

Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 50% Daun *Rosemary* (*Rosmarinus officinalis* L.) menggunakan Metode DPPH

Galuh Gondo Kusumo^{1*)}, Nia Dwi Wahyuning Arum¹, Mercyska Suryandari¹, Andhika DwiAristyawan¹

¹Akademi Farmasi Surabaya

*)E-mail: kusumo.galuhgondo@gmail.com

Diterima : Februari 2023

Disetujui : Januari 2024

ABSTRAK

Rosemary merupakan tanaman rumput-rumputan yang termasuk dalam famili Lamiaceae dari genus *Rosmarinus*. Selain aktivitas antioksidan, minyak atsiri dari *rosemary* juga dilaporkan memiliki aktivitas antifungi dan antibakteri, antikanker, antiinflamasi, dan atidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas dari ekstrak etanol 50% daun *rosemary* (*Rosmarinus officinalis* L.). Daun *Rosemary* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 50% dengan perbandingan simplisia dengan pelarut sebesar 1 : 3. Metode spektrofotometri *Visible* menggunakan DPPH terpilih untuk menetapkan aktivitas antioksidannya. Pengujian dilakukan pada ekstrak *rosemary* dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan replikasi 3 kali. Sedangkan konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 40 ppm. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol 50% daun *rosemary* yang didapatkan adalah 35,388 ppm, yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% daun *rosemary* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

Kata kunci: *Rosemary*, Aktivitas antioksidan, DPPH.

Antioxidant Activity Test of 50% Ethanol Extract of Rosemary Leaves (*Rosmarinus officinalis* L.) using DPPH Method

ABSTRACT

Rosemary is a grass plant that belongs to the Lamiaceae family of the genus *Rosmarinus*. In addition to antioxidant activity, rosemary essential oil is also reported to have antifungal and antibacterial, anti-cancer, anti-inflammatory and anti-diabetic activities. This research aimed to determine the antioxidant activity of ethanol 50% extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). rosemary leaves were extracted by maceration extracting method using ethanol 50% with solvent-simplicia ratio 1: 3. Spectrophotometry *Visible* method with DPPH were selected to test antioxidant activity. Tests were carried out on rosemary extract with concentrations of 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm and 50 ppm with 3 replications. Meanwhile, the DPPH concentration used is 40 ppm. The IC₅₀ of 50% ethanol extract of rosemary leaves value obtained was 35.388 ppm, which shows that the 50% ethanol extract of rosemary leaves has antioxidant activity in the very strong category.

Keywords: *Rosemary*, Antioxidant activity, DPPH.

1. PENDAHULUAN

Seyawa antioksidan berperan dalam mencegah pembentukan radikal bebas dengan cara menangkap elektron bebas yang dimiliki oleh radikal bebas. Penangkapan elektron bebas tersebut dapat menstabilkan atom oksigen sehingga aktivitas oksidasi menjadi terhambat (1). Antioksidan dapat dijumpai di alam dalam bentuk metabolit sekunder berupa seyawa fenolik, golongan flavonoid, kumarin, tokoferol, turunan asam sinamat dan asam organik (2).

Rosemary merupakan tanaman rumput-rumputan yang termasuk dalam famili Lamiaceae dari genus *Rosmarinus*. *Rosemary* merupakan tanaman yang tumbuh di daerah mediteranian dan banyak digunakan sebagai bumbu dalam berbagai macam kuliner. Tanaman ini kaya akan minyak atsiri sebagaimana tanaman-tanaman dari famili Lamiaceae yang lain (3). Selain minyak atsiri, terdapat pula kandungan fenolik, asam karnosat dan asam rosmarinat yang merupakan komponen utama

yang diduga memiliki aktivitas antioksidan (4). Selain aktivitas antioksidan, minyak atsiri dari *rosemary* juga dilaporkan memiliki aktivitas antifungi dan antibakteri, atikanker, antiinflamasi, dan atidiabetes(2).

Dalam proses ekstraksi, jenis pelarut dan konsentrasi campuran pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi dan kandungan ekstrak yang dihasilkan. Etanol yang merupakan pelarut universal, dapat menarik semua jenis senyawa, baik seyawa-senyawa polar maupun non-polar. Penggunaan pelarut etanol 50% diharapkan dapat lebih spesifik menarik senyawa-senyawa polar yang memiliki aktivitas antioksidan sebagaimana yang telah disebutkan diatas (5).

Dengan banyaknya kandungan yang memiliki aktivitas antioksidan, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah jika daun *rosemary* diekstraksi dengan menggunakan etanol 50%, masih memiliki aktivitas antioksidan jika diuji dengan menggunakan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak daun *rosemary* dengan metode maserasi yaitu penggilingan atau blender, timbangan, wadah bejana, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, corong, batang pengaduk, kertas saring, kain serkai, tabung reaksi, wadah toples gelap, Spektrofotometri UV Vis, dan *Rotary Vacum evaporator*.

Bahan yang digunakan adalah daun *rosemary*, DPPH (smartlab), etanol 96% (smartlab), dan Metanol p.a. (smartlab).

2.2 Ekstraksi

Etanol 50% dibuat dari pengenceran etanol 96%. Sebanyak 200 gram serbuk *rosemary* diekstraksi menggunakan 600 ml pelarut etanol 50% dengan metode maserasi selama tiga hari. Setelah maserat dipisahkan dari residu simplisia, maserat kemudian dikentalkan dengan *rotary vacum evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dioven pada suhu 40°C hingga didapatkan bobot konstan. Ekstrak etanol 50% daun *rosemary* kemudian dibuat dalam konsentrasi 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm dalam metanol untuk pengujian antioksidan (1).

Rendemen dihitung dengan rumus perhitungan berikut ini

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

2.3 Pembuatan larutan DPPH dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 40ppm dibuat dengan menimbang 4mg DPPH dan dilarutkan dalam metanol ad 100ml.

Blanko DPPH dibuat dengan memipet sebanyak 2ml larutan DPPH ditambah dengan 1ml metanol dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 30 menit. Blanko tersebut kemudian diukur panjang gelombang maksimalnya dengan melakukan skrining pada panjang gelombang 200-800nm menggunakan spektrofotometer *Thermo tipe Genesys 10S UV-VIS*.

2.4 Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk asam askorbat dibuat dengan menimbang 10 mg asam askorbat kemudian dilarutkan dalam metanol ad 10 ml. Larutan uji dibuat pada konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm (1,6 dan 7).

Larutan induk ekstrak daun *rosemary* dibuat dengan menimbang 10 mg ekstrak dan dilarutkan dalam metanol ad 10 ml. Larutan uji dibuat pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (1).

2.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 1ml dan ditambahkan 2ml DPPH. Campura dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Campuran diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal dan dicatat absorbansinya (1).

Perhitungan aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan % peredaman seperti rumus berikut ini (6).

$$\% \text{peredaman} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{blanko} = Absorbansi blanko DPPH

A_{sampel} = Absorbansi DPPH yang telah ditambah dengan sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 200 gram simplisia daun *rosemary* yang digunakan, didapatkan ekstrak etanol 50% sebanyak 17,48 gram sehingga rendemen yang didapatkan adalah sebesar 8,74%.

Panjang gelombang maksimal yang didapatkan adalah pada panjang gelombang 517nm. Hasil ini sama dengan beberapa literatur yang digunakan seperti penelitian Kusumo, 2022 dan Dipahayu, 2021. (6,7).

Pada pengujian antioksidan yang dilakukan pada asam askorbat, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 1 Hasil pengukuran % Peredaman Seri Larutan Baku asam askorbat

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	% peredaman
1	1,01	8,205
	2,02	19,133
	3,03	29,902
	4,04	39,221
	5,05	52,433
2	1	8,065
	2	13,054
	3	29,624
	4	39,221
	5	52,234
3	1,02	10,232
	2,04	18,358
	3,06	27,816
	4,08	37,273
	5,1	49,374

Dari hasil pengukuran % peredaman yang diperoleh pada tabel 1, selanjutnya digunakan untuk memperoleh persamaan regresi linier dengan memasukkan nilai konsentrasi asam askorbat sebagai nilai X dan % peredaman sebagai nilai Y. Kemudian persamaan regresi yang didapatkan digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀. Perhitungan nilai IC₅₀ terlihat pada tabel 2 berikut ini.

Tabel 2 Nilai IC₅₀ Seri Larutan Baku Asam askorbat

Replikasi	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
1	$y = 10,746x - 2,784$ $r = 0,998$	4,911	5,050
2	$y = 11,450x - 5,911$ $r = 0,990$	4,883	
3	$y = 9,529x - 0,549$ $r = 0,997$	5,357	

Dari data yang diperoleh nilai IC₅₀ seri larutan baku asam askorbat sebesar $5,050 \pm 0,266$ ppm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan asam askorbat masuk dalam kategori sangat kuat. Nilai RSD

dari ketiga replikasi IC₅₀ adalah sebesar 0,05266 atau 5,27%. Hal ini menunjukkan bahwa presisi metode analisis antioksidan dengan metode DPPH yang dilakukan pada asam askorbat memenuhi persyaratan yang diajukan oleh FDA yaitu sebesar 15% (8,9).

Tabel berikut dibawah ini merupakan tabel hasil perhitungan % peredaman dari absorbansi ekstrak etanol 50% daun *rosemary*.

Tabel 3 Hasil Perhitungan % Peredaman Ekstrak Etanol 50% Daun *Rosemary*

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	% Peredaman
1	10,3	30,210
	20,6	48,949
	30,9	57,996
	41,2	70,436
	51,5	75,282
2	10,4	19,141
	20,8	22,331
	31,2	33,742
	41,6	47,607
	52	65,398
3	10,1	5,786
	20,2	23,773
	30,3	34,842
	40,4	50,440
	50,5	68,427

Sebagaimana yang dilakukan pada asam askorbat, % peredaman diatas digunakan untuk memperoleh persamaan regresi linier dengan memasukkan nilai konsentrasi ekstrak sebagai nilai X dan % peredaman sebagai nilai Y. Kemudian persamaan regresi yang didapatkan digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀. Perhitungan nilai IC₅₀ terlihat pada tabel 4 berikut ini.

Tabel 4 Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol 50% Daun *Rosemary*

Replikasi	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
1	$y = 1,083x + 23,085$ $r = 0,980$	24,852	35,388
2	$y = 1,132x + 2,306$ $r = 0,974$	42,132	
3	$y = 1,504x - 8,931$ $r = 0,997$	39,182	

Dari data IC₅₀ seri ekstrak etanol 50% daun *rosemary* didapatkan bahwa nilai rata-rata IC₅₀ nya adalah sebesar $35,388 \pm 9,243$ ppm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak

etanol 50% daun *rosemary* masuk dalam kategori sangat kuat (10). Nilai RSD dari ketiga replikasi IC₅₀ adalah sebesar 0,2612 atau 26,12%. Hal ini menunjukkan bahwa pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50% daun *rosemary* yang diuji dengan metode DPPH tidak memiliki presisi yang bagus berdasarkan persyaratan dari FDA (8,9).

Ketidak presisian hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50% daun *rosemary* dapat disebabkan oleh beberapa hal. Di antara penyebabnya adalah ekstrak kental yang tidak kurang homogenan ekstrak kental yang ditimbang untuk pengujian antioksidan. Selain itu, kurang telitian saat pengenceran juga dapat menyebabkan presisi yang buruk pada pengujian. Semakin kecil konsentrasi yang diencerkan, maka semakin besar kemungkinan kesalahannya (7).

Aktivitas antioksidan daun *rosemary* disebabkan oleh peran kadungan *rosemary* berupa polifenol, da asam rosmarinat yang memiliki gugus hidroksil yang dapat menyumbangkan elektron ke senyawa radikal bebas (1,6).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan kategori yang digunakan Rahman dkk. dalam penetapan kategori aktivitas antioksidan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 50% daun *rosemary* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami penulis ucapkan kepada direktur Akademi Farmasi Surabaya yang telah mengijinkan penelitian ini dilaksanakan di laboratorium instrumen Akademi Farmasi Surabaya.

6. PENDANAAN

Pendanaan penelitian ini adalah berasal dari pendanaan penelitian internal Akademi Farmasi Surabaya.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aristyawan DA, Windari AA, Suryandari M, Kusumo GG. Antioxidant Activity from Methanol Extract

of Kratom Leaves (*Mitragyna speciosa*) Maseration Result Using The DPPH Method. *Journal Pharmasci*. 2023; 8(2) : 137-142.

2. Arpiwi NL, Suarni NMR. Essential Oil from Fresh and Dry Leaves of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) : Antioxydant Activity and Microscopic Structure. *Jununs*. 2023; 50(3) : 84-93.
3. Prasetyo BF, Hadi UK, Winarto TN. The Potency of Rosemary Essential Oil on Tick Lethal Time *In Vitro* test. *IJB*. 2022; 2(3) : 121-128.
4. Li Pomi F, Papa V, Borgia F, Vaccaro M, Allegra A, Cicero N, Gangemi S. *Rosmarinus officinalis* and Skin: Antioxidant Activity and Possible Therapeutical Role in Cutaneous Diseases. *Antioxidants*, 2023; 12, 680. <https://doi.org/10.3390/antiox12030680>.
5. Julianto TS. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokima. Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia. 2019.
6. Kusumo GG, Dipahayu D. Pengaruh Formulasi Nano Ekstrak terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) varietas Atin-3. *Journal Pharmasci*. 2022; 7(1) : 43-47.
7. Dipahayu D, Kusumo GG. Formulasi dan Evaluasi Nano Partikel Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) varietas Antin-3. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2021; 3(6) : 781-785.
8. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2004; 3(6) : 117-135.
9. FDA. Guidelines for the Validation of Chemical Methods in Food, Feed, Cosmetics, and Veterinary Products. USA : FDA Foods Program Regulatory Science Steering Committee (RSSC). 2019; p. 6-9.
10. Purwanto D, Bahri S, Ridhay A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea blume*.) dengan Berbagai Pelarut. *KOVALEN*, 2017; 3(1): 24-32.