
Karakterisasi Fraksi Aktif Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Dede Sukandar, Sandra Hermanto, Eka Rizki Amelia, Chitta Putri Noviani

Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
Jalan Ir. H. Juanda No 95 Ciputat 15412 Indonesia Telp. (62-21) 7493606

Email: sukandarkimia@uinjkt.ac.id

Received: January 2015; Revised: February 2015; Accepted: May 2015; Available Online: August 2016

Abstrak

Karakterisasi senyawa antioksidan dari hasil fraksinasi ekstrak etanol biji kemangi (*Ocimum basilicum* L.) telah dilakukan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom, uji antioksidan menggunakan metode DPPH, dan karakterisasi senyawa antioksidan menggunakan GCMS. Ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ekstrak etanol biji kemangi menggunakan heksana, etil asetat, butanol dan metanol-air menunjukkan bahwa ekstrak butanol mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 41.90 ppm. Hasil kromatografi kolom ekstrak butanol dengan fase gerak heksana : etil asetat (1:9) menghasilkan 5 fraksi dengan fraksi 4 mempunyai noda dominan yang aktif antioksidan setelah disemprot pereaksi DPPH yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 39.70 ppm dan total fenolik sebesar 0,003 mg/g. Isolat F4 diduga mengandung dua senyawa yang aktif sebagai antioksidan yang merupakan golongan terpenoid dan fenolik, yaitu skualena dan 2,4-di-tert-butyl-fenol yang diidentifikasi dengan GCMS.

Kata kunci : Biji kemangi (*Ocimum basilicum* L.), ekstrak etanol, antioksidan, DPPH, fenolik.

Abstract

Characterization of antioxidant compounds from the seeds of basil (*Ocimum basilicum* L.) has been done. Extraction is done by maceration method using ethanol solvent, fractionation by TLC and column chromatography, antioxidants test using DPPH method, and characterization of antioxidant compound using GCMS. Ethanol extract and results of fractionation ethanol extract of basil seeds using hexane, ethyl acetate, butanol and methanol-water extracts show that butanol extract has the highest antioxidant activity with IC_{50} values of 41.90 ppm. Results of column chromatography n-butanol extract using hexane : ethyl acetate (1:9) as mobile phase yielded 5 fractions with fraction 4 has dominant stain of active antioxidants after being sprayed DPPH reagent, it had IC_{50} values of 39.70 ppm and total phenolic content of 0.003 mg/g. Isolate F4 suspected contains two active compounds as antioxidant which is terpenoid and phenolic compound group, namely squalene and 1,4-di-tert-butyl-phenol identified by GCMS.

Keywords: Basil Seeds (*Ocimum basilicum* L.), ethanol extract, antioxidant, DPPH, phenolic.

DOI : <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3598>.

1. PENDAHULUAN

Pada saat ini penggunaan senyawa antioksidan alami berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Senyawa antioksidan tersebut dapat diperoleh dari tanaman yang biasanya tersebar di beberapa bagian tanaman tersebut seperti kayu,

kulit kayu, kulit buah, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk pati (Pratt, 1992). Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai tanaman obat. Beberapa jenis tanaman, dari keluarga Lamiaceae, seperti *sage* (*Salvia officinalis*), *oregano* (*Origanum vulgare*), *thyme* (*Thymus vulgaris*) (Hirasa dan Takemasa, 1998) dan

khususnya dari genus *Ocimum*, seperti *Ocimum sanctum* (Nurchayanti *et al.*, 2011), *Ocimum americanum* (Sukandar *et al.*, 2012) memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Tanaman genus *Ocimum* lain yang juga diduga memiliki aktivitas antioksidan, yaitu kemangi (*Ocimum basilicum* L.).



(a)



(b)

Gambar 1. (a) Tanaman kemangi, (b) biji kemangi (Dokumen Pribadi, 2013).

Kemangi memiliki nama yang berbeda-beda pada setiap daerah di Indonesia dan juga di beberapa negara lain. Kemangi disebut juga tulusi, tulusi, *holy basil*, *sacred basil*, *shrubby basil*, dan *sweet basil* (WHO, 2002). Kemangi di Indonesia dikenal dengan berbagai nama, yaitu lampes atau surawung di Sunda, kemangi atau kemangen di Jawa, kemanghi di Madura, uku-uku di Bali, dan lufe-lufe di Ternate. Sedangkan di Negara lain kemangi dikenal dengan nama selasih di Malaysia, manglak di Thailand dan basil di Negara-negara Eropa (Heyne, 1987). Menurut Pitojo (1996), sistematika kemangi adalah sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta,

Kelas: Dicotyledonae, Ordo: Amaranthaceae, Famili: Lamiaceae, Genus: *Ocimum*, dan Spesies: *Ocimum basilicum* L.

Kemangi merupakan tanaman yang keberadaannya cukup banyak di Indonesia. Secara tradisional, daun kemangi telah digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan beberapa penyakit, seperti sakit kepala, batuk, diare, sembelit, penyakit kulit, penyakit cacingan dan gagal ginjal. Selain itu, kemangi juga sering digunakan sebagai penambah aroma pada makanan (Simon *et al.*, 1999). Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap genus *Ocimum*, diketahui bahwa ekstrak etanol daun dan biji *O. sanctum* selain mengandung minyak atsiri juga mengandung saponin, flavonoid, dan tanin (Hutapea, 1994). Selain itu, ekstrak metanol biji *O. sanctum* memiliki kadar total fenolik sebesar 3.63 ± 0.21 mg/g, aktivitas antioksidan sebesar $58.39 \mu\text{ek/g} \pm 3.81$ dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan nilai IC_{50} sebesar 59.27 ppm dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Nurchayanti *et al.*, 2011).

Sukandar *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak etanol biji *O. americanum* positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid serta memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 44.16 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm (Mardawati *et al.*, 2008). Hasil uji ekstrak aseton biji *O. basilicum* yang dikumpulkan dari 23 kota di Iran menunjukkan total fenolik sebesar 22.9-65.5 mg/g (Javanmardi *et al.*, 2003), serta telah diisolasi asam-9Z,12Z,15Z-oktadekatrienoat dari ekstrak n-heksan biji *O. basilicum* dengan indeks bias 1.46 dan densitas 0,85 g/ml (Fasya *et al.*, 2012). Raja *et al.* (2012) menambahkan bahwa ekstrak etanol biji *O. basilicum* mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, minyak atsiri, dan saponin.

Penelitian mengenai senyawa yang diduga bersifat antioksidan dalam ekstrak etanol biji *O. basilicum* belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, maka perlu dilakukan karakterisasi senyawa antioksidan dari hasil fraksinasi ekstrak etanol biji kemangi (*O. basilicum*) menggunakan GCMS sehingga dapat dijadikan sebagai bahan antioksidan alami.

2. METODE PENELITIAN

Bahan Tanaman

Sampel biji *O. basilicum* L. diperoleh dari Kelurahan Kampung Sawah, Kecamatan Kemang, Kabupaten Bogor dan telah dideterminasi dan spesimennya diimpan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong, Bogor.

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering biji *O. basilicum* L. (1 kg) dimaserasi menggunakan etanol selama 3x24 jam. Ekstrak etanol kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* vakum sehingga diperoleh padatan coklat kehijauan (30.8 g) kemudian dilakukan uji fitokimia. Ekstrak etanol dilarutkan dalam etanol: H₂O (1:1) dan dipartisi berturut-turut dengan heksana, etil asetat, dan butanol. Selanjutnya ekstrak etanol, heksana, etil asetat, butanol, dan etanol:H₂O diuji aktivitas antioksidan dan total fenolik. Ekstrak butanol dianalisa menggunakan KLT (heksana:etil asetat = 1:9) dan difraksinasi KKG (heksana:etil asetat = 1:9) menghasilkan 16 fraksi. Fraksi 1-5 diuji aktivitas antioksidan menggunakan KLT autografi dan fraksi teraktif F4 (Rf=0.67) diuji aktivitas antioksidan dan total fenolik serta dikarakterisasi komponen kimianya menggunakan GCMS.

Uji Autografi Antioksidan

Fraksi hasil kromatografi kolom diuji autografi antioksidan dengan menggunakan plat KLT dengan eluen heksana: etil asetat (1:9). Noda yang tampak diamati pada sinar UV ($\lambda = 254$ nm) dan UV ($\lambda = 366$ nm) serta dihitung nilai Rf-nya (Asih, 2007). Kemudian disemprotkan dengan larutan DPPH 0.05%, dikering anginkan dan diamati terbentuknya warna jingga atau kuning dengan latar berwarna ungu yang menunjukkan aktivitas penghambatan radikal DPPH (Sukandar *et al.*, 2010).

Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel sebanyak 2 mg dan dilarutkan dalam 10 ml metanol (pa) sehingga diperoleh konsentrasi sampel sebesar 200 ppm dan dibuat larutan baku dengan variasi konsentrasi 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, dan 12,5 ppm. Masing-masing sampel dipipet sebanyak 2 ml dan ditambahkan dengan 2 ml DPPH 0.002% dan diinkubasi selama 30 menit lalu

diukur pada λ 517 nm. Kemudian dihitung persen inhibisinya dan diekstrapolasi ke dalam persamaan regresi linier hingga didapat IC₅₀-nya.

Penentuan Total Fenolik

Sampel sebanyak 2.5 mg ditambahkan dengan 2.5 ml aquades, kemudian ditambahkan 0.5 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:1) dan diinkubasi selama 3 menit. Lalu ditambahkan 2 ml larutan NaCO₃ 20% dan dibiarkan pada *water bath* yang mendidih selama 1 menit. Setelah didinginkan pada *ice bath*, diukur nilai absorbansinya pada λ 750 nm. Larutan standar yang digunakan adalah larutan asam galat 0-500 ppm. Jumlah kandungan fenolik sebanding dengan jumlah mg ekuivalen asam galat dalam 1 gram berat sampel kering.

Analisa dengan GCMS. Isolat hasil kolom dilarutkan dengan metanol kemudian instrumen GCMS diatur kondisi yang sesuai. Sampel diinjeksikan ke instrumen yang telah mencapai kondisi optimum dan direkam kromatogramnya yang kemudian dibandingkan dengan *Wiley7 Library* GCMS Merck Shimadzu QP2010. Kondisi GCMS yang digunakan sebagai berikut: jenis kolom RTx1-MS Restech *Polymethyl xiloxan*, diameter kolom, 6.25 mm, suhu kolom 50 °C, tekanan 53.6 kPa, aliran kolom 1,00 ml/menit, kecepatan linear 36.3 cm/detik dan fase gerak gas helium.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dengan hasil uji sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Pengujian Fitokimia

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol
Saponin	+
Tanin/Fenolik	+
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Terpenoid	+
Kuinon	+

Keterangan :
+ = Terdeteksi
- = Tidak terdeteksi

Tabel 2. Persen Rendemen dan Aktivitas Antioksidan

Sampel	% Rendemen	IC ₅₀ (ppm)	Total Fenolik (mg/g)
Vit. C (Standar)		2.99	
Ekstrak Etanol	30.80	67.08	3.85
Ekstrak n-Heksan	23.70	483.04	
Ekstrak Etil asetat	10.32	197.10	
Ekstrak n-Butanol	11.88	41.90	0.24
Ekstrak Etanol-air	42.40	165.25	

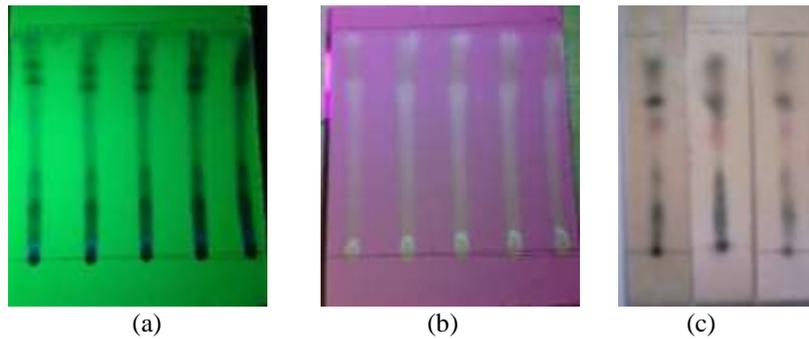
Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol positif terhadap semua golongan senyawa yang diujikan, yaitu saponin, tanin/fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan kuinon. Sesuai dengan penelitian Fasya *et al.*, (2012) bahwa ekstrak etanol biji *O. basilicum* mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, asam amino, dan minyak atsiri. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan pada ekstrak tersebut. Metode pengujian DPPH berdasarkan pada kemampuan substansi antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Adapun persen rendemen hasil fraksinasi dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.

Ekstrak dengan persen rendemen terbesar adalah ekstrak etanol-air sebesar 42.40% karena golongan senyawa yang terkandung dalam biji kemangi kebanyakan mempunyai kepolaran yang hampir sama dengan pelarut etanol-air sehingga senyawa tersebut cenderung larut pada etanol-air. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi adalah ekstrak n-butanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 41.90 ppm. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC₅₀ bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC₅₀ adalah 151-200 ppm (Mardawati *et al.*, 2008). Nilai IC₅₀ ekstrak n-butanol lebih tinggi dibanding ekstrak etanol sebelum fraksinasi (IC₅₀ 67.08 ppm) hal ini sesuai dengan pernyataan Abbas *et al.* (2010) bahwa teknik pemurnian melalui fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan aktivitas yang lebih tinggi. Jika dibandingkan dengan penelitian lain, ekstrak n-butanol biji *O. basilicum* yang didapat memiliki

nilai IC₅₀ lebih besar dari ekstrak etanol biji *O. basilicum* yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 356.21 ppm (Patil *et al.*, 2011), ekstrak etil asetat dan aseton biji *O. sanctum* yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 80.90 ppm, dan 141.37 ppm, ekstrak metanol biji *O. sanctum* yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 59.27 ppm (Nurchayanti *et al.*, 2011).

Semakin besar konsentrasi maka terjadi peningkatan persen inhibisi. Hal ini dikarenakan intensitas warna larutan DPPH berkurang dari ungu menjadi kuning seiring bertambahnya konsentrasi yang disebabkan tidak terjadinya reaksi resonansi molekul DPPH (Pratimasari, 2009). Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C atau asam askorbat karena merupakan antioksidan alami yang dapat langsung menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Padayatty (2003) menyatakan bahwa reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Setelah terbentuk, asam dehidroaskorbat sebagian dapat tereduksi kembali menjadi asam askorbat dengan bantuan enzim 4-hidroksifenilpiruvat dioksigenase di dalam tubuh, sebagian lainnya akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat.

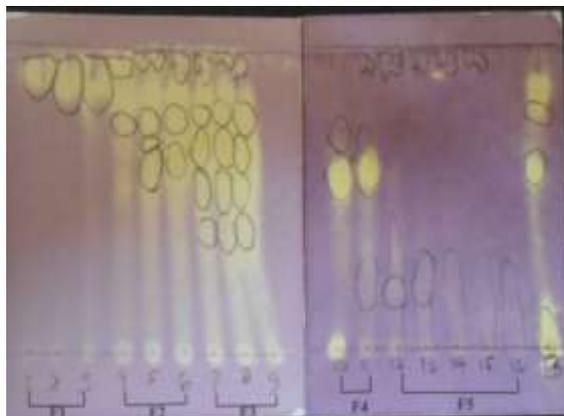
Ekstrak n-butanol yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi selanjutnya dipisahkan dengan menggunakan metode KLT. Metode KLT digunakan karena merupakan metode pemisahan awal untuk menentukan fase gerak yang akan digunakan untuk kromatografi kolom. Hasil analisa kromatografi lapis tipis ekstrak butanol biji kemangi ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak n-Butanol
Keterangan: (a) di bawah lampu UV₂₅₄ (b) di bawah lampu UV₃₆₆ (c) Setelah disemprot FeCl₃

Profil KLT menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:9) yang kemudian plat KLT disemprot dengan pereaksi FeCl₃ 1% yang bertujuan selain untuk memperjelas noda yang terbentuk pada plat KLT, juga untuk mengetahui adanya gugus fenol senyawa fenolik pada noda (Harborne, 1996) dengan membentuk warna hijau, merah bata, ungu atau hitam kuat, tergantung pada struktur fenoliknya (Achmadi, 1990). Hasil yang didapat empat noda berwarna hijau lembayung dengan Rf masing-masing adalah 0.18; 0.34; 0.75 dan 0.85 dan satu noda dengan Rf 0.67 berwarna merah lembayung.

Kemudian sebanyak 200 mg ekstrak n-butanol difraksinasi menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam Silika Gel 60 0.2-0.5 mm Merck dan menggunakan fasa gerak campuran n-heksan : etil asetat (1:9). Dari hasil fraksinasi diperoleh 16 macam fraksi yang masing-masing ditampung sebanyak 2 ml dan diidentifikasi dengan menggunakan KLT. Hasil identifikasi pola noda pada plat KLT dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil KLT Fraksi Kolom Setelah Disemprot DPPH

Tabel 3. Hasil KLT dari Fraksi n-Butanol Hasil Kromatografi Kolom

Fraksi	No botol vial	Berat (mg)	% Rendemen
F1	1-3	130.50	65.25%
F2	4-6	29.40	14.70%
F3	7-9	12.47	6.24%
F4	10-11	5.55	2.78%
F5	12-16	7.30	3.65%

Fraksi yang menunjukkan pola noda dengan warna dan nilai Rf yang sama digabungkan, sehingga diperoleh 5 fraksi gabungan dengan masing-masing berat fraksi gabungan dapat dilihat pada Tabel 3. Pada gambar 3 terdapat noda dominan dengan Rf yang sama yang menunjukkan aktif terhadap antioksidan setelah disemprotkan DPPH pada F4 dengan Rf 0.67. Uji autografi menggunakan pereaksi DPPH bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa yang bersifat aktif antioksidan yang ditunjukkan dengan perubahan warna ungu menjadi kuning (Sukandar *et al.*, 2012).

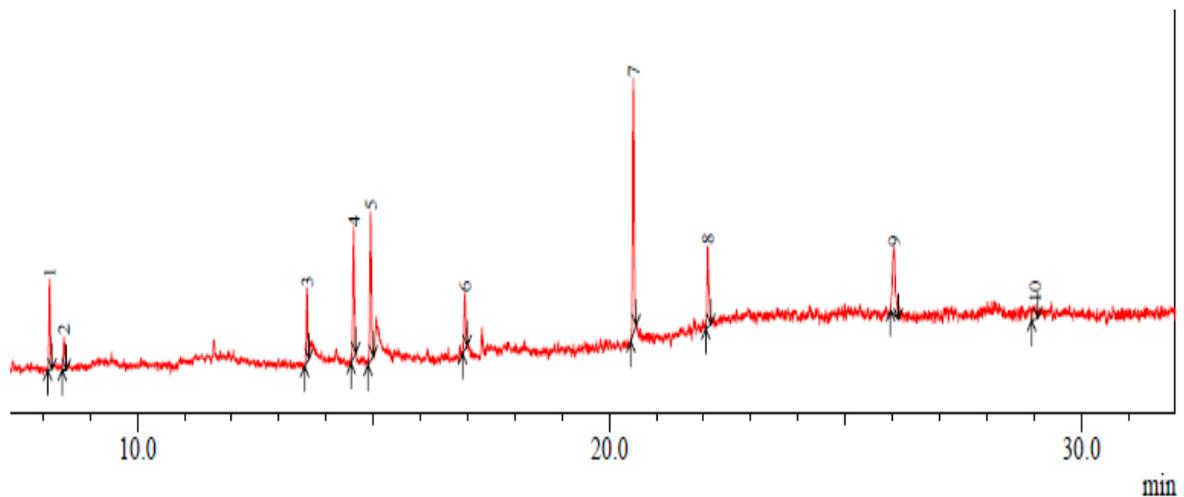
Fraksi F4 memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 39.70 ppm dan total fenolik 0.003 mg/g. Nilai IC₅₀ isolat F4 lebih kecil dibandingkan ekstrak n-butanol (IC₅₀ 41.90 ppm) dan ekstrak etanol (IC₅₀ 67.08 ppm) yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan isolat F4 mengalami peningkatan setelah dilakukan fraksinasi. Abbas *et al.* (2010) menyatakan bahwa senyawa murni memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasarnya. Didukung pula oleh penelitian Rachmawati dan Ciptati (2011) yang melaporkan bahwa aktivitas antioksidan isolat hasil pemurnian

ekstrak etil asetat daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 50.91 ppm lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetatnya (IC₅₀ 127.74 ppm). Tetapi terjadi penurunan total fenolik dari ekstrak n-butanol 0.24 mg/g menjadi 0.003 mg/g pada fraksi F4. Hal ini mengindikasikan bahwa tingginya aktivitas antioksidan pada fraksi F4 dipengaruhi oleh senyawa selain fenolik, seperti senyawa golongan terpenoid (Bando *et al.*, 2004).

Hasil identifikasi menggunakan GCMS menghasilkan beberapa puncak kromatogram yang menunjukkan bahwa fraksi F4 belum murni (gambar 4).

Berdasarkan data pada *Wiley7 Library* GCMS Merck Shimadzu QP2010 terdapat sembilan senyawa dalam fraksi F4. Hasil analisa senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 4. Diantara senyawa-senyawa tersebut diduga senyawa yang bersifat antioksidan pada

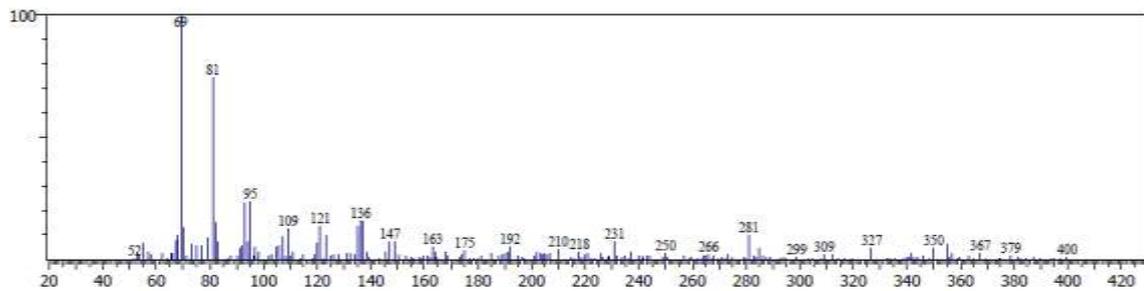
fraksi F4 adalah senyawa skualena yang memiliki kemiripan 80% dengan waktu retensi 26.04 menit dan luas puncak 12.34 %. Senyawa skualena memiliki massa molekul relatif (m/z) 410 dengan rumus molekul C₃₀H₅₀. Hal ini didukung oleh Conforti *et al.* (2005) yang melaporkan uji antioksidan dari skualena dengan metode TBA memiliki nilai IC₅₀ sebesar 23 ppm. Sedangkan skualena juga telah dilaporkan memiliki sifat antioksidan sebagai *scavenger oxygen* yang sangat efektif. Fungsi skualena sebagai pemadam oksigen singlet dapat mencegah peroksidasi lipid pada permukaan kulit manusia (Saint-Leger *et al.*, 1986). Aktivitas antioksidan skualena ini dipengaruhi oleh strukturnya yang mirip dengan β-karoten yang juga dikenal sebagai pemadam oksigen singlet yang bekerja sama dengan vitamin E yang bertindak sebagai agen perlindungan kulit (Bando *et al.*, 2004).



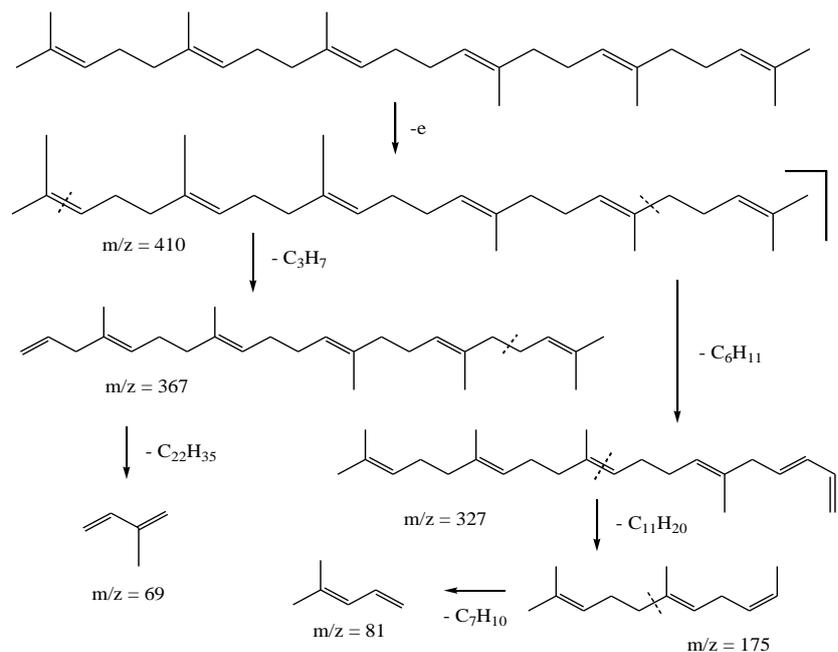
Gambar 4. Kromatogram GC Fraksi F4

Tabel 4. Kandungan Senyawa Fraksi F4

No	Waktu Retensi	% Area	m/z	Rumus Molekul	Prediksi Senyawa
1	8.15	7.76	206	C ₁₄ H ₂₂ O	2,4-di-tert-butyl-fenol
2	8.45	3.26	214	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	metil laurat
3	13.59	6.49	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	diisobutil ftalat
4	14.59	12.20	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	metil heksadekanoat
5	14.94	14.01	282	C ₁₄ H ₁₈ O ₆	2-metoksietil ftalat
6	16.94	5.87	296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	metil elaidat asam heksadekanoat, bis(2-etilheksil)
7	20.51	25.24	370	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	ester
8	22.09	9.25	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	asam ftalat, mono-(2-etilheksil) ester
9	26.04	12.34	410	C ₃₀ H ₅₀	skualena



Gambar 5. Spektrogram Masa Senyawa Skualena



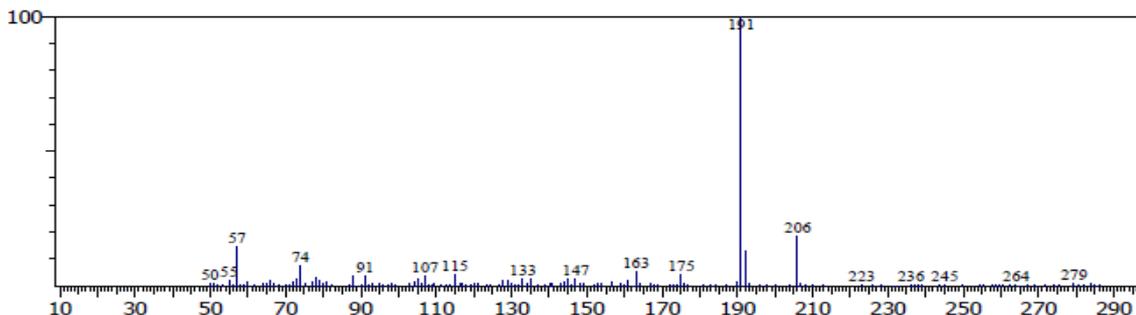
Gambar 6. Perkiraan Pola Fragmentasi Senyawa Skualena

Hasil spektrum massa fraksi F4 dengan massa molekul relatif (m/z) 410 menunjukkan adanya beberapa puncak hasil fragmentasi senyawa. Spektrogram masa senyawa skualena terlihat pada gambar 5. Adapun perkiraan pola fragmentasi dari senyawa yang diperkirakan memiliki kemiripan dengan pola fragmentasi skualena tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.

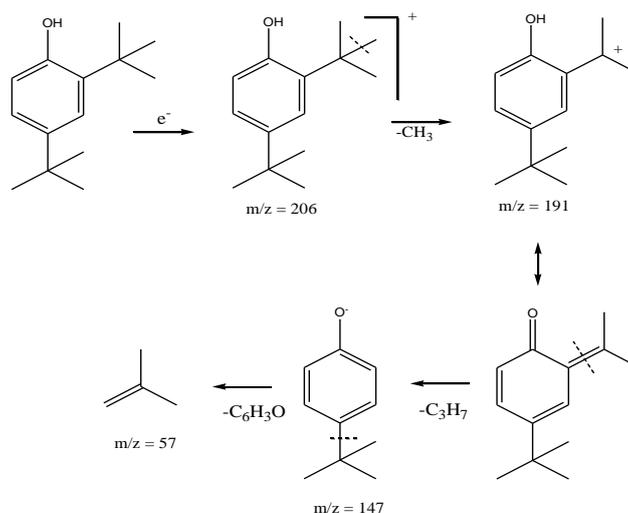
Senyawa skualena pada m/z 410 (M^+) kehilangan ion propil ($M^+ - C_3H_7$) sehingga membentuk puncak ion m/z 367. Fragmen ion pada m/z 327 sesuai dengan hilangnya ion C_6H_{11} dengan masa 83 (Oyugi *et al.*, 2011). Selanjutnya kemungkinan terjadi pemutusan berturut-turut $M^+ - C_{11}H_{20}$ dan $M^+ - C_7H_{10}$ dari puncak ion m/z 327 hingga menjadi membentuk m/z 175 dan m/z 81. Fragmen ion m/z 367 diusulkan kehilangan masa 298

membentuk puncak ion m/z 69 sebagai *base ion*.

Senyawa lain yang diduga mendukung aktivitas antioksidan pada fraksi F4 adalah 2,4-di-tert-butyl-fenol. Senyawa ini pula yang mungkin memberikan kontribusi pada kandungan total fenolik dari isolat F4. Senyawa 2,4-di-tert-butyl-fenol merupakan senyawa fenol yang umumnya adalah senyawa antioksidan (Pratt, 1992). Selain itu, Nurestri *et al.* (2010) melaporkan bahwa hasil isolasi fraksi etil asetat *Pesreskia bleo* yang mengandung senyawa 2,4-di-tert-butyl-fenol memiliki aktivitas antioksidan terkait dengan strukturnya yang mirip dengan BHT (Butil Hidroksi Toluena), yaitu suatu antioksidan sintetik. Nurestri *et al.* (2009) juga menyebutkan bahwa senyawa 2,4-di-tert-butyl-fenol hasil isolasi fraksi etil asetat daun *Pereskia grandifolia* memiliki aktivitas



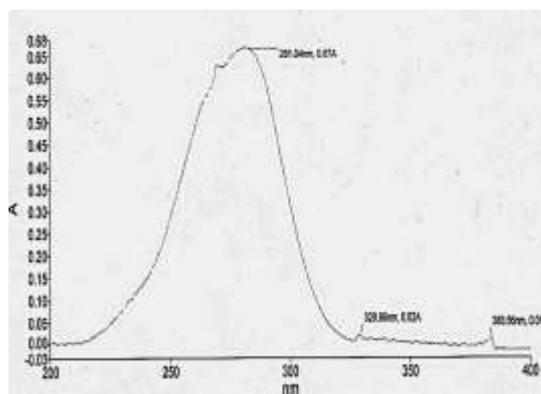
Gambar 7. Spektrogram masa senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol



Gambar 8. Perkiraan pola fragmentasi senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol

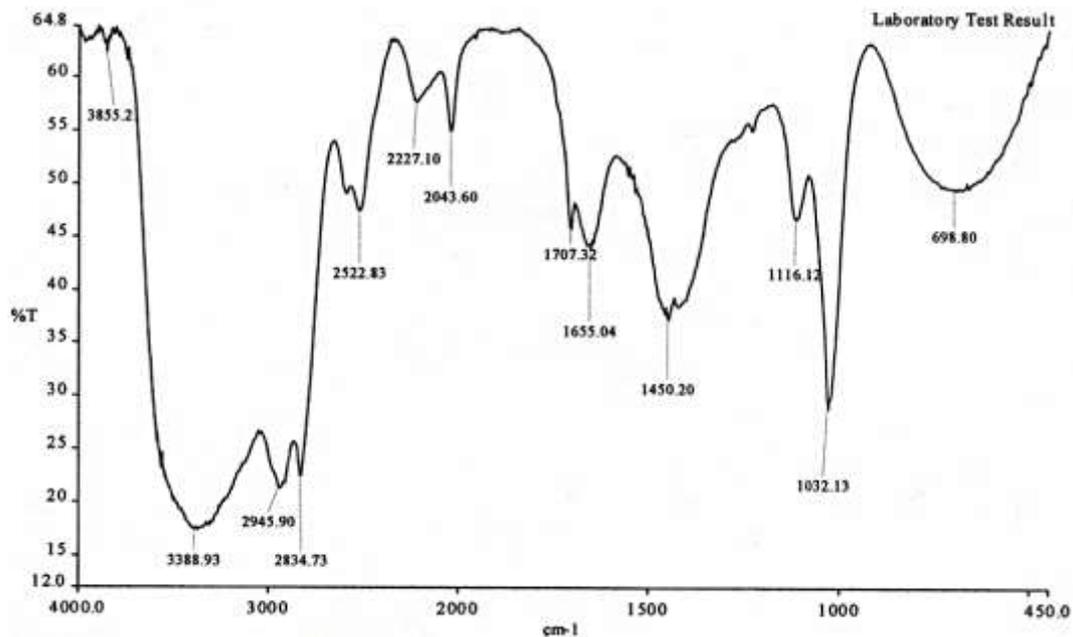
terhadap 6 jenis sel kanker, yaitu sel kanker epidermoid nasofaring, serviks, kolon, payudara, paru-paru dan fibroblast manusia.

Berdasarkan analisa GCMS, 2,4-di-tert-butil-fenol memiliki kemiripan 90% dengan waktu retensi 8.15 menit dan luas puncak 7.76 %. Senyawa ini bermassa molekul relatif (m/z) 206 dengan rumus molekul $C_{14}H_{22}O$. Spektrogram masa senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol tertera pada Gambar 7. Perkiraan pola fragmentasi dari senyawa yang diperkirakan memiliki kemiripan dengan pola fragmentasi 2,4-di-tert-butil-fenol tersebut dapat dilihat pada Gambar 8. Pola fragmen ion senyawa 2,4-di-tert-butil-fenol menunjukkan adanya *base ion* pada m/z 191 dan m/z 57. Pada puncak ion m/z 206 (M^+) terjadi pelepasan gugus metil (M^+-CH_3) dan menghasilkan $C_{13}H_{19}O^+$ yang akan mengalami resonansi pada senyawa aromatiknnya hingga pada keadaan stabil (Pratt, 1992). Selanjutnya, akan mengalami pemutusan $M^+-C_3H_7$ dan $M^+-C_6H_5O^$ hingga menghasilkan *base ion* m/z 57.



Gambar 9. Spektrum UV-Vis fraksi F4

Hasil analisa UV-Vis fraksi F4 (gambar 9) menunjukkan adanya puncak serapan pada λ_{maks} 281.04; 328.86; dan 383.56 nm. Puncak serapan pada λ_{maks} 281.04; 328.86 dan 383.56 nm disebabkan adanya transisi elektron $\pi - \pi^*$ yang disebabkan kromofor tak jenuh $C=C$ terkonyugasi poliena atau polisiklik aromatik



Gambar 10. Hasil analisis FTIR fraksi F4

(Supratman, 2010). Selanjutnya berdasarkan analisis FTIR (gambar 10) diperoleh data adanya vibrasi pada bilangan gelombang (ν) 3388.93; 2945.90; 2834.73; 2522.83; 2227.10; 2043.60; 1707.32; 1655.04; 1450.20; 1116.12; 1032.13; dan 698.80 cm^{-1} . Vibrasi pada bilangan gelombang 3388.93 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-\text{OH}$ yang diperkuat vibrasi gugus $\text{C}-\text{O}$ pada 1116.12 dan 1032.13 cm^{-1} . Vibrasi pada bilangan gelombang 2945.93 dan 2834.73 cm^{-1} masing-masing disebabkan vibrasi ulur gugus $=\text{CH}$ dan $-\text{CH}$ alifatik yang diperkuat vibrasi tekuk $-\text{CH}$ alifatik pada 1450.20 dan 698.80 cm^{-1} . Vibrasi pada 2522.83; 2227.10; dan 2043.60 cm^{-1} menunjukkan adanya benzene tersubstitusi dan vibrasi pada 1707.32 dan 1655.04 cm^{-1} disebabkan gugus $\text{C}=\text{O}$ ester.

Hasil analisa UV-Vis dan FTIR sangat sesuai dengan senyawa 2 metoksi etilftalat yang diduga bersifat antioksidan. Senyawa tersebut termasuk kedalam jenis senyawa fenolik turunan asam organik polifungsional yang merupakan senyawa aktif antioksidan. Menurut Ardiansyah (2007), senyawa antioksidan alami pada tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Seo *et al.* (2006) melaporkan dua senyawa asam organik dari ganggang coklat *Saragassum thunbergii*, yaitu

asam 9-(3,4 dihidro-2,8-dimetil-6-hidroksi-2H-1-benzopiran-2-il)-6-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-(2E,6E)-nonadienoat dan asam 1D-(2,3-dihidro-5-hidroksi-7-metil-1-benzofuran-2-il)-10-hidroksi-6-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-(2E,6E)-undekadienoat memiliki kemampuan dalam meredam radikal bebas.

4. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak etanol biji kemangi, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas antioksidan hasil fraksinasi kolom ekstrak etanol biji kemangi memiliki nilai IC_{50} sebesar 39.70 ppm lebih tinggi dari ekstrak n-butanol (IC_{50} 41.90 ppm) dan ekstrak etanol (IC_{50} 67.08 ppm).
2. Berdasarkan hasil analisis GCMS isolat F4 diduga mengandung senyawa aktif antioksidan yang merupakan golongan terpenoid dan fenolik, yaitu skualena dan 2,4-di-tert-butil-fenol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada pimpinan dan staf Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong Jawa Barat, yang telah membantu mengidentifikasi spesimen tumbuhan. Terima

kasih pula kami sampaikan kepada Kepala Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas J, P Dewi, M Hanafi. 2010. Teknologi Pemurnian Senyawa dengan Metoda Kromatografi. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Achmadi SS. 1990. *Teknik Kimia Organik*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ardiansyah. 2007. Artikel Iptek: Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan. <http://www.beritaipstek.com>. Diakses pada tanggal 18 November 2007 pukul 09.15 WIB.
- Asih A. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). Bali(ID): Universitas Udayana.
- Bando N, H Hayashi, S Wakamatsu, T Inakuma, M Miyoshi, A Nagao, R Yamauchi, J Terao. 2004. Participation of singlet oxygen in ultraviolet-a-induced lipid peroxidation in mouse skin and its inhibition by dietary beta-carotene: an ex vivo study. *Free Radic. Biol. Med.* 37: 1854-1863.
- Conforti F, G Statti, MR Loizzo, G Sacchetti, F Poli, F Menichini. 2005. In vitro antioxidant effect and inhibition of α -amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds. *Biol Pharm Bull.* 28: 1098-1102.
- Fasya AG, R Retnowati, MF Rahman, S Duengo, Warsito. 2012. Isolasi Asam-9Z, 12Z, 15Z-Oktadekatrienoat dari Biji Selasih (*Ocimum basilicum*). *Journal Alchemy.* 2(1): 1-11.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* edisi kedua. Bandung (ID): Institut Teknologi Bandung.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid II. Jakarta (ID): Badan Litbang Kehutanan.
- Hirasa K, M Takemasa. 1998. *Spice Science and Technology*. New York(ID): Marcel Dekker.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes RI.
- Javanmardi J, C Stushnoff, E Locke, JM Vivanco. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry.* 83: 547-550.
- Mardawati E, CS Achyar, H Marta. 2008. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (LITMUD). Bandung (ID): Universitas Padjajaran.
- Nurchayanti ADR, L Dewi, KH Timotius. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Polar dan Non Polar Selasih (*O. sanctum L.*). *J. Teknol. dan Industri Pangan.* 21(1).
- Nurestri S, S Sim, AW Norhanom. 2010. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Crude and Fractionated Extracts of *Pereskia bleo* (Kunth) DC (Cactaceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 4(5): 193-201.
- Nurestri SAM, KS.Sim, AW Norhanom. 2009. Phytochemical and Cytotoxic Investigation of *Pereskia grandifolia* Haw. (cactaceae) Leaves. *Journal of Biological Sciences.* 9(5): 488-493.
- Padayatty SJ. 2003. Review Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition.* 22 : 18-35.
- Patil D, DK Mhaske, GC Wadhawa. 2011. Antibacterial and Antioxidant study of *Ocimum basilicum* Labiatae (sweet basil). *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research.* 2 : 104-112. ISSN 2249-3379.
- Pitojo S. 1996. *Kemangi dan Selasih*. Ungaran (ID): Penerbit Trubus Agriwidya.
- Pratimasari D. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Buah *Carica Papaya L.* dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik serta Flavonoid Totalnya. Fakultas Farmasi UMS.
- Pratt DE. 1992. *Natural Antioxidants From Plant Material*. Washington DC (USA): American Society.
- Rachmawati IS, Ciptati. 2011. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). Prosiding Simposium Nasional

- Inovasi Pembelajaran dan Sains, Bandung. ISBN : 978-602-19655-0-4 327.
- Raja RR, V Sathyanathan, V Sekhar, C Roosewelt. 2012. Standardization and Antibacterial Screening of *Ocimum Basilicum* (Lamiaceae) Leaf, Seed and Stem Extracts Againsts the Organism of *Propionibacterium Acnes*. *International Journal Pharmacy and Industrial Research*. 2(04): 440-445.
- Saint-Leger D, A Bague, E Cohen, M Chivot. 1986. A possible role for squalene in the pathogenesis of acne: In vitro study of squalene oxidation. *Br. J. Dermatol*. 114: 535-542.
- Seo Y, Park KE, Kim YA, Lee HY, Yoo JS, Ahn JW, Lee BJ, 2006, Isolation of tetraprenyltoluquinols from the brown alga *Sargasum thunbergii*; *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 54 (12): 1730-1733.
- Simon JE, MR Morales, WB Phippen, RF Vieira, Hao. 1999. Basil: A source of aroma compounds and popular culinary and ornamental herb. Alexandria (FR): ASHS Press.
- Sukandar D, Hermanto S, Amelia ER. 2012. Penapisan Bioaktivitas Tanaman Pangan Fungsional Masyarakat Jawa Barat dan Banten. Jakarta (ID): UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Sukandar D, Hermanto S, I Almabrur. 2010. Aktivitas Senyawa Antidiabetes dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Valensi*. 1(6): 269-273. WHO. 2002. WHO *Monographs on Selected Medicinal Plants Volume 2*. Geneva: World Health Organization.