



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR TANAMAN SEMANGGI
(*Marsilea crenata* C. Presl) METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Raisya Adila, I.A.K. Pramushinta, A.S. Sinulingga

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

Jalan Dukuh Menanggal XII, Kecamatan Gayungan, Kota Surabaya, Jawa Timur 60234

Telp (031) 8281181

raisyaadila2101@gmail.com

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima Juli 2024

Disetujui Oktober 2024

Dipublikasikan Desember
2024

Keywords:

Clover Plant (*Marsilea
crenata* C. Presl), FRAP,
Rotary evaporator, UV-Vis
Spectrophotometry, IC₅₀

Abstrak

Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk makanan dan potensial dikembangkan sebagai obat herbal. Ekstrak tanaman semanggi dengan menggunakan methanol, kloroform, dan etil asetat ditemukan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antioksidan dalam ekstrak pelarut air tanaman semanggi dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan menganalisis pengaruh variasi konsentrasi ekstrak terhadap uji aktivitas antioksidan. Metode pada penelitian ini yaitu ekstraksi tanaman semanggi dengan maserasi menggunakan pelarut air. Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 596 nm. Hasil rendemen ekstrak sebesar 42% menunjukkan positif mengandung flavonoid, saponin, polifenol dan kadar air sebesar $9,94\% \pm 0,1276$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman semanggi mempunyai aktivitas antioksidan lemah (IC₅₀ 351,04 ppm) dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat (IC₅₀ 22,60 ppm). Pada hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dapat meningkatkan %inhibisi dari pembentukan radikal bebas namun peningkatannya tidak linier yg ditunjukkan dengan nilai R² tidak mendekati 0,99.

Kata Kunci: Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl), FRAP, Rotary evaporator, Spektrofotometri UV-Vis, IC₅₀

Abstract

The clover plant (*Marsilea crenata* C.P resl) is a plant that is widely used for food and has the potential to be developed as a herbal medicine. Clover plant extract using methanol, chloroform, and ethyl acetate was found to have weak antioxidant activity. The aim of this research was to test the antioxidant activity in air solvent extracts of clover plants using the FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) method and analyze the effect of variations in extract concentration on the antioxidant activity test. The method in this research is clover plant extraction by maceration using an air solvent. Test antioxidant activity using the FRAP method

using a UV-Vis spectrophotometer with a maximum wavelength of 596 nm. The extract yield of 42% showed that it positively contained flavonoids, saponins, polyphenols and a water content of $9.94\% \pm 0.1276$. The results showed that clover plants had weak antioxidant activity (IC_{50} 351.04 ppm) compared to vitamin C as a positive control which showed very strong antioxidant activity (IC_{50} 22.60 ppm). From the results of this study, it can be said that increasing the extract concentration can increase the percentage of inhibition of free radical formation, but the increase is not linear, as indicated by the R^2 value not approaching 0.99.

Keywords: Clover Plant (*Marsilea crenata* C. Presl), FRAP, Rotary evaporator, UV-Vis Spectrophotometry, IC_{50}

© 2024

Universitas Abdurrab

▣ Alamat korespondensi:

Jalan Dukuh Menanggal XII, Kecamatan Gayungan, Kota Surabaya,
Jawa Timur 60234

E-mail: raisyaadila2101@gmail.com

ISSN 2338-4921

PENDAHULUAN

Era modern sudah menyaksikan perubahan luar biasa dalam kehidupan masyarakat disebabkan kemajuan ilmu pengetahuan serta teknologi. Seiring berjalannya waktu, masyarakat jadi semakin tidak peduli terhadap kesehatan mereka. Kesehatan seseorang mungkin dipengaruhi dengan cara negatif berbagai faktor. Selain pilihan gaya hidup yang buruk serta polusi udara, kondisi cuaca buruk bisa meningkatkan kadar radikal bebas dalam tubuh, sehingga menurunkan kualitas hidup masyarakat (Dominica & Handayani, 2019). Dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh (Surya, 2019). Disebabkan itu, antioksidan diperlukan tubuh untuk melindungi terhadap radikal bebas yang sangat berbahaya (Dominica & Handayani, 2019).

Radikal bebas merupakan atom maupun molekul yang tidak stabil serta sangat reaktif. Tubuh manusia bisa memproduksi radikal bebas sebagai akibat dari metabolisme sel yang normal, malnutrisi, pola makan yang buruk, pilihan gaya hidup yang tidak sehat, asap rokok, radiasi UV, serta lingkungan yang tercemar. Antioksidan merupakan satu dari banyak bentuk penangkal yang diperlukan untuk hal ini (Purwaningsih *et al.*, 2014).

Tubuh memiliki antioksidan sebagai mekanisme pertahanan tubuh untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk. Antioksidan merupakan mekanisme pertahanan tubuh melawan pembentukan radikal bebas. Donor elektron ialah definisi kimia dari antioksidan. Bahan kimia yang dikenal sebagai antioksidan mempunyai kemampuan guna mengurangi maupun menghentikan kerusakan akibat proses oksidasi (Pardede, 2018). Antioksidan dianggap dapat

melindungi tubuh dari radikal bebas. Antioksidan diperkirakan melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan memberikan cukup elektron yang tidak dimiliki radikal bebas serta dengan menghentikan reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang bisa merusak sel (Shinta & Kusuma, 2015). Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 1 (Wulansari, 2018).

Tabel 1. Kategori Kekuatan Antioksidan

No	Kategori	Nilai IC ₅₀ (ppm)
1.	Sangat Kuat	<50
2.	Kuat	50-100
3.	Sedang	100-250
4.	Lemah	250-500
5.	Tidak Aktif	>500

Satu dari banyak jenis tanaman yang umum ditemukan di Asia Tenggara ialah tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) (Ma'arif *et al.*, 2020). Tanaman semanggi mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan jadi obat tradisional Indonesia. Tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) mengandung saponin, triterpenoid bebas, steroid, flavonoid dan polifenol. Senyawa yang terkandung dalam tanaman semanggi diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan (Tiyangsih, 2007).

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sampel ekstrak tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) dengan menggunakan air sebagai pelarut. Ekstrak air tanaman semanggi yaitu ekstrak kental yang diperoleh dari maserasi serbuk simplisia tanaman semanggi menggunakan pelarut air. Tujuan dari penelitian ini ialah guna mengetahui tingkat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*), dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ dapat digunakan untuk menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan dalam metode FRAP (Maryam *et al.*, 2016).

METODE

Pengujian aktivitas antioksidan yang dilaksanakan dengan cara in-vitro mempergunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), instrumen analisis yang dipergunakan yakni spektrofotometer UV-Vis. Jenis penelitian pada uji aktivitas antioksidan

ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) merupakan jenis penelitian eksperimental didalam laboratorium disebabkan meliputi pengambilan sampel, determinasi, serta pembuatan ekstrak. Penelitian ini dilaksanakan dalam jangka waktu 4 bulan pada bulan Januari-April 2024 di Laboratorium Biologi Farmasi serta Laboratorium Kimia Farmasi, Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini yakni timbangan analitik, timbangan digital kg, blender, nampan, toples kaca, cawan porselen, kurs porselen, gelas ukur, *beaker glass*, batang pengaduk, pipet tetes, labu ukur, vial, corong kaca, kertas saring, tabung reaksi, erlenmeyer, desikator, *dry oven*, mikropipet 100-1000 μ l, pH meter, *rotary evaporator*, serta instrumen spektrofotometri UV-Vis. Adapun bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini yakni tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*), aquadest p.a, NaOH 10% p.a, FeCl₃ 5% p.a, HCL pekat p.a, Natrium asetat trihidrat p.a, Asam asetat glasial p.a, vitamin C injeksi, serbuk 2,4,6-tripiryridilstriazine (TPTZ) p.a serta serbuk FeCl₃.6H₂O p.a.

PROSEDUR KERJA

1. Pembuatan Simplisia Tanaman Semanggi

Tanaman semanggi segar 15 kg yang telah dikumpulkan dicuci dibawah air mengalir lalu ditiriskan. Sebagian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari langsung selama \pm 4 jam, kemudian dibuat menjadi serbuk dengan cara menghancurkan menggunakan *dry blender* selama 2 menit sampai 5 menit, setelah itu disimpan didalam toples (Febrina *et al.*, 2015).

2. Pembuatan Ekstrak Air Tanaman Semanggi Metode Maserasi

Disiapkan serbuk tanaman semanggi sebanyak 250 gram. Kemudian ditambah dengan jenis pelarut air rasio sampel : pelarut adalah 1:10. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pengadukan manual pada suhu ruang 25°C selama 1 hari (24 jam). Dilakukan remaserasi sebanyak 1 kali. Rendemen dihitung dari ekstrak kental yang dihasilkan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Simplisia Awal}} \times 100\% \text{ (Wijaya \& Jubaidah, 2018).}$$

3. Skrining Fitokimia

A. Identifikasi Flavonoid

1 mL ekstrak ditambahkan dengan 15 tetes pereaksi NaOH 10%, perubahan warna menjadi orange atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Ikalinus *et al.*, 2015).

B. Identifikasi Saponin

1 mL ekstrak dicampurkan dengan 20 mL air lalu di didihkan dalam penangas air. Filtrat dikocok kemudian diamati perbentukan busanya, apabila terbentuknya busa yang stabil dengan tinggi 3cm serta bisa bertahan selama 10 - 15 menit maka menunjukkan adanya saponin (Ikalinus *et al.*, 2015).

C. Identifikasi Polifenol

1 mL ekstrak ditambahkan 10 tetes larutan FeCl_3 5%. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menunjukkan adanya polifenol (Muharrami *et al.*, 2017).

4. Uji Kadar Air dalam Ekstrak Air Tanaman Semanggi

Kurs porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam untuk menentukan kadar air sampel mempergunakan teknik gravimetri atau prosedur pengeringan dengan oven. Kemudian kurs porselen dimasukkan dalam desikator selama kurang lebih 15 menit setelah itu didinginkan, kurs porselen ditimbang. Sampel kemudian ditimbang sampai beratnya sekitar 10 gram lalu dimasukkan ke dalam kurs porselen. Masukkan ke dalam oven selama 5 jam pada suhu 105°C . Setelah didinginkan selama kurang lebih 15 menit dalam desikator, timbang. Jika perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%, teruskan pengeringan serta penimbangan setiap 1 jam (FHI., 2017). Dilakukan replikasi 3x.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\% \text{ (Yuningsih } et al., 2018)$$

5. Pembuatan Buffer Asetat

Buffer Asetat dengan pH 3,8 dibuat dari 0,775 gram natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) yang ditambahkan dengan 4 mL asam asetat pekat dan dilarutkan dengan aquadest hingga tepat 250 mL dalam labu ukur.

6. Pembuatan Larutan TPTZ

Dibuat HCl 40 mmol/L dengan melarutkan $380\mu\text{L}$ HCl pekat dalam 100 mL aquadest. Kemudian timbang serbuk TPTZ sebanyak 31 mg lalu dilarutkan dalam HCL 40 mmol/L hingga tepat 10 mL (Nurhayati *et al.*, 2022).

7. Pembuatan Larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Ditimbang $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 32,44 mg, kemudian dilakukan pelarutan dengan 10 mL buffer asetat dalam labu ukur (Nurhayati *et al.*, 2022).

8. Pembuatan Reagen FRAP

Reagen FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 mL buffer asetat, 2,5 mL larutan TPTZ dan 2,5 mL larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, lalu ditambahkan aquadest hingga tepat 100 mL dalam labu ukur (Nurhayati *et al.*, 2022).

9. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dilakukan dengan mencampur 3 mL reagen FRAP dan 1 mL aquadest selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Rahayu *et al.*, 2021).

10. Penentuan *Operating Time*

Dilakukan dengan mencampur 3 mL reagen FRAP dan 1 mL aquadest selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada interval waktu 1 menit sehingga didapatkan nilai absorbansi yang stabil (Indriyah *et al.*, 2023).

11. Penyiapan Larutan Stok 100 ppm

Vitamin C injeksi dengan konsentrasi 200.000 ppm kemudian diencerkan 100 ppm dalam labu ukur 50 mL. Dibuat dengan cara mencampurkan 25 μ l vitamin C injeksi dengan aquadest ad 50 mL dalam labu ukur kemudian dikocok sampai homogen.

12. Penyiapan Larutan Baku

Larutan stok 100 ppm diambil masing-masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 serta 0,5 mL dan ditempatkan dalam labu ukur 10 mL yang berbeda lalu diencerkan dengan aquadest hingga 10 mL dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 100 ppm vitamin C yakni 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm serta 5 ppm, dipipet 1 mL reagen FRAP kemudian ditambahkan 3 mL vitamin C dari masing-masing konsentrasi kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 13 menit pada suhu 37°C lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm. Dalam pengujian ini dibuat kurva kalibrasi dengan mempergunakan vitamin C (kontrol positif) sebagai senyawa pembanding.

13. Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel Metode FRAP

Sampel dipipet 0,8 mL (80 ppm) ; 0,9 mL (90 ppm) ; 1 mL (100 ppm) ; 1,1 mL (110 ppm) ; serta 1,2 mL (120 ppm) dari tanaman emanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) pada konsentrasi larutan 1000 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL secara terpisah, diencerkan dengan aquadest sampai volume tepat 10 mL serta dihomogenisasi. Setelah itu memipet 1 mL reagen FRAP dan menambahkan 3 mL sampel dari masing-masing konsentrasi, dihomogenisasi dan didiamkan selama 13 menit pada suhu 37°C lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm. Dilakukan replikasi 3x.

14. Analisis Data

Dari hasil absorbansi yang didapatkan pada masing-masing konsentrasi yang diuji, didapatkan nilai presentase inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi FRAP} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi FRAP}} \times 100\% \text{ (Agus Adrianta } et al., 2017).$$

Dibuat kurva regresi dari angka persentase redaman pada masing-masing konsentrasi, sehingga menghasilkan persamaan $y = bx + a$ serta angka IC_{50} . Konsentrasi ekstrak (ppm) dijadikan absis (sumbu x) serta angka persentase redaman jadi ordinat (sumbu y) pada perhitungan regresi linier. Persentase redaman 50 dihitung untuk memberikan nilai IC_{50} (Agus Adrianta *et al.*, 2017). Rumus berikut dipergunakan untuk mendapatkan nilai IC_{50} , $y = bx + a$; $50 = bx + a$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengujian ini menggunakan sampel dari tanaman semanggi jenis *Marsilea Crenata* yang kemudian dilakukan tahapan preparasi sampel pada tanaman semanggi yaitu pencucian, pengeringan, serta penyerbukan. Kemudian serbuk tanaman semanggi dilakukan proses ekstraksi metode maserasi dengan perbandingan 1:10. Hasil dari ekstraksi maserasi selanjutnya dilakukan pemekatan atau pengentalan ekstrak dengan *rotary evaporator* suhu $50^{\circ}C$ dengan tekanan 0,3 atm. Tujuan dari pemekatan ekstrak mempergunakan alat *rotary evaporator* yaitu untuk menghilangkan pelarut hingga diperoleh bobot tetap dan nilai %rendemen ekstrak tanaman semanggi (Indah Sayakti *et al.*, 2022). Penyimpanan ekstrak kental yakni ditutup dengan aluminium foil serta didinginkan pada suhu $4^{\circ}C$. Hal tersebut dilaksanakan agar ekstrak kental tidak mudah ditumbuhi mikroba. Penyimpanan pada suhu rendah serta tempat yang jauh dari paparan sinar matahari bertujuan untuk menjaga kestabilan ekstrak (Agne *et al.*, 2010). Data hasil rendemen ekstrak maserasi dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Hasil Rendemen Ekstrak Tanaman Semanggi (*Marsilea carenata C. Presl*)

Nama Ekstrak	Bobot Awal Simplisia (g)	Bobot Eksrak Diperoleh (g)	Persyaratan Farmakope Herbal	Rendemen (%)
Tanaman Semanggi	250	105	Tidak kurang dari 10%	42% (memenuhi)

Selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia. Tujuan dari skrining fitokimia ialah guna mengetahui golongan senyawa maupun kumpulan senyawa yang mana merupakan metabolit sekunder dalam sebuah tumbuhan maupun ekstrak tumbuhan. Memanfaatkan reagen warna, pengujian warna ialah teknik yang dipergunakan untuk terjadinya proses skrining fitokimia (Denny, 2018). Data hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) dapat dilihat pada tabel 2.2

Tabel 2.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl)

Golongan Senyawa	Pereaksi	Warna	Hasil
Flavonoid	NaOH 10%	Orange atau Jingga	Positif (+)
Saponin	Aquadest	Buih dan Busa 3cm (15 menit)	Positif (+)
Polifenol	FeCl ₃ 5%	Hijau / Hijau Biru	Positif (+)

Berdasarkan tabel diatas, ada beberapa pereaksi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi golongan kandungan senyawa dalam ekstrak tanaman semanggi. Pada identifikasi flavonoid dilakukan menggunakan pereaksi NaOH 10%. Pereaksi NaOH 10% berfungsi sebagai katalis basa sehingga menyebabkan senyawa flavonoid terurai jadi molekul asetofenon berwarna kuning sampai coklat (Theodora *et al.*, 2019). Identifikasi saponin, mengandung aglikon (sapogenin) sebuah gugus hidrofobik, saponin bersifat non-polar serta polar sehingga bisa larut dalam pelarut seperti air. Glikosida bisa menimbulkan busa dalam air serta terhidrolisis jadi glukosa serta bahan kimia lainnya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya busa pada uji saponin (Agustina *et al.*, 2017). Identifikasi polifenol dilakukan menggunakan pereaksi FeCl₃ 5%. Dalam pengujian ini penciptaan warna dihasilkan dari interaksi FeCl₃ dengan sampel, reaksi ini disebabkan karena ion Fe³⁺ mengalami hibridisasi. Penambahan FeCl₃ bereaksi dengan satu dari banyak gugus hidroksil dalam senyawa polifenol sehingga dapat mengubah warna. Tanin yang terkondensasi terjadi ketika FeCl₃ ditambahkan sehingga menghasilkan perubahan warna (Syaron Manongko *et al.*, 2020).

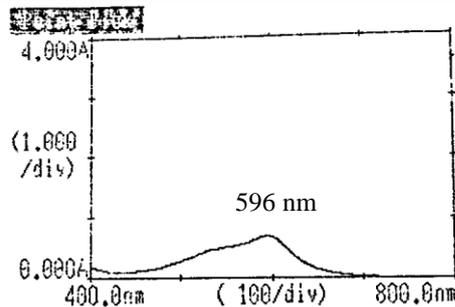
Selanjutnya dilakukan uji kadar air pada ekstrak tanaman semanggi. Tujuan dari mengetahui kandungan air sebuah ekstrak ialah untuk memberikan batas maupun kisaran minimal kandungan air sebuah bahan maupun ekstrak. Jamur serta kapang lebih mudah berkembang pada ekstrak dengan kandungan air lebih banyak. Akibatnya, hal ini bisa mengurangi aktivitas biologis ekstrak saat disimpan. kandungan air yang dibutuhkan seringkali kurang dari 10% (Najib *et al.*, 2017). Kandungan air bisa mempengaruhi kualitas simplisia sehingga lebih rentan terhadap kontaminasi mikroba serta kerusakan fisik (Wijaya & Noviana, 2022). Data hasil pengujian kadar air ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) dapat dilihat pada tabel 2.3.

Berdasarkan tabel 2.3, hasil penetapan kadar air ekstrak air tanaman semanggi diperoleh sebesar 9,94% ± 0,1276. Hasil penetapan kadar air yang diperoleh memenuhi persyaratan yang ditetapkan pada syarat mutu dalam Farmakope Herbal Indonesia yakni tidak lebih dari 10%.

Tabel 2.3 Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Tanaman Semanggi (*Marsilea carenata* C. Presl)

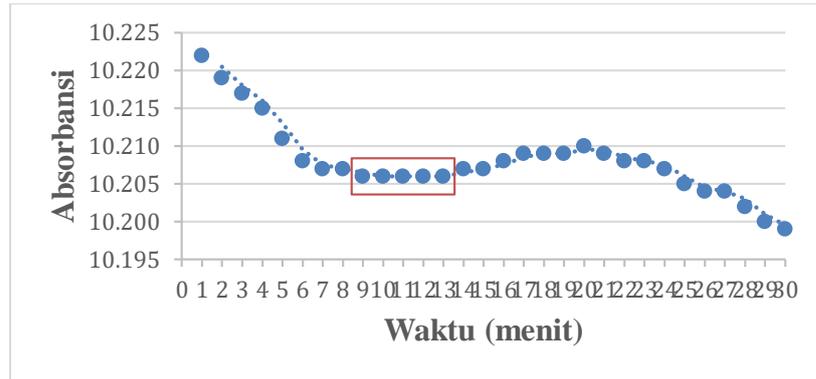
Replikasi	% Kadar Air	Rata-rata ± SD	Persyaratan Farmakope Herbal	Standar
1	9,80%			
2	10,05%	9,94% ± 0,1276	Tidak lebih dari 10%	Memenuhi
3	9,97%			

Selanjutnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum, tujuannya adalah untuk mendapatkan nilai absorptivitas sensitivitas pengukuran tertinggi. Untuk mendapatkan hasil yang maksimal, penentuan panjang gelombang maksimum juga bertujuan untuk menjamin serapan sampel berada pada panjang gelombang maksimum tersebut (Anngela *et al.*, 2021). Berlandaskan hasil pengukuran penyerapan tertinggi dengan absorbansi 0,6809 nm menyebabkan dipilihnya 596 nm sebagai panjang gelombang maksimum reagen FRAP. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Reagen FRAP

Selanjutnya dilakukan penentuan *operating time*, tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh pada saat absorbansi paling stabil. *Operating time* ditentukan dengan mengukur waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan guna meminimalkan kemungkinan terjadinya kesalahan pengukuran. Jika pengukuran dilakukan sebelum *operating time* maka akan ada kemungkinan terjadi reaksi yang tidak sempurna. (Suharyanto & Prima, 2020). Hasil penentuan *operating time* dapat dilihat pada gambar 2.2



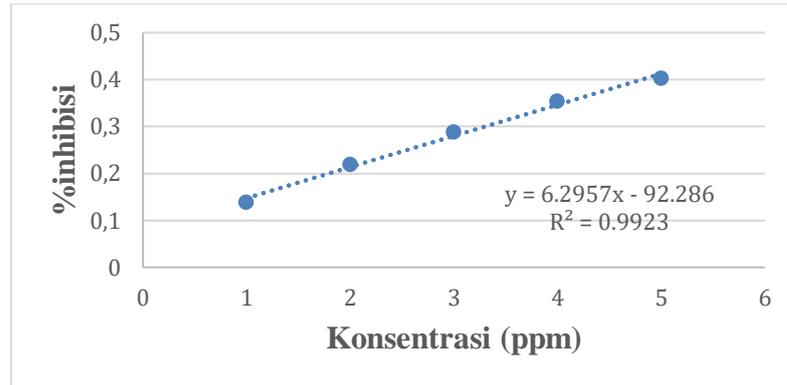
Gambar 2.2 Hasil *Operating time*

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa pengukuran absorbansi dilakukan yang dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-30 setelah itu didapatkan waktu absorbansi yang stabil nilainya pada menit ke-9 sampai menit ke-13, pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-13. Diambil pada menit ke-13 (menit terakhir) disebabkan semakin lama sampel diinkubasi pada nilai absorbansi yang stabil maka semakin lama sampel dan pelarut bereaksi sehingga dapat meningkatkan total senyawa antioksidan yang dihasilkan sampel (Setiawan *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa mulai menit ke-9 reagen sudah dapat bereaksi dengan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) sehingga terbentuk warna biru yang ditandai dengan pembacaan nilai absorbansi yang stabil yaitu 1,0206.

Selanjutnya dilakukan pengujian larutan baku kerja, pada pengujian ini dibuat kurva kalibrasi menggunakan vitamin C dengan panjang gelombang maksimal 596 nm, sebagai senyawa pembanding. Untuk pengujian ini, dilakukan dengan cara mencampurkan sebanyak 3 mL vitamin C, dimasukkan kedalam vial kemudian 1 mL reagen FRAP ditambahkan kedalam vial. Kemudian campuran tersebut di inkubasi pada suhu 37°C selama 13 menit. Setelah itu, seluruh larutan uji dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimal 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat dengan melakukan plot konsentrasi mempergunakan metode FRAP dengan konsentrasi larutan standar 1, 2, 3, 4, serta 5 ppm. Hasil kurva kalibrasi dan absorbansi vitamin C dapat dilihat pada tabel 2.4 dan gambar 2.3

Tabel 2.4 Hasil Absorbansi Vitamin C

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1.	1 ppm	0,1378
2.	2 ppm	0,2189
3.	3 ppm	0,2878
4.	4 ppm	0,3532
5.	5 ppm	0,4019



Gambar 2.3 Hasil Kurva Kalibrasi Larutan Baku Vitamin C

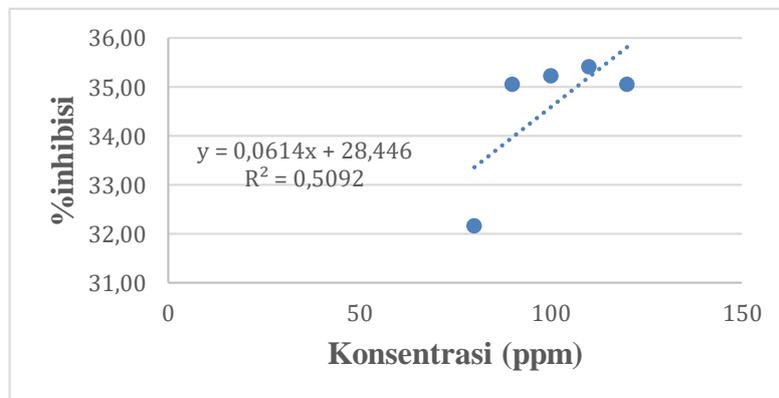
Berdasarkan gambar diatas, hasil kurva baku yang didapatkan kemudian diplotkan antara konsentrasi dan absorbansinya, sehingga didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 6.2957x + 92.286$ dengan nilai $R^2 = 0.9923$, persamaan ini dipergunakan sebagai pembanding guna mengetahui konsentrasi aktivitas antioksidan dalam sampel. Disebabkan vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, lebih polar dibandingkan vitamin lainnya serta bertindak sebagai antioksidan sekunder yaitu dengan mengumpulkan radikal bebas serta menghentikan reaksi berantai, maka vitamin C merupakan pembanding yang dipergunakan sebagai kontrol positif. Dari gugus hidroksi bebas vitamin C, berfungsi sebagai penangkap radikal bebas (Khartika Membri *et al.*, 2021). Dari hasil pengukuran absorbansi diatas dapat dikatakan bahwa nilai absorbansi semakin meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi larutan. Hal ini sejalan dengan hukum *Lambert-Beer* yang menyatakan bahwa hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel, dimana nilai absorbansi yang didapatkan juga telah memenuhi *range* absorbansi yang baik atau dikenal dengan hukum *Lambert-Beer* yaitu $0,2 \leq A < 0,8$ (Indriyah *et al.*, 2023).

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sampel metode FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*). Pengujian dilakukan pada kondisi asam yakni pH 3,8 untuk menjaga kelarutan ion besi. Aktivitas antioksidan mempergunakan metode FRAP didapatkan dengan membandingkan perubahan serapan larutan sampel dengan larutan pembanding yang mengandung ion Fe^{2+} dengan konsentrasinya pada panjang gelombang 596 nm (MYuliawati *et al.*, 2022). Untuk pengujian sampel, dilakukan dengan cara mencampurkan sebanyak 3 mL sampel dimasukkan kedalam vial, kemudian 1 mL reagen FRAP ditambahkan kedalam vial. Kemudian campuran tersebut di inkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 13 menit. Setelah itu, seluruh larutan uji dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimal 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat dengan melakukan plot konsentrasi mempergunakan metode FRAP dengan

konsentrasi larutan standar 80, 90, 100, 110, serta 120 ppm. Hasil kurva kalibrasi dan absorbansi sampel dapat dilihat pada tabel 2.5 dan gambar 2.4

Tabel 2.5 Hasil Absorbansi Sampel Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*)

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi R1	Absorbansi R2	Absorbansi R3
1.	80 ppm	0,7167	0,7273	0,6974
2.	90 ppm	0,6860	0,6827	0,6814
3.	100 ppm	0,6830	0,6827	0,6789
4.	110 ppm	0,6830	0,6782	0,6776
5.	120 ppm	0,6860	0,6818	0,6823



Gambar 2.4 Hasil Kurva Kalibrasi

Berdasarkan gambar diatas, hasil kurva %inhibisi sampel yang diperoleh kemudian diplotkan antara konsentrasi dan absorbasinya, sehingga diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0.0614x + 28.446$ dengan nilai $R^2 = 0.5092$. Kemudian dari hasil pengukuran absorbansi diatas menunjukkan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dimana semakin besarnya nilai konsentrasi ekstrak sampel maka nilai absorbansi semakin kecil, serta berbanding terbalik dengan nilai inhibisi yang semakin besar (Indriyah *et al.*, 2023). Pada sampel ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 351,04 ppm. Berlandaskan hasil tersebut bisa disimpulkan bahwa ekstrak tanaman semanggi memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, disebabkan nilai IC_{50} sampel berada direntang antioksidan lemah yakni 250-500 ppm. Nilai IC_{50} sampel >50 serta melebihi rentang aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel serta sebaliknya, semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin lemah kandungan antioksidan dalam sampel (Rahayu *et al.*, 2021).

Selanjutnya dilakukan analisis data uji aktivitas antioksidan ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) metode FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*). Nilai IC_{50}

ditetapkan berdasarkan persamaan regresi linier yang telah didapatkan sebelumnya. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x pada persamaan $Y = a + bx$. Sedangkan nilai Y merupakan nilai IC yang sudah ditetapkan yakni 50. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan (Siskawati *et al.*, 2023). Hasil rata-rata %inhibisi vitamin C dan sampel dapat dilihat pada tabel 2.6 dan 2.7

Tabel 2.6 Hasil %inhibisi Vitamin C

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%inhibisi	IC_{50}
1.	1 ppm	0,1378	87	22,60 ppm
2.	2 ppm	0,2189	79	
3.	3 ppm	0,2878	73	
4.	4 ppm	0,3532	66	
5.	5 ppm	0,4019	62	

Tabel 2.7 Hasil %inhibisi Sampel Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*)

No.	Konsentrasi (ppm)	%inhibisi Rata-rata \pm SD	IC_{50}
1.	80 ppm	32,17 \pm 1,4406	351,04 ppm
2.	90 ppm	35,06 \pm 0,2253	
3.	100 ppm	35,23 \pm 0,2171	
4.	110 ppm	35,42 \pm 0,2812	
5.	120 ppm	35,06 \pm 0,2180	

Berdasarkan tabel diatas, dapat diambil kesimpulan bahwa vitamin C dan sampel menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda, hal ini bisa ditunjukkan dari hasil nilai IC_{50} vitamin C dan sampel tanaman semanggi. Vitamin C dipergunakan sebagai kontrol positif maupun baku pembanding disebabkan dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder yakni menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya sangat tinggi serta vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain (Khartika Membri *et al.*, 2021). Walaupun maserasi tanaman semanggi menunjukkan aktivitas antioksidan tapi aktivitas antioksidannya tidak lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C, karena nilai IC_{50} sampel lebih besar dari nilai IC_{50} vitamin C. Hasil nilai IC_{50} vitamin C dan sampel menunjukkan aktivitas antioksidan yang

berbeda, hal ini bisa ditunjukkan dari hasil nilai IC_{50} vitamin C serta sampel tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*).

KESIMPULAN

Berlandaskan temuan hasil penelitian yang didapatkan terkait masalah yang diteliti, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil sampel ekstrak air tanaman semanggi (*Marsilea crenata C. Presl*) menunjukkan angka IC_{50} sebesar 351,04 ppm. Ekstrak air tanaman semanggi yang dipergunakan sebagai sampel termasuk kedalam kategori antioksidan yang lemah. Sedangkan hasil angka IC_{50} vitamin C sebesar 22,60 ppm. Vitamin C yang dipergunakan sebagai baku pembandingan termasuk kedalam kategori antioksidan yang sangat kuat.
2. Pada hasil penelitian ini bisa dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak bisa meningkatkan %inhibisi dari pembentukan radikal bebas namun peningkatannya tidak linier yg ditunjukkan dengan nilai R^2 tidak mendekati 0,99.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memahami bahwa terdapat pihak-pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian penelitian ini. Tidak ada tawaran yang lebih baik selain mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah banyak membantu. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua yang selalu mendukung, serta kepada dosen pembimbing yang telah sabar, meluangkan waktunya, memberikan tenaga dan pikirannya serta perhatian untuk membantu selama penulisan jurnal penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agne, E. B. P., Hastuti, R., & Khabibi. (2010). Ekstraksi dan Uji Kestabilan Zat Warna Betasianin dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) serta Aplikasinya sebagai Pewarna Alami Pangan. *Journal of Scientific and Applied Chemistry*,13(2). *Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang; Semarang 50275*, 51–56.
- Agus Adrianta, K., Nyoman Wahyu Udayani, N., & Meriyani, H. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryhidrazyl) Antioxidant Activity Of Leaf Extract Ethanol Rodent Tuber (*Typhonium flagelliforme*) Using DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryhidrazyl). In *Jurnal Ilmiah Medicamento*• (Vol. 3, Issue 1).

- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia. Pendidikan Kimia, Jurusan PMIPA FKIP, Univeristas Bengkulu*, :1(2)(2), 117–122.
- Anngela, O., Muadifah, A., & Nugraha, D. P. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Boraks pada Kerupuk Puli Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(4), 375–381. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i4.258>
- Denny, W. (2018). Buku Petunjuk Praktikum Skrining Fitokimia. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28942.61761>
- Dominica, D., & Handayani, D. (2019). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Lotion dari Ekstrak Daun Lengkung (*Dimocarpus Longan*) sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.20473/ifiki.v6i12019.1-7>
- Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 615.1 Ind f. (2017).
- Febrina, L., Rusli, R., & Muflihah, F. (2015). Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus Variegata Blume*). *J. Trop. Pharm. Chem.* 2015, 3(2).
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) Phytochemical Screening Ethanol Extract Skin Stem Moringa (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Indah Sayakti, P., Anisa, N., Ramadhan, H., Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru, S., & Selatan, K. (2022). Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta Crantz*) using CUPRAC method. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition*, 97–106. <http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF>
- Indriyah, S. N., Irma Permatasari, D. A., & Pratama, K. J. (2023). Penetapan Kadar Fenolik Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Batang Bajakah Kalalawit (*Uncaria Gambir Roxb*) Dengan Metode Frap. *Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta. Jurnal Kesehatan Tradisional*, 1(2), 147–158. <https://doi.org/10.47861/usd.v1i2..347>
- Khartika Membri, D., Yudistira, A., & Sumantri Abdullah, S. (2021). *Antioxidant Activity Test Of Liosina Paradoxa Sponge Ethanol Extract Collected From Mantehage Islands Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Liosina Paradoxa Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage.*
- Ma'arif, B., Agil, M., & Widyowati, R. (2020). Isolation of terpenoid compound of n-hexane extract of *Marsilea crenata* Presl. *Farmasains : Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kesehatan*, 4(2), 27–31. <https://doi.org/10.22219/farmasains.v4i2.10717>
- Maryam, S., Baits, M., & Nadia, A. (2016). Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Menggunakan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 115–118. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.181>

- Muharrami, L. K., Munawaroh, F., Ersam, T., & Santoso, D. M. (2017). Inventarisasi Tumbuhan Jamu Dan Skrining Fitokimia Kabupaten Sampang. *Jurnal Pena Sains*, 4(2).
- MYuliawati, K., Lukmayani, Y., & Maharani Patricia, V. (2022). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode FRAP dan Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Air Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). In *Pengujian Aktivitas Antioksidan Journal of Pharmacopolium* (Vol. 5, Issue 2).
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2017). Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. In *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* (Vol. 4, Issue 2).
- Nurhayati, N., Qonitah, F., Studi Farmasi, P., Sains Teknologi dan Kesehatan, F., Sahid Surakarta, U., Adi Sucipto No, J., & Tengah, J. (2022). Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(1).
- Purwaningsih, S., Salamah, E., Budiarti, T. A., Perikanan, F., Kelautan, I., & Pertanian Bogor, I. (2014). Formulasi Skin Lotion dengan Penambahan Karagenan dan Antioksidan Alami dari *Rhizophora mucronata* Lamk. Formulation of Skin Lotion with Addition of Carrageenan and Natural Antioxidant from *Rhizophora mucronata* Lamk. *Jurnal Akuatika*, 5(1), 55–62.
- Rahayu, S., Vifta, R. L., & Susilo, J. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Dari Kabupaten Lombok Utara Dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP *Antioxidant Activity Of Ethanolic Extract From Clitoria Ternatea From Lombok Utara And Wonosobo Regencies Using FRAP Assay*. In *Generics : Journal of Research in Pharmacy* (Vol. 1, Issue 2).
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. In *Media Pharmaceutica Indonesiana* (Vol. 2, Issue 2).
- Shinta, A., & Kusuma, W. (2015). *The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (Annona muricata L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde*. *J Majority*, 4(3), 14.
- Siskawati, Haeruddin, & Nurlansi. (2023). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Melalui Ekstraksi Maserasi. Universitas Halu Oleo, Kendari. *SAINS Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 12; 1. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Cendekia Journal of Pharmacy. STIKES Cendekia Utama Kudus*, Vol. 4, No. 2(P-ISSN 2559 – 2163 ; E-ISSN 2599 – 2155).
- Surya, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol The Hijau Kemasan Merek X Terhadap DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl). In *Alfin Surya/ JurnalAnalisKesehatanKlinikalSains* (Vol. 7, Issue 1). <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal>

- Syaron Manongko, P., Sientje Sangi, M., & Irma Momuat, L. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*). JURNAL MIPA 9 (2) 64-69. Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi.
- Theodora, C. T., Gunawan, I. W. G., & Swantara, I. M. D. (2019). Isolasi Dan Identifikasi Golongan Flavonoid Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L.*). Jurnal Kimia, 131. <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p02>
- Tiyaningsih, D. A. (2007). Studi Makroskopis, Mikroskopis Dan Skrining Fitokimia *Marselia crenta Presl.* 79.
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan. Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia. Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta. VOL.4 NO.2, 2022 (Vol. 4, Issue 2).
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : REVIEW. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Volume 16 Nomor 2.
- Yuningsih, F., Prodi, S. S., & Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, S. (2018). Perbandingan Aktivitas Inhibisi α -Amylase Dari Ekstrak Daun, Biji, Buah, Dan Kulit Batang Sirsak (*Annona muricata Linn*) Secara *Invitro*.