BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Pengujian rimpang jahe merah dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 30 Agustus 2023. Berdasarkan hasil determinasi dengan nomor surat 408/Lab.Bio/B/VIII/2023, terkonfirmasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. rubrum). Hasil dapat dilihat pada lampiran 2.

2. Penyiapan Sampel dan Ekstraksi

Tanaman rimpang jahe merah diambil dari Kecamatan Gedang Sari, Kabupaten Gunung Kidul, DIY. Sampel tanaman digunakan sebanyak 5 kg dengan menggunakan bagian rimpang jahe merah yang segar. Rimpang disortasi dengan dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian diiris tipis dan dikeringkan dilemari pengering pada suhu 50°C. Pengeringan dilakukan agar sampel tidak mudah rusak pada saat penyimpanan dan untuk mengurangi kadar air dalam sampel, selanjutnya sampel dihaluskan dengan menggunakan grinder sampai diperoleh serbuk. Serbuk diayak menggunakan ayakan berukuran 40 mesh untuk memperkecil ukuran dari jahe merah. Dari 5 kg rimpang jahe merah diperoleh 500 gram serbuk.

Sampel yang telah diserbuk diekstraksi menggunakan metode maserasi dan UAE dengan perbandingan 1:10 menggunakan pelarut metanol. Selama proses perendaman dilakukan pengadukan setiap hari di jam yang sama, setelah 3x24 jam dilanjutkan remaserasi dengan perlakuan yang sama. Hasil dari metode ekstraksi maserasi dan UAE disaring dengan kertas *whatman* nomor 1, kemudian filtrat dipekatkan di *waterbath* dengan suhu 45°C hingga didapatkan ekstrak kental. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

Tabel 4. Rendemen Ekstrak Rimpang Jahe Merah

Metode Ekstraksi	Bobot Sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Hasil Rendemen (%)
Maserasi	25	24	96
UAE	25	10	40

3. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik bisa mengindikasikan apabila ada kebusukan atau kerusakan pada suatu produk. Pengujian dilakukan dengan mengamati warna, aroma, serta tekstur dari ekstrak. Hasil organoleptis ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji Organoleptik Rimpang Jahe Merah

Parameter	Maserasi	UAE
Warna	Hitam pekat	Hitam pekat
Aroma	Khas	Khas
Tekstur	Kental	Kental

4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah analisis kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa-senyawa dari ekstrak metanol rimpang jahe merah. Pengujian yang dilakukan ialah uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kedua ekstraksi mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid yang dapat di lihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Skrining Fitokimia Rimpang Jahe Merah

No	Uji	Maserasi	UAE	Literatur (Munadi, 2018)
1.	Alkaloid			
	a. Dragendroff	-	-	Endapan jingga
	b. Mayer	-	-	Endapan kuning
	c. Wagner	+	+	Endapan kecoklatan
2.	Flavonoid	+	+	Coklat
3.	Saponin	+	+	Terdapat busa
4.	Tanin	+	+	Hitam kehijauan
5.	Terpenoid	+	+	Cincin berwarna coklat

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

5. Uji Kromatografi Lapis Tipis

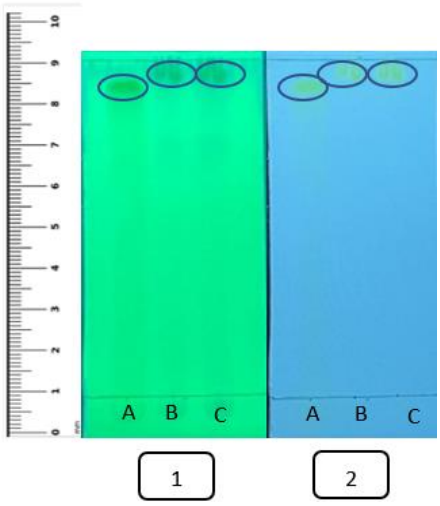
Penggunaan KLT untuk mengidentifikasi ada tidaknya senyawa flavonoid dari ekstrak metanol rimpang jahe merah yang diekstraksi dengan metode maserasi dan UAE (Depkes, 2017). Senyawa yang di identifikasi yaitu flavonoid dengan mengamati munculnya bercak kuning kehijauan pada plat KLT. Kuersetin digunakan sebagai bahan pembanding. Konsentrasi sampel digunakan sebesar 10% dan konsentrasi pembanding kuersetin adalah 0,1%. Ditotolkan masing-masing sampel dan pembanding kuersetin pada plat KLT silika gel GF_{254}. Digunakan fase gerak yang dapat memisahkan senyawa flavonoid dari ekstrak rimpang jahe merah yang dideteksi di sinar UV 254 dan 366 nm dan dapat terpisah sempurna. Sebelumnya optimasi KLT telah dilakukan pada beberapa fase gerak yang bisa dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Optimasi Fase Gerak Pada Identifikasi KLT Rimpang Jahe Merah

No	Fase Gerak	Hasil
1	n-Heksan : Etil Asetat (9:1)	Fase geraknya naik dan sampel terelusi tetapi standar tidak terelusi
2	Etil Asetat : n-Heksan (8:2)	Fase geraknya naik dan sampel terelusi tetapi standar tidak terelusi
3	Butanol : Asam Glasial : Aquades (4:1:5)	Fase geraknya naik tetapi sampel tidak terelusi dan standar kuersetin tidak terelusi
4	Kloroform : Metanol : Etil Asetat (5:3:2)	Fase geraknya naik dan sampel terelusi dan standar kuersetin terelusi

Berdasarkan hasil optimasi fase gerak didapatkan fase gerak paling optimal yaitu kloroform : metanol : etil asetat (5:3:2). Fase gerak tersebut merupakan yang paling optimal dalam memisahkan senyawa pada sampel. Identifikasi flavonoid pada ekstrak rimpang jahe merah yang diperoleh menggunakan metode maserasi dan UAE dapat dilihat pada Gambar 4. Menurut Harborne (1987), sampel dianggap mengandung flavonoid jika ada bercak berwarna kuning kehijauan.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA



Gambar 4. Profil KLT Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. rubrum). Keterangan: 1. UV 254 nm; 2. UV 366 nm; A. Kuersetin; B. UAE; C. Maserasi. Fase gerak = Kloroform : Metanol : Etil Asetat (5:3:2)

Hasil dari kedua ekstrak menunjukkan bercak yang dapat menandakan sampel dan pembanding positif mengandung flavonoid. Bercak kemudian dihitung nilai Rf. Hasil dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Nilai Rf

Sampel	Rf
Ekstrak metode berbantu utrasonik	0,93
Ekstrak metode maserasi	0,93
Kuersetin	0,92

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Pada pengujian ini dilakukan pengukuran absorbansi maksimum dengan panjang gelombang maksimum DPPH. Digunakan panjang gelombang pada rentang 400-600 nm dan diperoleh panjang gelombang 515 nm.

Pada penentuan *operating time* (OT) dilakukan untuk memastikan waktu absorbansi stabil. Penentuan ini diukur pada interval 1 menit pada menit 0-60 menit pada panjang gelombang 515 nm dan hasil yang diperoleh adalah menit ke 32.

Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH menggunakan kuersetin sebagai pembanding dilakukan dengan seri konsentrasi yaitu 2 ppm,

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2.5 ppm, 3 ppm, 3.5 ppm, dan 4 ppm dan dilakukan juga uji terhadap ekstrak rimpang jahe merah dengan ekstraksi maserasi dan UAE pada seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 40 ppm. Larutan DPPH dan sampel didiamkan selama OT yaitu 32 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 515 nm dan dilakukan 3 kali replikasi. Hasil pengujian tersebut didapatkan nilai absorbansi kemudian ditentukan % inhibisi. Nilai % inhibisi yang telah didapatkan diplotkan dengan konsentrasi, sehingga didapatkan persamaan regresi linear untuk menentukan nilai IC_{50}. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kuersetin, metode maserasi dan UAE yang diuji dengan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} yang dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sampel	Nilai IC_{50} ± SD (ppm)	Kategori
Ekstrak metode maserasi	24.195 ± 1.646	Sangat Kuat
Ekstrak metode UAE	14.654 ± 2.706	Sangat Kuat
Kuersetin	2.3565 ± 0.1782	Sangat Kuat

7. Analisis Data

Analisis data perbandingan uji ekstraksi pada ekstrak rimpang jahe merah yang dianalisis menggunakan SPSS Versi 29. Pada pengujian pertama yaitu menguji normalitas data Shapiro-Wilk untuk menentukan apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, setelah itu uji homogenitas dilakukan menggunakan Levene's yang dilakukan untuk menentukan apakah data yang diperoleh homogen atau tidak. Didapatkan hasil pada uji normalitas maserasi 0,598 > 0,05 dan metode UAE 0,225 > 0,05 kedua metode tersebut menunjukkan data yang diperoleh terdistribusi normal. Pada uji homogenitas didapatkan hasil yang homogen ditandai dengan nilai sig. 0,280>0,05. Dilanjutkan uji One Way ANOVA dan diperoleh hasil perbandingan antara maserasi dan UAE terdapat perbedaan signifikansi yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,006 < 0,05.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dimaksudkan untuk melihat pengaruh metode ekstraksi maserasi dan UAE terhadap aktivitas peredaman radikal bebas DPPH. Dalam peneltian ini, untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah rimpang jahe merah maka dilakukan determinasi. Hasil determinasi tanaman yang digunakan yaitu benar rimpang jahe merah. Dilakukan uji ekstraksi dengan metode maserasi dan UAE pada rimpang jahe merah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terkandung pada simplisia (Aji *et al*., 2018). Ekstraksi dilakukan dengan metode UAE berfrekuensi karena aman dan proses ekstraksinya cepat (Andriani *et al*., 2019) dan metode maserasi juga digunakan karena lebih praktis, alat cukup sederhana dan tidak perlu pemanasan (Sumadewi *et al*., 2014).

Dari hasil ekstraksi dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak rimpang jahe merah yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan UAE. Senyawa yang diuji yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta terpenoid. Pengujian kedua ekstraksi menunjukkan hasil positif pada beberapa senyawa yang telah diuji yaitu senyawa flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Pada senyawa flavonoid dilakukan dengan mengambil sampel kemudian ditambahkan H_2SO_4 sebanyak 2 mL. Penambahan H_2SO_4 bertujuan untuk menghidrolisis senyawa flavonoid menjadi aglikon, dimana senyawa flavonoid dapat dikatakan positif bila terbentuk warna coklat. Pada senyawa saponin dinyatakan positif bila busa yang dihasilkan tidak hilang dalam waktu 30 detik. Busa terbentuk karena sifat fisik saponin yang dapat larut didalam air serta dapat menimbulkan busa apabila dikocok. Pada senyawa tanin dinyatakan positif jika terbentuk warna hitam kehijauan setelah ditambahkan $FeCl_3$ yang disebabkan oleh salah satu gugus hidroksil dalam senyawa tanin. Pada senyawa terpenoid dinyatakan positif bila terbentuk cincin berwarna coklat. Perubabahan warna disebabkan oleh oksidasi pada senyawa terpenoid karena pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

Senyawa flavonoid pada rimpang jahe merah diduga berperan sebagai antioksidan dalam meredam radikal bebas (Arnanda & Nuwarda, 2019), sehingga dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dengan uji KLT. Dari hasil pengamatan pada Gambar 4 diperoleh bercak dengan warna kuning kehijauan yang menandakan sampel yang mengandung senyawa flavonoid. KLT digunakan untuk memisahkan senyawa dalam sampel (Asfiyah, 2020). Digunakan fase diam yaitu silika gel GF_{254} yang bersifat polar, mengandung silika dengan gypsum sebagai agen pengikat dan indikator fluoresen yang dapat berfluoresensi. Digunakan plat silika pada ukuran 4 x 10 cm yang sebelumnya telah di oven selama 5 menit dengan suhu 100°C untuk menghilangkan kadar air pada plat. Digunakan fase gerak kloroform : metanol : etil asetat (5:3:2) untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada rimpang jahe merah. Fase gerak akan bergerak melalui fase diam sambil membawa dan memisahkan senyawa-senyawa dari campurannya (Narsa *et al*., 2022). Fase gerak tersebut merupakan yang paling optimal dari beberapa optimasi fase gerak. Hasil uji KLT tersebut menunjukkan bercak yang dapat menandakan sampel dan pembanding mengandung senyawa flavonoid. Bercak tersebut diukur dan didapatkan nilai Rf sampel ekstraksi maserasi dan UAE sebesar 0,93 dan pembanding 0,92. Syarat pemisahan yang baik jika nilai Rf pada rentang 0,2-0,8, yang dimana hasil yang didapatkan tidak memenuhi syarat. Nilai Rf yang tidak memenuhi syarat bisa terjadi karena konsentrasi pada larutan uji KLT yang digunakan cukup tinggi dan jumlah penotolan yang terlalu banyak, oleh karena itu konsentrasi perlu diturunkan persentasenya dan pengurangan jumlah penotolan.

Pada penentuan aktivitas peredaman radikal bebas digunakan metode DPPH, yang dimana metode ini memiliki mekanisme kerjanya dengan mereduksi senyawa radikal bebas oleh antioksidan yang ditandai adanya perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning (Sayuti & Yenrina, 2015). Digunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 515 nm untuk mengukur aktivitas antioksidan. Hasil pengujian menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya kemampuan antioksidan yang dapat meredam radikal bebas dari masing-masing ekstrak. Pengujian DPPH menghasilkan nilai IC_{50} pada setiap perlakuan. Pada uji maserasi diperoleh hasil sebesar 24,195 ppm, UAE sebesar 14,654 ppm dan kuersetin sebesar

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2,3565 ppm. Dalam penelitian ini, kuersetin digunakan sebagai kontrol positif yang berfungsi sebagai pembanding. Kuersetin memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan sekunder dengan menghentikan reaksi oksidasi rantai radikal bebas (Salamah & Widyasari, 2015). Hasil analisis kuersetin dengan metode peredaman radikal bebas DPPH menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 2,3565 ppm (sangat kuat). Parameter tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu nilai IC_{50} dengan konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Ekstrak yang dibuat dengan metode UAE memiliki nilai IC_{50} yang lebih baik dibandingkan maserasi. Hal ini disebabkan metode UAE menggunakan prinsip kavitasi akustik untuk menghasilkan gelembung spontan dalam fase cair dibawah titik didih dan dapat merusak dinding sel sehingga memungkinkan pelepasan senyawa lebih cepat (Marlina Kristina *et al*., 2022), sedangkan maserasi merupakan proses difusi dimana pelarut menembus dinding sel tumbuhan untuk mengekstrak senyawa yang terkandung didalamnya (Kiswandono, 2017). Dapat dilihat pada penelitian (Suhendra *et al*., 2019) yang dimana metode UAE menghasilkan senyawa flavonoid lebih banyak yaitu sebesar 90,91 mgQE/g, selain itu metode UAE juga memiliki keunggulan dibanding metode maserasi, seperti dapat meningkatkan penetrasi cairan ke dinding sel, laju perpindahan massa lebih cepat, hasil ekstraksi yang lebih tinggi, suhu yang digunakan rendah, volume pelarut lebih sedikit dan durasi lebih singkat (Marlina Kristina *et al*., 2022).

Hasil analisis statistik menggunakan uji One Way ANOVA pada ekstrak rimpang jahe merah. Uji tersebut dilakukan untuk menguji perbedaan lebih dari dua rata-rata. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas dilakukan untuk menentukan apakah data terdistribusi secara normal, kemudian pada uji homogenitas dilakukan untuk memastikan apakah data homogen, dan dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan < 0,05 yang dimana data terdistribusi tidak normal.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA