikeringkan dengan cara dianginkan, lalu ditimbang sebagai berat kering. Sampel yang telah kering dihaluskan dan disimpan dalam wadah plastik untuk mencegah pengaruh lembab dan pengotor lainnya (Kemenkes RI, 2010).

b) Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan pada simplisia sebanyak 300 g dimasukan kedalam wadah toples lalu ditambahkan 3L etanol 70% hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil diaduk berulang". Setelah 3 hari simplisia disaring ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyarian yang di dapat kemudian dikumpulkan dan di uapkan hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental. Hasil ekstrak dihitung nilai randemennya.

$$\text{Randemen} = \text{Berat ekstrak} : \text{Berat basah} \times 100 \%$$

c) Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Sebanyak 10 g ekstrak etanol dilarutkan dengan air hangat Larutan ekstrak dimasukkan dalam corong pisah lalu Pemisahan yang pertama kali dilakukan dengan pelarut n-heksana sebanyak 50 mL, kemudian digojok

dan ditampung dalam Erlenmeyer 250 mL. Penambahan n-heksana dilakukan sampai 4 kali sampai warna menjadi bening. Fraksinasi yang kedua menggunakan pelarut etil asetat. Sisa larutan ekstrak etanol yang sudah selesai digojog dengan pelarut n-heksana kemudian ditambahkan 50 mL etil asetat, dan diulangi sampai 4 kali. Etanol dan etil asetat saat dicampurkan tidak menunjukkan adanya pemisahan, agar pemisahan terlihat jelas, ditambahkan 50 mL akuades lalu digojog dan ditampung dalam Erlenmeyer yang berbeda. Selanjutnya dilakukan pengentalan fraksi dengan Evaporasi yang dilakukan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60-80°C. Fraksi n-heksana mampu mengental dengan sempurna tanpa perlu diuapkan di atas waterbath, sedangkan fraksi etil asetat dan etanol-air perlu mendapatkan perlakuan di atas waterbath selama 1-3 jam untuk mendapatkan fraksi yang lebih kental dan dapat dilakukan uji aktivitas antioksidan.

d) Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP (Vijayalakshmidan Ruckhmani 2016)

1) Pembuatan reagen penelitian

a. Larutan Dapar fosfat 0,2 M pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang 2gr NaOH dan dilarutkan dengan Aquadest bebas CO₂ hingga tepat 250ml dalam labu takar, Kemudian Sebanyak 6,8 gram KH₂PO₄(Monopotasium fosfat) yang dilarutkan dengan Aquadest bebas CO₂ 250ml dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4ml NaOH dimasukan dalam labu takar

dan dicampurkan 50ml KH_2PO_4 selanjutnya di ukur dengan Aquadest bebas CO_2 hingga 200ml.

b. Larutan Kalium Ferrisianida

Larutan disiapkan dengan melarutkan 1gr kalium ferrisianida dalam air bebas CO_2 dan diencerkan dalam labu takar 100ml.

c. Larutan FeCl 0,1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 0,1gr FeCl dalam Aquadest dan di encerkan dalam labu takar 100ml.

d. Larutan Asam trikloroasetat 10%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 10gr TCA dalam Aquadest dan diencerkan dalam labu takar 100ml.

2. Uji aktivitas antioksidan

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan Asam askorbat pada konsentrasi 80ppm dipipet sebanyak 1 ml, lalu ditambahkan 1 ml larutan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml larutan Ferrisianida dimasukkan dalam tabung reaksi dan di Inkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C . Setelah di Inkubasi larutan ditambahkan 1 ml TCA, larutan disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm Kemudian bagian atas larutan di pipet 1 ml kemudian masukkan kedalam labu ukur 10ml lalu tambahkan 1 ml Aquadest dan 0,5 ml FeCl 0,1% cukupkan dengan Etanol Pa sampai tanda batas. serapan di ukur dengan Spektrofotometri UV Vis dari panjang gelombang 500-800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

b) Penetapan Operating Time Asam askorbat

Penentuan operating time dilakukan dengan cara, larutan Asam askorbat pada konsentrasi 80ppm dipipet sebanyak 1ml lalu ditambahkan 1 ml larutan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml larutan Ferrisianida kedalam labu ukur 10ml tambahkan Etanol Pa sampai tanda batas, kemudian serapan di ukur pada menit ke 0 sampai ke 60 menit pada panjang gelombang 676,6nm.

c) Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 1 ml dapar fosfat Ph 6,6 dan 1ml kalium ferrisianida dipipet kedalam labu ukur 5ml. Inkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah di Inkubasi larutan ditambahkan 1ml TCA, Kemudian disentrifuge selama 10 menit setelah itu bagian atas larutan dipipet 1 ml kemudian masukan kedalam labu ukur 5ml lalu tambahkan 1 ml aquadest dan 0,5 ml FeCl 0,1% tambahkan etanol Pa sampai tanda batas kemudian diamkan selama 30 menit . Serapan diukur dengan panjang gelombang maksimal.

d) Pengukuran larutan Vitamin C berbagai konsentrasi dengan metode FRAP

Menimbang seksama 10mg Vit C dilarutkan dengan etanol p.a. Dalam labu ukur 10ml kemudian ditambahkan etanol pa sampai tanda batas. Larutan induk asam askorbat dipipet masing-masing 0,6ml; 0,7ml; 0,8ml; 0,9ml; 1,0ml pada labu ukur 10ml hingga diperoleh konsentrasi 60ppm, 70ppm, 80ppm, 90ppm, 100ppm kemudian dari masing-masing konsentrasi dipipet 1ml dan ditambahkan 1ml larutan dapar fosfat PH (6,6) dan 1ml larutan $K_2Fe(CN)_6$ 1% dipipet kedalam tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu $50^{\circ}C$. Setelah diinkubasi larutan ditambahkan TCA sebanyak menit, setelah proses sentrifuge selesai lapisan atas dipipet sebanyak 1ml kedalam labu ukur 5ml, kemudian didiamkan lagi selama 30 menit ditambahkan 1ml aquadest dan 0,5ml $FeCl_3$ dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian diukur serapanya pada panjang gelombang maksimal.

e) Pengukuran serapan sampel dengan metode FRAP

Sebanyak 10 mg Masing – masing Fraksi (N heksana , Etil asetat , Air) dilarutkan dalam 10 ml etanol kemudian dipipet 1ml setelah itu ditambahkan 1 ml dapar fosfat 0,2M (pH 6,6) dan 1ml larutan Ferrisianida, kemudian di Inkubasi selama 20 menit dengan suhu $50^{\circ}C$. Setelah di Inkubasi tambahkan 1 ml larutan TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000rpm selama 10menit. Setelah disentrifuge Kemudian bagian atas larutan di pipet 1 ml kemudian masukkan

kedalam labu ukur 5ml lalu tambahkan 1 ml Aquadest dan 0,5 ml FeCl 0,1% larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 676,6nm. Sebagai blanko digunakan campuran larutan dapat fosfat dan larutan kalium ferrisianida yang ditambahkan larutan TCA. Kurva kalibrasi digunakan dengan menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Nilai FRAP dinyatakan dengan mg equivalen asam askorbat/gr fraksi.

I. ANALISIS DATA PENELITIAN

a) Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan total dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi larutan pembanding asam askorbat dari pembacaan alat spektrofotometri UV-Vis. Nilai absorbansi dari kalium ferrisianida dimasukkan dalam persamaan regresi linier sebagai y , sedangkan x adalah konsentrasi dari asam askorbat . Persamaan regresi linier dinyatakan dengan :

$$Y = Bx + A$$

Keterangan :

Y : Nilai absorbansi

A : Konstanta

B : Koefisien Regresi

X : Konsentrasi

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai konsentrasi (y) larutan pembanding asam askorbat untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan

dimasukan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/gram sampel (mgAAE/g sampel). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat dalam suatu bahan.

b) % KV

Analisis penetapan kadar total pada Fraksi kental Daun Pegagan dilakukan dengan parameter presisi. Presisi dinyatakan dengan perhitungan koefisien variasi (%KV) sebagai berikut :

$$\% \text{ KV} = \text{SD/Kadar rata-rata} \times 100\%$$

c) Uji One Way Anova

- Data yang terkumpul selanjutnya dilakukan analisis menggunakan program SPSS. Untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara ketiga sampel Fraksi (N heksana , Etil asetat , Air) Uji one way Anova.
- H₀ diterima apabila Sig. < 0,05 bermakna terdapat perbedaan yang signifikan terhadap aktifitas antioksidan antara masing-masing Fraksi (N heksana , Etil asetat , Air).
- H₀ ditolak apabila Sig. > 0,05 bermakna terdapat perbedaan yang tidak signifikan terhadap aktifitas antioksidan antara masing-masing Fraksi (N heksana , Etil asetat , Air).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Dari masing – masing Fraksi didapatkan kapasitas antioksidan untuk Etil asetat sebesar 0,09349mgAAE/g, kapasitas antioksidan untuk Fase air sebesar 0,08742mgAAE/g dan kapasitas antioksidan N – Heksana sebesar 0,0621mgAAE/g.
2. Fraksi yang memiliki potensi antioksidan tertinggi dari ketiga fraksi tersebut adalah Etil asetat dengan kapasitas antioksidan sebesar 0,09349mgAAE/g dari pengujian aktivitas antioksidan fraksi N-heksana dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) mempunyai aktivitas antioksidan yaitu 0,0551mgAAE/g diikuti dengan fase air sebanyak 0,8621mgAAE/g dan fraksi etil asetat paling besar yaitu 0,0921mgAAE/g (Chen dkk., 2013).

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang daun pegagan dengan perbandingan variasi waktu lama perebusan sampel dengan metode ABTS.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar,Fraksi.,Latif,Sragen., Ashraf,M.,Gilang, A.H.,2007, Moringa oleic era Lam:a food plant with multiple medicinal uses. *Phototherapy Res*, 21:17-25.
- Arumugam,Total.,M.Ayyanar,Y.J.K Pillai and T.Sekar.2011.*Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Leaf and Callus Extract of Centella Asiatica*. Bangladesh J.Pharmacol.6:55-60.
- Chen et al., (2010). *Are Family Firms More Tax Aggressive Than Non-Family obat Tradisional* di Indonesia Jakarta: Depkes RI.
- Da'i , Muhammad dan Triharman, Fitriana., 2010, *Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Isolat Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.)*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- DepKes RI, 1995, *Farmakope Indonesia, Edisi IV*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Febriana Kartika. 2012. *Uji Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Coculus orbiculatus (L) DC. Dengan Metode DPPH dan identifikasi Golongan senyawa kimia dari Fraksi yang aktif* , Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Pramuka, Depok.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2010. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*.Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harbone, J.B. 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi 4*. Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Kosasih P. dan Soediro L., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Harborne, J. B. 1996, Metode Fijoni, R. 2016, *Dasar-Dasar Fitokimia*. CV. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- Maryam St, Baits Muzakkir, Nadia Ainun. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Morinda diterapkan Lam) menggunakan*

metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar.

- Patria, W. D., Soegihardjo, C. J., 2013, *Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra L. Miq.) yang Tumbuh di Pohon Kepel (Stelechocarpus burahol (Bl.) Hook. F.)*, Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas, Vol, 10, No. 1: 51-60.
- Rabeta, M.S., dan Faraniza N ., 2013, *Total phenolic Content and Ferric Reducing Antioxidant Power of the Leaves and Fruits of Garnicia atrovirdis and Cynometra cauliflora*. International Food Research Journal 20 (4): 1691-1696.
- Rohman, A., Riyanto, S., Hidayati, N. K., 2007, *Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (Morinda Citrifolia L)*, Agritech, Vol. 27 No. 4:147-151.
- Rahmat, A., Susi, E., Patimah, I., Taufiq, Y. Y. H. and Moh, F. 2006, *Chemical Constituents, Antioxidant Activity and Cytotoxic Effects of Essential Oil from Strobilanthes crispus and Lawsonia inermis*, Journal of Biology Sciences, Vol. 6, Issue 6:1005-1010.
- Ramadhan , S.N.,R. Rayit dan Ematrisy. 2015. *Uji Ekstrak daun Pegagan terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan salmonella typical dengan metode Bioautografi*. Jurnal Kesehatan Andalas 4 (1):203-206.
- Salewa, W., Runtuwene, M.R.J., dan Citraningtuas, Google., 2013., *Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binatang (Anredera cordifolia (ten)Steenis.)*., Jurnal Ilmiah Farmasi., 2 (1), 18-22.
- Sayuti , K dan Rina , Yogyakarta., 2015., *Antioksidan Alami dan Sintetik ., Cetakan Pertama.*, Padang : Andalas University Press.,Halaman 15-20.
- Salewa, W., Runtuwene, M.R.J., dan Citraningtuas, Google., 2013., *Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binatang (Anredera cordifolia (ten)Steenis.)*., Jurnal Ilmiah Farmasi., 2 (1), 18-22.
- Septianingrum, N.M.A.N., Hapsari, W.S., Syarifudin, A., 2018., *Identifikasi Kandungan Fitokimia Ekstrak oktra Merah (Abelmoschus esculentus) dan Uji Aktivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Eschericia coli.*, Jurnal Insan Farmasi Indonesia.,1 (2) 170-177.

Sethi shruti, Josh Alka , Arora Bidville. 2019. *Signifikan Uji FRAP , DPPH , CURVACEOUS untuk penentuan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Buah Apel* , Penelitian dan Teknologi pangan Eropa.

Sutardi , *Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiat nya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh* , Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta.

Thuong, P. T., Na, M. K., Dang, N. H., Hung, T.M., Ky, P. M., Thanh, T. V., Nam, N. H., Thuan, N. D., Sok, D. E. And Bae, K. I. 2006, *Antioxidant Activities of Vietnamese Medical Plants*. Journal of Natural Products Sciences, 12(1): 29-37.

Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Terjemahan: S. ess. Indonesia.

Widjaya, C.H., 2003, *Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh, Healthy Choice*, Edisi IV.

Wientarsih letje , Hr.Sjarif Sulistyaantie.2013. *Aktivitas Antioksidan Fraksi Metanol Daun Pegagan (Centella asiatica (L) Urban)* , Fitofarmaka, Vol.3 No.2 , Laboratorium Farmasi Departemen Klinik,. Bogor.

Wijayakusuma, H.S. 1996, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Cetakan kedua, Pustaka Kartini, Jakarta.

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

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