

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Fuli Pala dengan sinonim *Myristica fragrans* Houtt, Famili Myristicaceae, genus *Myristica*, spesies *Myristica fragrans* Houtt yang disahkan dengan surat hasil verifikasi laboratorium nomor 310/Lab.Bio/B/VI/2024. Hasil determinasi dapat di lihat pada Lampiran 2.

2. Persiapan Sampel

Pada penelitian ini menggunakan fuli pala sebanyak 1 kg dilakukan sortasi basah dengan air mengalir. Fuli pala kemudian di tiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C hingga simplisia kering. Fuli pala yang sudah kering diserbuk menggunakan grinder hingga halus dan di ayak menggunakan ayakan 40 mesh.

3. Ekstraksi Fuli Pala

Pembuatan ekstrak fuli pala dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 12%. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. %Rendemen Ekstrak Metanol Fuli Pala

Simplisia segar	Serbuk sebelum diayak	Berat serbuk yang dipakai	Berat ekstrak (g)	% rendemen
1 kg	600 gram	200 gram	24 gram	12 %

3. Karakteristik Ekstrak Metanol Fuli Pala

Hasil karakteristik ekstrak metanol fuli pala meliputi organoleptik dan kadar air dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Karakteristik Ekstrak Metanol Fuli Pala

Karakteristik		Hasil	Literatur (Erza et al., 2022)
Organoleptik	Warna	Hitam pekat	Hitam pekat
	Aroma	Khas	Khas
	Tekstur	Kental	Kental
Kadar air		0.83%	<10%

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak metanol fuli pala. Berdasarkan hasil yang didapat menunjukkan ekstrak fuli pala positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik alkaloid, saponin dan tanin. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokima Ektstrak Fuli Pala

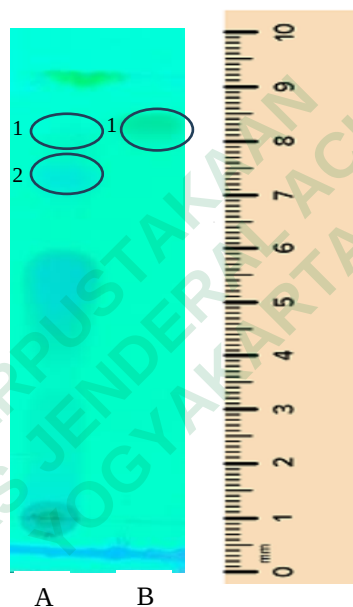
Uji	Hasil	Literatur (Erza et al., 2022)
Flavonoid	+	+
Fenolik	+	+
Alkaloid		
Mayer	-	-
Bouchardat	+	-
Dragendrof	+	+
Uji Saponin	+	-
Uji tannin	+	+

Keterangan : + positif mengandung senyawa
-negatif mengandung senyawa

4. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian KLT dilakukan untuk mengidentikasi secara kualitatif senyawa flavonoid pada ekstrak metanol fuli pala pengujian ini menggunakan fase diam plat silika F₂₅₄ yang bersifat polar, fase diam sebelum digunakan dioven terlebih dahulu selama 1 jam dengan suhu 100°C Fase gerak yang digunakan adalah klorofom: etil asetat: asam asetat glasial (5:4:1)

Pengujian KLT dilakukan dengan memasukan plat silika yang telah ditotolkan sampel konsentrasi 5% dan pembanding kuersetin 0,1%, (Lampiran 7). Plat KLT di identifikasi menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil uji KLT dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil tersebut menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan bercak berwarna kuning kehijauan yang terlihat jelas pada sampel dan standar. Hasil bercak tersebut dapat di analisis dengan menghitung nilai Rf sehingga didapatkan hasil nilai Rf ekstrak dan standar kuersetin yang dapat dilihat pada Tabel 6.



Gambar 6. Profil KLT Ekstrak Metanol Fuli Pala (*Myristica Fragrans* Houltt). Keterangan : Deteksi dengan sinar UV 254 sesudah di semprot AlCl_3 . A) Ekstrak B) Kuersetin. Fase diam = silika gel 60 F_{254} : Fase gerak klorofom : etil asetat : asam asetat glasial (5:4:1).

Tabel 6. Nilai Rf

Sampel	Spot	Rf
Ekstrak	1	0,87
	2	0,81
Kuersetin	1	0,88

5. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Fuli Pala

Pada uji aktivitas antioksidan panjang gelombang yang digunakan pada rentang 400-800 nm dan diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 516 nm. Pada pengukuran ini menggunakan panjang gelombang 516 nm dan *operating time* pada menit ke-30. Hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengujian peredaman radikal bebas DPPH

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Ekstrak	13,781 ppm	Sangat kuat
Kuersetin	4,181 ppm	Sangat kuat

6. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan perbandingan antara nilai IC₅₀ kuersetin dan nilai IC₅₀ ekstrak yang menggunakan SPSS Versi 27. Pada uji pertama dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* untuk melihat data terdistribusi normal atau tidak, dan hasil yang didapatkan pada ekstrak yaitu $0,498 > 0,05$ dan kuersetin $0,012 < 0,05$ dari ke dua pengujian dinyatakan data terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's* yang dilakukan untuk melihat data yang diperoleh homogen atau tidak, dan didapatkan hasil $0,054 > 0,05$ menunjukkan data terdistribusi tidak homogen. Dilanjutkan dengan uji *t-test* dan memperoleh hasil $0,01 > 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 11.

B. Pembahasan

Penelitian ini dimaksudkan untuk melihat aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol fuli pala, untuk memastikan tanaman yang digunakan adalah fuli pala maka dilakukan determinasi. Berdasarkan hasil determinasi sampel yang digunakan benar fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang merupakan bagian dari tanaman pala. (Lampiran 2)

Pada penelitian ini menggunakan fuli pala sebanyak 1 kg dan dilakukan sortasi basah dengan air mengalir. Tujuan dari sortasi basah yaitu untuk menghilangkan kotoran yang terdapat pada fuli pala. Fuli pala kemudian ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Menggunakan suhu 50°C karena untuk menghindari kerusakan senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap panas. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Erza *et al.*, 2022). Fuli pala dikatakan kering apabila hancur ketika diremas. Fuli pala yang sudah kering kemudian diserbuk menggunakan grinder hingga halus dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Tujuan penyerbukan yaitu untuk mendapatkan ukuran partikel yang kecil sehingga dapat memperluas permukaan serbuk dan cairan penyari akan lebih mudah menarik senyawa aktif pada serbuk fuli pala (Rahmawati *et al.*, 2022)

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, digunakan metode maserasi karena metode ini tidak melalui proses pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya atau terurai beberapa komponen kimia aktif yang terkandung pada sampel. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi ini adalah metanol karena pelarut ini merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar (Salamah *et al.*, 2015). Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi. Hasil dari proses ekstraksi ini diperoleh nilai % Rendemen sebesar 12% dimana hasil rendemen ini memenuhi persyaratan karena syarat rendemen yang baik adalah lebih dari 10%. Rendemen merupakan salah satu parameter penting dalam proses ekstraksi karena

memberikan informasi tentang efisiensi proses ekstraksi yang dilakukan. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa proses ekstraksi berhasil mengekstrak sebagian besar senyawa yang diinginkan (Purnamasari, 2019)

Pengujian organoleptik dilakukan untuk menilai kualitas dan keamanan dari simplisia dengan mengamati secara fisik ekstrak metanol fuli pala, hasil organoleptik ekstrak yaitu berwarna hitam pekat, aroma khas, dan tekstur yang kental. Pengujian kadar air ekstrak bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam ekstrak. Hasil uji kadar air ekstrak sebesar 0,83%, nilai ini menunjukkan bahwa kadar air ekstrak memenuhi persyaratan kadar air karena tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2000).

Pengujian skrining fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung pada ekstrak metanol fuli pala. Senyawa yang diuji yaitu flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan tanin. Pada pengujian flavonoid dikatakan positif karena mengalami perubahan warna menjadi kuning pada penambahan magnesium dan HCl. Warna kuning yang terbentuk dikarenakan terjadinya peruraian, dan pemutusan struktur isoprene oleh basa pada flavonoid turunan senyawa flavon atau flavonol yang menghasilkan molekul asetofrenon. Tujuan penambahan serbuk Mg adalah agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg dan tujuan penambahan HCl untuk membentuk garam flavylium yang berwarna merah (Agustina *et al.*, 2017)

Uji fenolik dikatakan positif karena mengalami perubahan warna menjadi hitam pekat saat penambahan reaksi FeCl_3 , tujuan penambahan FeCl_3 untuk menentukan gugus fenol yang terkandung dalam sampel yang berwarna biru. Uji alkaloid menggunakan larutan HCl 2N karena memiliki sifat senyawa alkaloid yang bersifat basa sehingga terjadi pembentukan garam. Uji alkaloid dapat dilihat pada hasil uji dengan penambahan pereaksi mayer, dragendrof, dan bouchardat. Pada pereaksi Dragendrof dapat dilihat dengan terbentuknya endapan kuning jingga, yang dihasilkan dari pembentukan ikatan kovalen antara ion kalium pada kalium tetraiodobismut dan atom nitrogen pada alkaloid, sehingga ketiga pereaksi tersebut menghasilkan hasil positif. Pada uji menggunakan pereaksi Bouchardat terdapat endapan berwarna coklat, yang dihasilkan dari ikatan kovalen anatar ion

k⁺ dan atom nitrogen, Namun tidak terdapat endapan kuning pada penambahan pereaksi Mayer. Hasil ini masih dapat diterima karena menurut Fatwami & Royani (2023) apabila 2 dari 3 reaksi tersebut positif, maka dapat dikatakan ekstrak fuli pala positif mengandung alkaloid.

Pada uji kandungan saponin ekstrak ditambahkan 10 mL akuades ke dalam tabung reaksi. Tabung digojok selama 10 detik, dan akan menghasilkan busa 1-10 cm. HCl 2N ditambahkan 1 tetes ke dalam tabung. Hasil uji saponin positif yang ditunjukkan busa pada tabung reaksi tidak hilang (Liling *et al.*, 2020). Saponin mengandung bagian hidrofobik dan hidrofilik yang menyebabkan molekulnya dapat mengelilingi udara dan membentuk busa yang stabil. Hasil uji positif ditunjukkan dengan busa yang tidak hilang meskipun ditambahkan HCl.. Pengujian tanin pada ekstrak metanol memberikan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman pada penambahan FeCl₃ disebabkan oleh salah satu gugus hidroksil dalam senyawa tanin (Halimu *et al.*, 2017)

KLT merupakan salah satu metode pemisahan suatu senyawa yang berdasarkan pada perbedaan dua distribusi fase yaitu fase diam (plat) dan fase gerak (eluen) (Ruliyanti, 2020). Fase diam yang digunakan adalah plat silika Gel F₂₅₄. Plat silika sebelum digunakan harus dipanaskan terlebih dahulu menggunakan oven pada suhu 100°C selama 1 jam, untuk mengurangi kadar air yang terkandung pada plat silika sehingga pada proses elusidasi dari fase diam berjalan dengan baik (Oktaviantari *et al.*, 2019). Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloroform: etil asetat: asam asetat glasial (5:4:1) yang bersifat semi polar. Pada uji ini menggunakan standar kuersetin, karena kuersetin merupakan golongan flavonoid, sehingga diharapkan bisa menjadi penanda pada sampel jika mengandung flavonoid, selain itu penggunaan standar kuersetin karena pada hasil skrining fitokimia, ekstrak metanol fuli pala diketahui mengandung golongan senyawa flavonoid. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya bercak kuning kehijauan pada plat KLT yang terlihat jelas pada sampel dan standar. 3 bercak yang terlihat pada sampel ada salah 1 bercak sejajar dengan bercak kuersetin yang berwarna kuning, Adanya 1 bercak pada standar kuersetin yang berwarna kuning karena

adanya kandungan senyawa flavonoid yang terkandung pada standar kuersetin, sedangkan pada ekstrak terdapat 3 bercak karena adanya kandungan senyawa lain. Hasil uji KLT yang baik dilihat dari nilai R_f nya, dimana nilai R_f yang baik adalah 0,2-0,8. Diperoleh nilai R_f standar yang diperoleh yaitu 0,87 dan pada sampel memperoleh nilai R_f 0,87. Hasil dari nilai R_f yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel dan standar memperoleh nilai R_f yang baik dan terdapat bercak yang sejajar pada sampel dan standar menandakan bahwa pada sampel terdapat senyawa yang serupa dengan standar yaitu senyawa kuersetin merupakan senyawa golongan flavonoid.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Pemilihan metode ini dikarenakan metodenya yang sederhana, mudah, cepat, dan peka, serta hanya memerlukan sedikit sampel dalam pengukuran aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Nuraziza dkk., 2017). Pemeriksaan antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang ada pada ekstrak metanol fuli pala. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH yaitu adanya perubahan warna ungu tua menjadi kuning. Adanya perubahan yang terjadi disebabkan ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu senyawa yang dapat mendonasikan atom hidrogen, maka DPPH berubah menjadi bentuk tereduksi dengan kehilangan warna violet menjadi warna kuning. Larutan DPPH ditutup menggunakan aluminium foil agar menghindari kerusakan karena larutan DPPH sensitif terhadap cahaya. Hasil pengukuran panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 400-800 nm, dan diperoleh panjang gelombang maksimum larutan DPPH yaitu 516 nm yang dapat dilihat pada Lampiran 8. Panjang gelombang yang didapatkan juga sudah sesuai seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Ganjar *et al* (2007). Penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu optimum inkubasi sampel dengan larutan DPPH untuk bereaksi, yang ditandai dari absorbansi yang stabil sehingga dapat memaksimalkan pengukuran. Hasil *operating time* didapatkan serapan yang stabil pada menit ke -30. Hasil yang didapat sudah sesuai dengan penelitian Erza *et al.*, (2022). Pengujian ini menggunakan senyawa pembanding kuersetin yang telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat

kuat (Erza *et al*, 2022). Uji ini dilakukan 3 kali replikasi pada setiap konsentrasi untuk mengoptimalkan terjadinya kesalahan dalam analisa sampel dan pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas. Dari ketiga replikasi tersebut dicari nilai rata-rata absorbansinya untuk dipakai dalam perhitungan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang diperoleh pada ekstrak yaitu $13,781 \pm 0,211$ ppm dan nilai IC_{50} pada kuersetin yaitu $4,181 \pm 0,247$ ppm. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada penelitian masuk dalam kategori sangat kuat karna nilai IC_{50} yang diperoleh <50 ppm.

Uji *t-test* adalah uji nilai rata-rata (mean) pada dua kelompok dari populasi yang berbeda. Sebelum melakukan uji *t-test* dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas digunakan untuk melihat apakah sampel yang diambil berasal dari populasi yang terdistribusi normal. Uji normalitas yang digunakan adalah uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil dapat dikatakan terdistribusi normal jika hasil yang didapatkan $>0,05$, dan hasil yang didapatkan pada uji normalitas ekstrak dikatakan normal karena memperoleh hasil pada ekstrak yaitu $0,498 > 0,05$ sedangkan pada pembanding kuersetin tidak dikatakan normal karena hasil yang didapatkan yaitu $0,012 > 0,05$. Selanjutnya Uji homogenitas dilakukan untuk melihat apakah varian berasal dari populasi yang sama atau tidak, uji ini menggunakan metode *Levene*. Pada uji homogenitas terdistribusi normal karena memperoleh nilai sig $0,054 > 0,05$ sehingga dilanjutkan Uji *t-test* untuk uji rata-rata dua kelompok yang berasal dari dua populasi yang berbeda. Uji ini dikatakan berbeda signifikan karena hasil yang didapatkan yaitu $0,01 < 0,05$.

Berdasarkan penelitian erza *et al* (2022) fuli pala yang diekstraksi dengan pelarut etanol memiliki aktivitas antioksidan yang masuk dalam kategori sedang dengan memiliki nilai IC_{50} yaitu 153,5 ppm. Selain itu, pada penelitian hasbullah *et al* (2014) mengatakan bahwa fuli pala yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol memiliki nilai IC_{50} yaitu 62,31 ppm yang masuk dalam kategori kuat