

# Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol, Etil Asetat dan Heksana Tanaman Ruku-Ruku (*Ocimum tenuiflorum*L.) dengan Metode DPPH

Anton Restu Prihadi<sup>1\*</sup>), Ahmad Dzaky Mualim<sup>2</sup>, dan Ikhwan Affandy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>)Program Studi Penjaminan Mutu Industri Pangan, Politeknik AKA Bogor

<sup>2</sup>)Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor

Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

<sup>\*</sup>)Email: antonrestu@gmail.com

(Received : 7 November 2021; Accepted: 31 Desember 2021; Published: 31 Desember 2021)

## Abstrak

Tanaman ruku-ruku (*Ocimumtenuiflorum* L.) adalah tanaman herbal yang telah banyak digunakan masyarakat untuk pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dari seluruh senyawa kimia pada tanaman ruku-ruku yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar. Potensi antioksidan tersebut diketahui dengan menguji aktivitas dari ekstrak metanol, etilasetat dan heksana dari tanaman ruku-ruku. Simplisia daun dan batang ruku-ruku pertama-tama diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, selanjutnya simplisia yang sama diekstrak menggunakan pelarut etilasetat dan terakhir oleh pelarut heksana. Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, etilasetat dan heksana ditentukan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etilasetat memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak methanol dan heksana. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etilasetat diperoleh dengan nilai  $IC_{50}$  1503.58 $\mu$ g/mL. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etilasetat tanaman ruku-ruku memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

*Kata kunci:* ruku-ruku; ekstraksi maserasi; aktivitas antioksidan

## Abstract

*Basil plant (OcimumtenuiflorumL.) is a herb that are widely used as medicine. This study aims to determine the antioxidant potential of all polar, semipolar and nonpolar compounds by testing the antioxidant activity of metanol, ethyl acetate and hexane extracts of basil plant. Basil leaves and stems were macerated with metanol, ethyl acetate and hexane. The antioxidant activity ofmetanol, etil acetate dan hexane extracts were carried out using the DPPH method. The results showed that the ethyl acetate extract provided better antioxidant activity than the metanol and hexane extracts. Antioxidant activity of the ethyl acetate extract was obtained with an  $IC_{50}$  value of 1503.58 $\mu$ g/mL. Based on the  $IC_{50}$  value, the ethyl acetate extract of basil planthas weak antioxidant activity.*

*Keywords:* basil; extraction maseration; antioxidant activity

---

## PENDAHULUAN

Tanaman ruku-ruku telah dibudidayakan sejak lama, namun umumnya tumbuh secara liar di alam. Tanaman ruku ruku umumnya ditanam di kebun, halaman maupun pinggir jalan. (Sastrapradja et al., 1977; Sulistiarini, 1999).

Tanaman ruku-ruku ini mempunyai ciri khas bau yang harum pada daunnya, sehingga seringkali digunakan sebagai bumbu dalam masakan. Aroma dari tanaman ruku ruku dapat mengurangi aroma anyir alami pada daging ikan yang dimasak. Daun ruku-ruku telah digunakan sebagai ekspektoran, diaforetik, antikanker, antihelmintik, analgesik dan tonik. Daun kering dapat digunakan untuk menangani infeksi saluran pernafasan, sedangkan *juice* daun segar dapat

digunakan untuk mengatasi bronchitis dan penyakit kulit. Minyak atsiri ruku-ruku telah dilaporkan memiliki aktivitas antifungal melawan *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolinifera* dan *Penicillium digitatum* (Geeta et al., 2001).

Tanaman ruku-ruku memiliki banyak khasiat obat seperti antidiabetes, antioksidan, antimikroba, *antinociceptive*, *antifertility*, anti-inflamasi, antikanker, anthelmintik, dan kardioprotektif (Pattanayak, 2010). Selain itu, tanaman ini juga memiliki sifat antiseptik, antispasmodik, antibakteri dan pengusir serangga (Gupta, 1998). Menurut sistem pengobatan Ayurveda, ruku-ruku dianggap sebagai adaptogen yang membantu menjaga keseimbangan antara aktivitas metabolisme yang berbeda dan membantu

dalam pengendalian stres digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, seperti masuk angin, sakit kepala, gangguan perut, radang, penyakit jantung, keracunan dan malaria serta ketidaknyamanan psiko-fisik, asma dan konjungtivitis (Simon, 1999). Sejumlah senyawa bioaktif dengan sifat antioksidan yang sangat baik telah dilaporkan dari daun ruku-ruku (Nakatani, 1997).

Hikmawanti, dkk pada tahun 2019 telah melaporkan aktivitas antioksidan dari komponen senyawa atsiri (non polar) dari tanaman ruku-ruku. Zat aktif antioksidan pada tanaman ruku-rukuberpotensi untuk menghambat penyakit kronis yang disebabkan oleh senyawa-senyawa oksidator kuat pada tubuh manusia. Akan tetapi, aktivitas antioksidan dari seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar pada tanaman ruku-ruku belum tuntas dipelajari. Obloh, dkk pada tahun 2008 melaporkan bahwa aktivitas antioksidan senyawa polar pada tanaman berdaun

### Persiapan Sampel

Daun dan batang tanaman ruku-ruku diperoleh dari daerah Solok, Sumatera Barat. Daun dan batang tanaman ruku-ruku dicuci dengan menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel di permukaan kulit kopi sebanyak 2 (kali) dan dikeringkan dengan menggunakan oven yang dilengkapi dengan blower udara pada suhu 50 °C sampai kering. Kulit kopi yang sudah dikeringkan dihancurkan dengan menggunakan *blender/crusher* sampai diperoleh ukuran partikel lolos saringan 18 mesh atau sekitar 1 mm.

### Proses Ekstraksi

Sebanyak 50 gram daun dan batang kering tanaman ruku-ruku direndam dalam 1 liter heksana selama 3 x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42. Residu hasil penyaringan kemudian dikeringkan dan direndam dalam pelarut etil asetat selama 3 x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42. Residu hasil penyaringan kemudian dikeringkan dan direndam dalam pelarut metanol selama 3 x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42. Filtrat kemudian dievaporasi hingga seluruh pelarut menguap. Ekstrak kering selanjutnya ditimbang dan disimpan untuk analisis lebih lanjut.

### Penentuan Aktifitas Antioksidan

#### Pembuatan Larutan DPPH 30 µg/mL

Ditimbang 5 mg DPPH (BM 394,33). Lalu dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50 mL, kemudian ditempatkan dalam labu ukur yang dilapisi dengan aluminium foil. Ditambahkan pelarutnya hingga tanda batas kemudian dikocok hingga homogen dan diperoleh larutan DPPH

hijau memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan senyawa non polar. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antioksidan dari seluruh komponen yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar pada tanaman ruku-ruku yang tumbuh di provinsi Sumatera Barat.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas laboratorium, spektrofotometer UV-Vis, oven, *blower* udara, *blender/crusher*, saringan 18 mesh, neraca analitik, *heater*, corong pisah, kertas saring Whatman no 42, pengaduk stirrer, botol vial dan *evaporator*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan batang tanaman ruku-ruku, akuades, pereaksi 1-1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH), metanol, etil asetat, heksana dan akuades.

dengan konsentrasi 100 µg/mL. Kemudian diencerkan dengan cara dipipet 15 mL larutan DPPH konsentrasi 100 µg/mL dimasukkan dalam labu ukur 50 mL. Ditambahkan pelarutnya hingga tanda batas kemudian dikocok hingga homogen dan diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 30 µg/mL.

### Pembuatan Larutan Blanko dan Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Dipipet 2 mL larutan DPPH (30 µg/mL) ke dalam tabung reaksi. Lalu tambahkan metanol p.a sebanyak 2 mL dan dihomogenkan, dan vial ditutup dengan aluminium foil. Kemudian diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Tentukan spectrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 nm dan tentukan panjang gelombang maksimumnya.

### Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Etil Asetat dan Heksana Tanaman Ruku-ruku

Ditimbang ekstrak sebanyak 125 mg dalam labu ukur, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dan ditepatkan volume 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi 2500 µg/mL. Selanjutnya diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang maksimum DPPH.

### Penentuan Nilai IC<sub>50</sub>

Dilakukan pengenceran pada ekstrak etilasetat dengan konsentrasi 2500 µg/mL yang sudah dibuat sebelumnya dengan penambahan metanol p.a. hingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 1000 µg/mL, 1250 µg/mL, 1500 µg/mL, 1750 µg/mL, dan 2000 µg/mL. Untuk menentukan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam vial

lalu vial ditutup dengan Aluminium foil, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 30 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Selanjutnya diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang maksimum DPPH. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH.

Hasil perhitungan dari aktivitas antioksidan dimasukkan kedalam persamaan garis  $y = a + bx$  dengan konsentrasi (µg/mL) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % aktivitas antioksidan sebagai ordinatnya (sumbu y). Nilai IC<sub>50</sub> dari perhitungan pada saat % aktivitas antioksidan sebesar 50%. Analisis data menggunakan perhitungan persentase inhibisi dan IC<sub>50</sub> dengan persamaan regresi. Rumus perhitungan persen inhibisi:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak heksana, etil asetat dan metanol dari tanaman ruku-ruku selanjutnya diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. DPPH adalah radikal bebas, stabil pada suhu kamar dengan bentuk serbuk violet kehitaman dan cepat teroksidasi oleh suhu dan udara. Metode DPPH pengujianya menggunakan reaksi kimia dimana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menimbulkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning.

Pada pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan larutan DPPH dengan konsentrasi 30 µg/mL didapat panjang gelombang maksimum DPPH pada 512 nm. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan karena panjang gelombang serapan maksimum dapat mengalami perubahan. Hal ini disebabkan perbedaan kondisi percobaan yang dilakukan. Perubahan tersebut dapat berupa perbedaan instrumen, waktu pengukuran, pelarut, iklim, maupun individu yang melakukan.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ini berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Intensitas warna ungu yang hilang inilah yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemampuan antioksidan ekstrak ruku-ruku dapat diamati dari berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH saat direaksikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning.

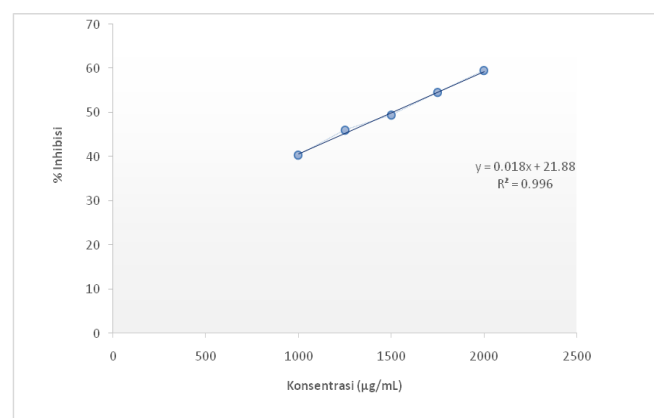
Semakin besar konsentrasi bahan uji, warna kuning yang dihasilkan semakin kuat. Pengurangan intensitas warna ungu dari larutan DPPH secara kuantitatif dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut.

Semakin besar konsentrasi larutan uji maka absorbansi yang dihasilkan semakin kecil, yang berarti kemampuan larutan uji dalam meredam radikal DPPH semakin besar. Ekstrak etil asetat menunjukkan nilai absorbansi terendah sebesar 0.3001, kemudian metanol dengan absorbansi sebesar 0.3083 dan heksana sebesar 0.3305. Hal ini menunjukkan ekstrak etil asetat dari tanaman ruku-ruku memiliki aktivitas antioksidan yang sedikit lebih tinggi dibandingkan ekstrak dari metanol dan heksana. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak Heksana, Etil Asetat dan Metanol Tanaman Ruku-ruku

deret standar	Abs	Nm
zero	-0.0177	512
0.5	0.0525	512
0.15	0.1842	512
0.25	0.3328	512
0.35	0.4588	512
0.5	0.6703	512
metanol	0.3083	512
etil asetat	0.3001	512
heksana	0.3305	512

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak ruku-ruku selanjutnya menggunakan data dari ekstrak etil asetat. Hal ini disebabkan data uji antioksidan ekstrak etil asetat memberikan hasil absorbansi yang sama besarnya dengan ekstrak metanol dan heksana, yaitu 0,3. Nilai IC<sub>50</sub> yang dimiliki oleh ekstrak etilasetat ruku-ruku adalah 1503.58 µg/mL. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etilasetat ruku-ruku tersebut mengacu pada data hubungan % inhibisi dan konsentrasi ekstrak tanaman ruku-ruku pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak etil asetat tanaman ruku-ruku

Kategori parameter aktivitas antioksidan dari nilai IC<sub>50</sub> ekstrak tanaman ruku-ruku mengacu pada Winarsih, 2014, yaitu :

Sangat Kuat : IC<sub>50</sub> = 50 µg/mL  
Kuat : IC<sub>50</sub> = 50-100 µg/mL  
Sedang : IC<sub>50</sub> = 101-150 µg/mL  
Lemah : IC<sub>50</sub> = 150 µg/mL.

Hal ini menunjukkan hasil dari nilai IC<sub>50</sub> yang didapat bahwa aktivitas ekstrak etilasetatruku-ruku (*Ocimum tenuiflorum* L.) adalah lemah jika dibandingkan dengan kategori aktivitas antioksidan tersebut di atas. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol, etil asetat dan heksana dari tanaman ruku-ruku, ketiganya mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diambil kesimpulan bahwa ekstrak etilasetat dari tanaman ruku-ruku (*Ocimumtenuiflorum* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang setara dengan ekstrak methanol dan heksana. Ekstrak etilasetat tanaman ruku-ruku mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah terhadap radikal bebas DPPH dengan nilai IC<sub>50</sub> 1503.58 µg/mL.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Dinata, D. I., Supriadi, D., Djafar. G., Syerliana., Wijayanti. W., & Suherman, S. E. (2015). Effect of adding granul basil (*Ocimum americanum*) as antioxidant in fried foods. *IJPST* 2(1), 22-32.
- Geeta, DM., Vasudevan, R., Kedlaya, S., Deepa & M Ballal M. (2001). Activity of *Ocimum sanctum* (the traditional Indian medicinal plant) against the enteric pathogens. *Indian J. Med. Sci*55, 434-438.
- Gupta, A.K. & Sahi. (1998). Seed germination behaviour of *Ocimum* under different environmental conditions, *J. Med. Aromat. Plant Sc.*, 20, 1045–1047.
- Hikmawati, N.P.E., Hariyanti, Nurkamalia & Nurhidayah S. (2019). Chemical Components of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L. Stem Essential Oils and Evaluation of Their Antioxidant Activities Using DPPH Method. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* 6(3), 149 – 154
- Nakatani N. (1997). *Antioxidants from spices and herbs*, In: *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*. Illinois: AOAC Press.
- Oboh, Ganiyu. (2008) Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88(14), 2486-2492
- Pattanayak, P., Behera, P., Das, D., Panda, S. (2010). *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: an overview. *Pharmacogn. Rev*, 4, 95.
- Prakash, P., & Gupta, N. (2005). Therapeutic uses of *Ocimum sanctum* Linn (Tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review. *Indian J. Physiol. Pharmacol*49, 125–131.
- Sastrapradja S, SHA Lubis, E Djajasukma, H Soetarno & I Lubis. (1977). *Sayur-sayuran*. Bogor: LBN-LIPI
- Simon JE, Morales MR, Phippen WB, Vieira RF, Hao Z. (1999). *Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb*. In: *Perspectives on New Crops and New Uses*. Alexandria: American Society for Horticultural Science Press.
- Sulistiari D. (1999). *Ocimum gratissimum* L. In: *LPA Oyen and NX Dung. Plant Resources of South-East Asia Number 19. Essential oil plants*. Bogor: PROSEA
- Upadhyay, R., Nachiappan, G., & Mishra, H. N. (2015). Ultrasound-assisted extraction of flavonoids and phenolic compounds from *Ocimum tenuiflorum* leaves. *Food Science and Biotechnology* 24(6), 1951-1958.
- Winarsih, H. (2007). *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Jogjakarta: Kanisius.