

## Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Metode Fosfomolibdat

Warsi\*, Gita Puspitasari

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

\*Corresponding author: warsisuryatmoko@gmail.com

### Abstract

**Background:** Antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction of basil leaf have been studied previously by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Testing of antioxidant with another mechanism is necessary to be done such as reducing power to phosphomolybdate for measurement of total antioxidant capacity. A compound is said active as an antioxidant if giving positive results in several different mechanisms. Basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) contains main components of essential oils with various chemical structures, flavonoids and polyphenols compounds that potential as an antioxidant. It need to be fractionated to obtain more specific antioxidant compounds. **Objective:** The aim of the research was to know antioxidant potential of ethanolic extract and ethyl acetate fraction of basil leaf by phosphomolybdate method. Basil leaf was macerated using 70% ethanol then fractionated with ethyl acetate. **Methods:** The ethanolic extract and ethyl acetate fraction were analyzed for their antioxidant activity by phosphomolybdate reduction power method with spectrophotometer at  $\lambda$  of 695 nm. The antioxidant potential of the samples were expressed as mg quercetine equivalent/g. **Results:** Data were analyzed statistically using SPSS 16 with significancy level of 95%. The total antioxidant capacity from basil leaf ethanolic extract with concentration of 1.50; 1.75; 2.00; 2.25; 2.50 and 2.75 mg/mL were 47.292; 54.840; 57.870; 66.640; 77.234 and 84.754 mgQE/g, respectively. While total antioxidant capacity from ethyl acetate fraction of basil leaf with series concentration of 0.50; 0.65; 0.80; 0.95; 1.10 and 1.25 mg/mL were 44.720; 54.646; 66.936; 73.776; 84.606 and 94.210 mgQE/g, respectively. **Conclusion:** This analysis show that total antioxidant activity of ethyl acetate fraction was higher than that of basil leaf ethanolic extract.

**Keywords:** basil leaf, *Ocimum basilicum*, phosphomolybdate, ethyl acetate fraction

### Abstrak

**Pendahuluan:** Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi telah diteliti sebelumnya dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Pengujian tentang aktivitas antioksidan dengan mekanisme lain perlu dilakukan, diantaranya ialah daya reduksi terhadap fosfomolibdat, untuk pengukuran daya antioksidan total. Suatu senyawa dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila positif terhadap berbagai jenis uji yang mekanismenya berbeda-beda. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) mengandung komponen utama minyak atsiri dengan struktur kimianya yang beragam, senyawa flavonoid dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Perlu dilakukan fraksinasi supaya diperoleh senyawa antioksidan yang lebih spesifik. **Tujuan:** Penelitian ini berguna untuk mengetahui potensi antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi dengan metode fosfomolibdat. Daun kemangi dimaserasi menggunakan etanol 70 %, kemudian difraksinasi dengan etil asetat. **Metode:** Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dianalisis aktivitas antioksidannya dengan metode daya reduksi fosfomolibdat yang diukur secara spektrofotometri pada  $\lambda$  695 nm. Potensi antioksidan sampel dinyatakan dalam mg ekuivalen *quercetine*/g. **Hasil:** Data yang diperoleh dianalisis secara statistika dengan SPSS 16 pada taraf kepercayaan 95%. Daya antioksidan total ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 1,50; 1,75; 2,00; 2,25; 2,50 dan 2,75 mg/mL berturut-turut ialah 47,292; 54,840; 57,870; 66,640; 77,234 dan 84,754 mgQE/g. Sedangkan daya antioksidan total fraksi etil asetat daun kemangi dengan seri konsentrasi 0,50; 0,65; 0,80; 0,95; 1,10 dan 1,25 mg/mL berturut-turut adalah 44,720; 54,646; 66,936; 73,776; 84,606 dan 94,210 mgQE/g. **Kesimpulan:** Analisis ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan total fraksi etil asetat lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi.

**Kata kunci:** daun kemangi, *Ocimum basilicum*, fosfomolibdat, fraksi etil asetat

## PENDAHULUAN

Pola makan masyarakat modern sedikit banyak menimbulkan masalah terutama apabila makanan yang dikonsumsi tidak seimbang, diantaranya konsumsi makanan tinggi karbohidrat dan lemak, namun tidak diperhatikan kebutuhan serat serta vitaminnya (Sartika, 2008). Kondisi tersebut dapat diperburuk akibat adanya pengaruh lingkungan. Gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok, kebiasaan tidur terlalu malam, stres dan sedikitnya frekuensi olahraga dapat memicu terbentuknya radikal bebas.

Radikal bebas yaitu molekul atau fragmen molekul, mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam atom atau orbital molekulnya (Valko dkk., 2007). Adanya elektron bebas ini, sehingga menyebabkan molekul tersebut sangat reaktif. Radikal bebas merupakan senyawa antara yang terbentuk dalam proses alami di tubuh, diantaranya sitotoksitas, kontrol pembuluh darah dan neurotransmisi. Radikal bebas dapat menyerang komponen seluler, yaitu protein, DNA dan lipida, sehingga dapat mengalami kerusakan. Sel normal melawan efek kerusakan tersebut melalui enzim antioksidan primer, misalnya superoksida dismutase atau katalase (Sarma dkk., 2010). Namun demikian enzim antioksidan primer di tubuh tidak mampu menetralkan radikal bebas apabila jumlahnya melampaui kemampuan kapasitas maksimal enzim tersebut.

Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi sumber antioksidan, diantaranya yang berasal dari alam. Salah satu sumber antioksidan alami adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Tanaman kemangi memiliki ketersediaan yang melimpah di Indonesia, selain dimanfaatkan sebagai sayur dan lalap, dapat pula digunakan sebagai obat tradisional. Genus *Ocimum*, familia Lamiaceae mengandung asam fenolik, hidroksisilat dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan (Hakkim dkk., 2008). Spesies *Ocimum basilicum* L. mengandung komponen utama minyak atsiri dengan struktur monoterpen, seskiterpen dan derivat fenilpropanoid (Chenni dkk., 2016). Komponen kandungan utamanya ialah linalool (52,42%), metil eugenol (18,74%) dan 1,8-sineol (5,61%) (Govindarajan dkk., 2013). Selain itu, *Ocimum basilicum* juga mengandung aglikon flavon (salvigenin dan nevadensis) dan senyawa-senyawa lain, yaitu sirsileol, sirsilineol, eupatorin, apigenin, akasetin, apigenin 7,4'-dimetil eter (Grayer dkk., 1996).

Hasil penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi aktif sebagai antioksidan yang diukur dengan metode DPPH (Warsi & Sholichah, 2017). Metode pengujian antioksidan tersebut berdasarkan kemampuan sampel dalam mendonorkan hidrogen radikalnya ke radikal DPPH (Prabhavathi dkk., 2016). Mekanisme antioksidan tersebut terbatas pada senyawa yang strukturnya mengandung gugus hidroksil (OH) yang dapat dilepaskan sebagai hidrogen radikal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dengan mekanisme yang lain, diantaranya ialah daya reduksi terhadap fosfomolibdat. Antioksidan dengan mekanisme ini berdasarkan pada pengukuran daya antioksidan total suatu sampel (Rouzbahan dkk., 2016). Suatu senyawa dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila positif terhadap berbagai jenis uji yang mekanismenya berbeda-beda. Mengacu pada penelitian-penelitian sebelumnya bahwa suatu ekstrak dari tanaman diuji antioksidannya dengan berbagai metode (Ravisankar dkk., 2014; Ahmed dkk., 2015; Moonmun dkk., 2017).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama yang digunakan ialah daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) diperoleh dari daerah Muntilan, Jawa Tengah pada bulan Desember 2015. Bahan-bahan lain yaitu *quercetine* (Sigma Aldrich Co.USA), ammonium molibdat dan natrium fosfat (E-Merck), etanol 70%, etil asetat serta petroleum eter teknis. Semua bahan yang digunakan kecuali dinyatakan lain berderajat pro analisis.

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini ialah spektrofotometer UV-Vis (UV-Vis 1800 Pharmaspec Shimidzu) dan *halogen moisturizer analyzer* (Mettler Toledo).

### Metode

#### Ekstraksi dan fraksinasi

Daun kemangi sebanyak 1,5 Kg dikeringkan di almari pengering pada suhu 50°C. Daun kering kemudian diblender dan diayak dengan ayakan nomor 70 mesh. Serbuk daun kering sebanyak 200 g diawalemakkan dengan ditambahkan petroleum eter 1:4. Ampas hasil pengawalemakkan dimaserasi dengan etanol 70 % dan difraksinasi menggunakan etil asetat mengikuti prosedur sebagaimana telah dilaporkan sebelumnya oleh Warsi & Sholichah (2017).

### Penetapan susut pengeringan serbuk simplisia

Simplisia daun kemangi ditetapkan susut pengeringan menggunakan alat *halogen moisturizer analyzer*. Serbuk diletakkan di atas lempeng alumunium foil (khusus) kemudian dimasukkan ke dalam alat *halogen moisturizer analyzer* (Depkes RI, 2008). Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

### Analisis aktivitas antioksidan

#### Pembuatan larutan fosfomolibdat

Sebanyak 3,0 mL asam sulfat ditambahkan 0,199 gram natrium fosfat dan 0,247 gram ammonium molibdat. Ketiganya dilarutkan dalam *aquadest* hingga volume tepat 50,0 mL. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode ini mengikuti prosedur yang telah dilaporkan oleh Prieto dkk. (1999).

#### Penentuan *operating time*

Sebanyak 1,0 mL larutan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi ditambah dengan reagen fosfomolibdat masing-masing sebanyak 1,0 mL. Larutan dipanaskan pada suhu 95°C selama 60 menit. Larutan kemudian dibiarkan hingga mencapai suhu ruang (26°C). Larutan diambil 1,0 mL dan ditambahkan dengan etanol hingga tepat 5,0 mL. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 695 nm selama 90 menit.

#### Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Sebanyak 1,0 mL larutan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi ditambahkan reagen fosfomolibdat masing-masing sebanyak 1,0 mL. Larutan dipanaskan pada suhu 95°C selama 60 menit. Larutan kemudian dibiarkan hingga mencapai suhu ruang (26°C). Larutan diambil 1,0 mL dan ditambahkan dengan etanol hingga tepat 5,0 mL. Campuran didiamkan hingga mencapai *operating time*. Larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 - 900 nm.

#### Larutan blangko

Sebanyak 5,0 mL reagen fosfomolibdat ditambahkan 5,0 mL etanol. Larutan diambil 1,0 mL dan ditambahkan dengan etanol hingga tepat 5,0 mL. Campuran didiamkan hingga mencapai *operating time*. Larutan digunakan sebagai blangko pada pengukuran sampel dengan spektrofotometer UV-Vis.

#### Pengukuran serapan *quercetine*

Larutan *quercetine* dibuat variasi berbagai konsentrasi yaitu 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 dan 1,0 mg/10mL. Masing-masing seri larutan dipipet sebanyak 1,0 mL dan ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat. Larutan dipanaskan pada suhu 95°C selama 60 menit. Larutan dibiarkan pada suhu kamar

hingga mencapai suhu ruang (26°C). Larutan kemudian diambil 1 mL dan ditambahkan etanol hingga tepat 5,0 mL. Campuran didiamkan hingga mencapai *operating time*. Campuran diukur serapannya dengan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimalnya. Replikasi dilakukan sebanyak 5 kali.

#### Pengukuran serapan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Ekstrak etanol dibuat variasi konsentrasi 1,50; 1,75; 2,00; 2,25; 2,50 dan 2,75 mg/mL. Sedangkan seri konsentrasi fraksi etil asetat yaitu 0,50; 0,65; 0,80; 0,95; 1,10 dan 1,25 mg/mL. Sebanyak 1,0 mL masing-masing seri larutan tersebut ditambahkan 1,0 mL reagen fosfomolibdat. Campuran dipanaskan pada suhu 95°C selama 60 menit. Larutan dibiarkan pada suhu kamar hingga mencapai suhu ruang (26°C). Larutan kemudian diambil 1,0 mL dan ditambahkan etanol hingga tepat 5,0 mL. Campuran didiamkan hingga mencapai *operating time*. Campuran diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimalnya. Masing-masing sampel replikasi sebanyak 5 kali.

#### Analisis data

Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dinyatakan dalam mg *quercetine equivalent/gram* (mgQE/g) (Touré dkk., 2016). Parameter tersebut diperoleh dari persamaan regresi linier hubungan antara absorbansi *versus* konsentrasi *quercetine* ( $y = bx + a$ ), dengan  $y$  = absorbansi sampel dan  $x$  = kadar. Nilai  $x$  yang diperoleh dari perhitungan tersebut kemudian dimasukkan ke persamaan berikut ini:

$$\text{Antioksidan} = \frac{\text{Kadar} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right] \times \text{Volume (mL)} \times \text{fp}}{\text{mg sampel} \times \frac{1}{1000}}$$

Keterangan: fp = faktor pengenceran. Data aktivitas antioksidan ekstrak etanol kemudian dibandingkan dengan fraksi etil asetat yang dianalisis secara statistika dengan SPSS 16 pada taraf kepercayaan 95 %. Analisis dengan uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui normalitas data. Analisis dilanjutkan dengan uji Levene untuk mengetahui homogenitas data. Data dikatakan terdistribusi normal dan homogen apabila masing-masing hasil uji nilai signifikansi lebih besar dari 0,05. Data yang terdistribusi normal dan homogen, kemudian dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji parametrik yaitu ANOVA satu jalan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil ekstraksi dan fraksinasi**

Simplisia daun kemangi dilakukan pengawaleman terlebih dahulu sebelum dilakukan ekstraksi menggunakan petroleum eter. Hal ini dilakukan untuk menyari senyawa non polar yang tidak dikehendaki yang terkandung pada simplisia tersebut seperti klorofil, steroid, terpenoid dan asam lemak. Proses ini dilakukan supaya senyawa non polar yang menutupi lapisan dinding sel dapat dihilangkan, sehingga dapat memudahkan proses ekstraksi. Flavonoid dalam tanaman bersifat semi polar yang terdapat pada vakuola (Harborne, 1996). Lemak pada dinding sel yang menutupi vakuola juga harus dihilangkan terlebih dahulu untuk mempermudah proses ekstraksi. Hasil ekstraksi dan fraksinasi tersaji pada Tabel 1.

Fraksinasi dilakukan dengan pelarut yang kepolarannya berbeda dari ekstraksi, sehingga dapat memisahkan senyawa yang kepolarannya berbeda yang terkandung pada ekstrak. Fraksinasi dalam penelitian ini dilakukan untuk menyari senyawa polifenol dan flavonoid. Keberadaannya senyawa tersebut dalam ekstrak dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun kemangi telah dibuktikan sebelumnya oleh Warsi & sholichah (2017). Metode fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu secara cair-cair menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat digunakan sebagai pelarut untuk fraksinasi karena memiliki sifat yang semi polar, sehingga diharapkan dapat menyari senyawa antioksidan yang semi polar.

**Tabel 1.** Rendemen ekstraksi dan fraksinasi

Proses	Bobot sampel (gram)	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Ekstraksi	200,00	100,05	50,05
Fraksinasi	5,00	0,84	16,80

**Hasil penetapan susut pengeringan**

Penetapan susut pengeringan serbuk dilakukan untuk mengetahui banyaknya komponen air dan senyawa-senyawa yang mudah menguap di dalam simplisia setelah mengalami proses pengeringan dibawah suhu 105°C. Hasil analisis susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil penetapan susut pengeringan

Replikasi	Susut pengeringan (%)	Rata-rata ± SD	CV (%)
1	8,53		
2	9,30	9,0 ± 0,42	4,20

3 9,18

Hasil susut pengeringan serbuk daun kemangi menunjukkan bahwa kandungan air dan senyawa yang dapat menguap di bawah suhu 105°C, seperti minyak atsiri, dalam serbuk kurang dari 10%. Susut pengeringan yang tidak terlalu tinggi dari hasil tersebut dapat meminimalkan pertumbuhan kapang dan jamur pada masa penyimpanan. Hasil yang diperoleh telah memenuhi persyaratan dari Farmakope Herbal Indonesia (Depkes RI, 2008).

**Hasil analisis aktivitas antioksidan**

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi diukur dengan metode daya reduksi terhadap fosfomolibdat dengan standar *quercetine*. Mekanisme antioksidan metode ini berdasarkan senyawa yang terkandung dalam sampel yang mempunyai daya pereduksi. Zat tersebut mereduksi fosfomolibdat menjadi fosfomolibdat dan membentuk senyawa kompleks fosfomolibdenum berwarna hijau kebiruan (Moonmun dkk., 2017). Intensitas warna hijau-biru yang terbentuk dapat diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer visibel. Senyawa fosfomolibdenum dapat terbentuk apabila dilakukan pemanasan pada suhu 95°C selama 60 menit. Saat reaksi berlangsung, gugus karbonil dari apigenin bereaksi dengan fosfomolibdat membentuk fosfomolibdenum berwarna hijau kebiruan.

Metode lain yang dapat digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan, diantaranya ialah metode *β-carotene bleaching*, *crocin bleaching*, thiobarbituric acid (TBA) dan daya reduksi kalium ferrisianida. Metode *β-carotene* dan *crocin bleaching* berdasarkan kehilangan warna dari senyawa tersebut karena terdegradasi ikatan rangkapnya oleh radikal asam linoleat dalam emulsi yang diinisiasi oleh adanya oksigen. Adanya senyawa antioksidan dalam sampel menghambat laju degradasi dari *β-carotene* dan *crocin*. Metode *β-carotene* sesuai untuk estimasi potensi antioksidan dari minyak atsiri dan senyawa-senyawa non polar. Sedangkan metode *crocin* sesuai untuk skrining aktivitas penangkapan radikal. Metode TBA berdasarkan pengukuran inhibisi produksi substansi reaktif asam tiobarbiturat dari natrium benzoat karena pengaruh radikal bebas oksigen dari reaksi fenton. Dalam metode ini, larutan standard yang berisi kompleks Fe-EDTA bereaksi dengan hidrogen peroksida dengan reaksi fenton dan terbentuk radikal hidroksil. Spesien oksigen reaktif tersebut kemudian mendegradasi benzoat dihasilkan substansi reaktif asam tiobarbiturat. Adanya senyawa antioksidan dapat

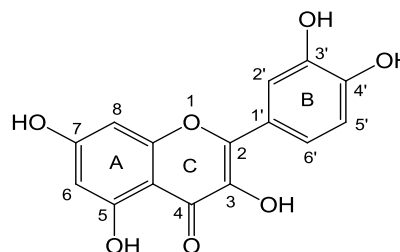
menekan produksi substansi reaktif asam tiobarbiturat. Adapun pengujian antioksidan dengan metode daya reduksi kalium ferrisianida berdasarkan reduksi ion ferri ( $Fe^{3+}$ ) menjadi ferro ( $Fe^{2+}$ ) oleh zat antioksidan (Gupta, 2015).

Pada pengukuran aktivitasnya, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi yang berwarna kekuningan direaksikan dengan reagen fosfomolibdat dalam suasana asam dan suhu tinggi membentuk senyawa kompleks berwarna hijau-kebiruan. Fosfomolibdat merupakan suatu oksidator dari senyawa amonium molibdat dan natrium fosfat yang kemudian membentuk ammonium fosfomolibdat.

Metode fosfomolibdat dipilih untuk pengujian aktivitas antioksidan karena proses pembuatan reagen yang cepat dan mudah. Selain itu, bahan-bahan yang digunakan tersedia dan dapat diperoleh dengan mudah. Apabila ditinjau dari segi ekonomis, relatif lebih murah dan kestabilan senyawa kompleks yang memiliki waktu panjang, sehingga memudahkan pengujian sampel. Namun metode ini juga memiliki kekurangan yaitu suhu inkubasi yang harus tetap dijaga agar tepat  $95^{\circ}C$ . Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan penguapan larutan sampel. Untuk mengatasi hal ini, sehingga suhu inkubasi perlu dikontrol dengan baik, supaya selalu tetap  $95^{\circ}C$ . Pengontrolan dilakukan dengan mengatur suhu dalam *waterbath* tetap terjaga  $95^{\circ}C$ . Apabila meningkat, alat diatur lagi supaya suhunya turun menjadi  $95^{\circ}C$ . Sebaliknya apabila turun, alatnya dapat diatur lagi supaya mencapai  $95^{\circ}C$ .

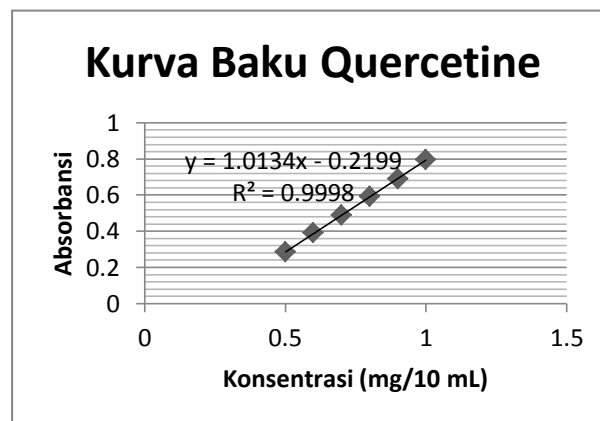
Hasil penentuan *operating time* untuk *quercetine*, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi berturut-turut adalah menit ke 35 – 50, 25 – 57 dan 20 – 79 menit. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan waktu *operating time* antara *quercetine*, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi. Hal ini disebabkan karena terdapat perbedaan senyawa dalam *quercetine*, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi yang bereaksi dengan fosfomolibdat. Sedangkan hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimal untuk *quercetine*, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi berturut-turut adalah 792, 786 dan 790 nm. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh berbeda dengan teori (695 nm), hal ini karena tergantung kekuatan daya reduksi senyawa dalam sampel yang bereaksi dengan reagen fosfomolibdat. Oleh karena itu, intensitas kompleks warna hijau yang dihasilkan berbeda dan menyebabkan pergeseran panjang gelombang serapan maksimal.

*Quercetine* digunakan sebagai standar dalam pengukuran aktivitas antioksidan ini karena merupakan senyawa yang telah diketahui aktif sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan *quercetine* berhubungan dengan gugus orto dihidroksi pada posisi 3' dan 4' serta gugus OH pada posisi 3, 5 dan 7 (Hertiani, 2000), sebagaimana tersaji pada Gambar 1. Adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya sehingga mampu mendonasikan elektron pada atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkhelat logam (Redha, 2010).



Gambar 1. Struktur *quercetine*

Seri konsentrasi untuk *quercetine* adalah 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 dan 1,0 mg/10mL. Pemilihan seri konsentrasi tersebut berdasarkan linearitas dari serapan yang dihasilkan, yaitu sebanding dengan kenaikan konsentrasi. Hal ini karena sebagai kurva baku yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan dari sampel dengan parameter nilai kesetaraan. Hasil pengukuran kurva baku *quercetine* tersaji pada Gambar 2.

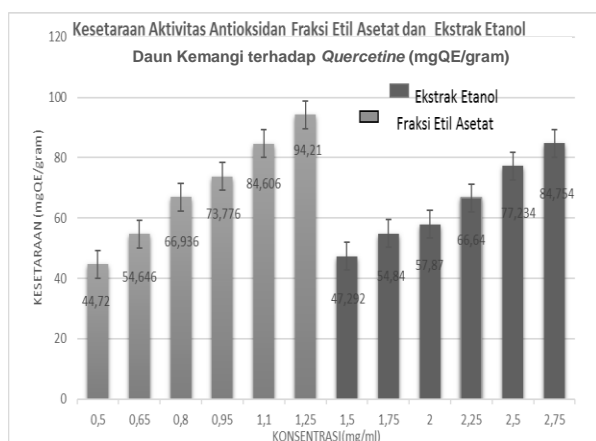


Gambar 2. Hasil pengukuran kurva baku *quercetine*

Adapun variasi konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan ialah 1,50; 1,75; 2,00; 2,25; 2,50 dan 2,75 mg/mL. Sedangkan seri konsentrasi untuk fraksi etil asetat yaitu 0,50; 0,65; 0,80; 0,95; 1,10 dan 1,25 mg/mL. Seri konsentrasi kedua sampel tersebut dipilih berdasarkan linearitas dari aktivitas antioksidannya yang dinyatakan dengan kesetaraan terhadap *quercetine*. Berdasarkan hasil penelitian,

aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi tergantung dosis. Hal ini menunjukkan bahwa nilai kesetaraan terhadap *quercetine* dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi (Gambar 3).

Hasil pengukuran dalam berbagai konsentrasi, fraksi etil asetat yang kadarnya lebih rendah menunjukkan kesetaraan yang lebih tinggi apabila dibandingkan ekstrak etanol daun kemangi. Hasil ini dapat diambil salah satu konsentrasi untuk perbandingan, diantaranya fraksi etil asetat daun kemangi dengan kadar 1,25 mg/mL menunjukkan nilai kesetaraan sebesar 94,210 mgQE/gram. Sedangkan ekstrak etanol daun kemangi dengan kadar 1,50 mg/mL mempunyai nilai kesetaraan 47,292 mgQE/gram. Nilai kesetaraan fraksi etil etil asetat daun kemangi terhadap *quercetine* per gram ekstrak didefinisikan bahwa setiap 1 gram ekstrak kering setara dengan 94,210 mg *quercetine*.



Gambar 3. Diagram aktivitas antioksidan

Hasil analisis secara statistika dengan uji Kolmogorov-Smirnov diperoleh nilai  $P > 0,05$  dan Levene  $P 0,551 > 0,05$ ; yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal serta homogen. Hasil analisis dengan ANOVA satu jalan diperoleh nilai  $P < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan rata-rata fraksi etil asetat secara signifikan lebih besar daripada ekstrak etanol daun kemangi. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa aktivitas antioksidan fraksi etil asetat lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi yang diuji dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH (Warsi & Sholichah, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chenni dkk. (2016), daun kemangi mengandung komponen utama minyak atsiri. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun

kemangi kandungan senyawa terbesarnya adalah minyak atsiri. Adanya fraksinasi lebih lanjut terhadap ekstrak etanol dengan pelarut etil asetat dapat mengisolasi senyawa-senyawa yang aktif sebagai antioksidan, diantaranya flavonoid dan polifenol yang bersifat semi polar. Selain itu, dapat meminimalkan senyawa-senyawa yang lebih non polar, misalnya minyak atsiri. Dengan demikian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi.

### KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan total dari fraksi etil asetat dalam berbagai konsentrasi adalah lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi yang dinyatakan dalam satuan mgQE/g.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, D., Khan, M. M. & Saeed, R. (2015). Comparative Analysis of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant and Antibacterial Potential of Methanolic, Hexanic and Aqueous Extracts from *Adiantum caudatum* Leaves. *Antioxidants*; 4; 394-409.
- Chenni, M., Abed, D. E., Rakotomanomana, N., Fernandez, X. & Chemat, F. (2016). Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction. *Molecules*; 21; 113.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswari, M. & Yogalakshmi, K. (2013). Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Ocimum basilicum* (L.) Against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*; 134; 7-11.
- Grayer, R. J., Bryan, S. E., Veitch, N. C., Goldstone, F. J., Paton, A. & Wollenweber, E. (1996). External Flavones in Sweet Basil, *Ocimum basilicum*, and Related Taxa. *Phytochemistry*; 43; 1041-1048.
- Gupta, D. (2015). Methods for Determination Of Antioxidant Capacity: A Review. *International*

- Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*; 6; 546-566.
- Antioxidant Property of Selected *Ocimum* Species and Their Secondary Metabolite Content. *Journal of Medicinal Plants Research*; 2; 250-257.
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi 2, Cetakan ke-2. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. dan Soediro, I. Bandung: ITB.
- Hertiani, T. (2000). Uji Daya Antioksidan Daun *Plantago major* L. *Majalah Farmasi Indonesia*; 11; 234.
- Moonmun, D., Majumder, R. & Lopamudra, A. (2017). Quantitative Phytochemical Estimation and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity of Methanol and Ethanol Extracts of *Heliconia rostrata*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*; 79; 79-90.
- Prabhavathi, R. M., Prasad, M. P. & Jayaramu, M. (2016). *In-vitro* Antioxidant Studies of *Cissus quadrangularis* (L) extracts. *European Journal of Experimental Biology*; 6(4); 1-6.
- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999), Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of A Phosphormolybdenum Complex; Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*; 269; 337-341.
- Ravisankar, N., Sivaraj, C., Seeni, S., Joseph, J. & Raaman, N. (2014). Antioxidant Activites and Phytochemical Analysis of Methanol Extract of Leaves of *Hypericum hookerianum*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 6; 456-460.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Perannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belia*; 9; 196-202.
- Hakim, F. L., Arivazhagan, G. R. & Boopathy, R. (2008). Full Length Research Paper.
- Rouzbahan, S., Moein, S. & Homaei, A. (2016). Total Antioxidant Capacities and Reduction of Ferric ions by Extracts of Three Medicinal Plants and Their Fractions. *Hormozgan Medical Journal*; 20; 223-232.
- Sartika, R. A. D. (2008). Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*; 2; 154-160.
- Sarma, A. D., Mallick, A. M. & Ghosh, A. K. (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*; 1; 185-192.
- Touré, H. A., Bouatia, M., Mojemmi, B., Mariko, M., Dackouo, B., Benzeid, H., Alouani, I., Mamouchi, M., Idrissi, M. O. B. & Draoui, M. (2016). Evaluation of Antioxidant Activities of Two Different Solvent Extracts of Green Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L. Mill.). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*; 7; 73-79.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M. T. D., Mazura, M. & Telser, J. (2007). Review, Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*; 39; 44-84.
- Warsi & Sholichah, A. R. (2017). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Ethyl Acetate Fraction from Basil Leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH Radical Scavenging Method. *International Proceeding. IPCUAD2017, IOP Publishing, IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*; 259; 012008.