

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

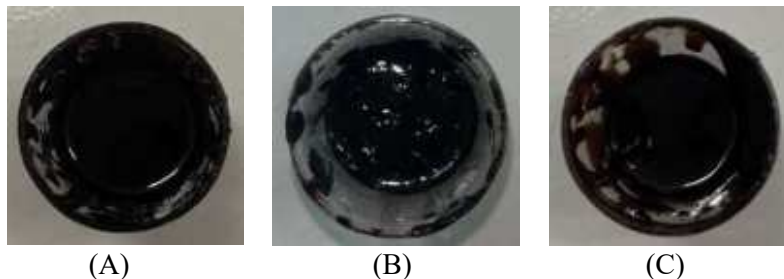
Jahe hitam yang diperoleh dari KH. Garden Pekanbaru, Jl. Keliling, Gn. Gayo, Pekanbaru, Riau telah dilakukan determinasi tanaman pada tanggal 02 Mei 2025, di Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan dengan nomor surat 303/Lab.Bio/B/V/2025. Bagian jahe hitam yang digunakan untuk determinasi adalah bagian rimpang. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rimpang adalah *Kaempferia parviflora* Wall. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

2. Pembuatan Ekstrak Jahe Hitam

Sebanyak 50 gram serbuk jahe hitam diekstraksi dengan pelarut etanol konsentrasi 50%, 70%, dan 96% menggunakan metode UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*) pada suhu 45°C selama 20 menit. Filtrat hasil ekstraksi UAE diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental dan dihitung %rendemen serta kadar air yang terkandung. Adapun hasil %rendemen dan kadar air terdapat dalam **Tabel 4** dan tampak fisik ekstrak kental hasil penguapan dapat dilihat pada **Gambar 12**.

Tabel 4. Rendemen dan Kadar Air Ekstrak Etanol Jahe Hitam

Konsentrasi Etanol	Bobot simplisia (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	% Rendemen	Kadar Air (%)
50%	50,03	10,5373	21,0620	2,19%
70%	50,05	9,5039	18,9888	2,81%
96%	50,01	5,1995	10,3969	2,75%



Gambar 12. Ekstrak Etanol 50% (A), Ekstrak Etanol 70% (B), dan Ekstrak Etanol 96% (C)

3. Pengujian Fitokimia

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol jahe hitam dengan variasi konsentrasi yaitu 50%, 70%, dan 96% menunjukkan positif mengandung flavonoid, alkaloid, fenolik, tanin, dan steroid. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 5**.

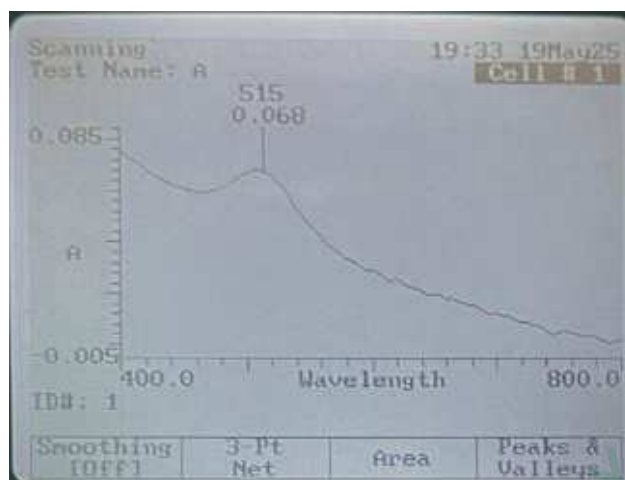
Tabel 5. Uji Skrining Fitokimia

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol			Keterangan
		50%	70%	96%	
Flavonoid	Serbuk magnesium + HCl	+	++	+++	Positif warna berubah menjadi kuning, jingga, atau merah
	Dragendorff	++	+	+++	Positif terbentuk endapan merah
Alkaloid	Mayer	++	+	+++	Positif terbentuk endapan putih
	Bouchardat	+	++	+++	Positif terbentuk endapan coklat kehitaman
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+++	++	+	Positif perubahan warna menjadi hijau kehitaman
Tanin	Gelatin 1% + NaCl 10%	+	++	+++	Positif terbentuk endapan kekuningan
Steroid	H ₂ SO ₄	+	++	+++	Positif terbentuk cincin merah

Keterangan: (+) = positif mengandung senyawa metabolit sekunder
 (++) = positif mengandung senyawa metabolit sekunder kuat
 (+++) = positif mengandung senyawa metabolit sekunder sangat kuat

4. Penentuan *Operating Time* dan Panjang Gelombang

Sebelum menentukan aktivitas antioksidan, terlebih dahulu dilakukan penetapan waktu pengukuran yang stabil (*Operating Time*) dan penentuan panjang gelombang optimum untuk memastikan senyawa berada dalam kondisi stabil serta memperoleh daerah serapan yang optimal. *Operating Time* (OT) dilakukan dengan interval waktu 1 menit pada rentang 0-60 menit, diperoleh waktu stabil pada rentang 47-51 menit yang ditunjukkan pada **Lampiran 6**. Sedangkan panjang gelombang maksimal yang diperoleh dalam pengukuran dengan rentang 400-800 nm yaitu 515 nm dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Panjang Gelombang Maksimal DPPH

5. Pengujian Antioksidan

Pada penelitian ini melakukan analisis aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol jahe hitam dengan metode DPPH untuk menentukan IC_{50} atau konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas. Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi pelarut etanol yaitu 50%, 70%, dan 96%, di mana DPPH bertindak sebagai radikal bebas dan ekstrak etanol jahe hitam serta kuersetin (pembanding) sebagai antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe hitam menggunakan seri konsentrasi 150, 250, 350, 450, dan 550 ppm sedangkan kuersetin sebagai pembanding menggunakan seri konsentrasi 0,5; 1,5; 2,5; 3,5; dan 4,5 ppm. Tiap konsentrasi dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil pembacaan absorbansi dihitung %inhibisinya yang selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dalam bentuk regresi linier. Hasil %inhibisi dan nilai IC_{50} kuersetin dapat dilihat pada **Tabel 6**. Perhitungan IC_{50} %inhibisi tertera pada **Lampiran 7**.

Tabel 6. %Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Kuersetin

% Inhibisi Kuersetin					Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
0,5 ppm	1,5 ppm	2,5 ppm	3,5 ppm	4,5 ppm		
8,0895	17,2117	36,6609	54,0448	65,7487	$y = 15,215x - 1,6868$	3,397
6,8847	22,2031	32,1859	51,6351	62,4785	$y = 14,062x - 0,0774$	3,564
3,7866	22,0310	38,8985	58,3477	67,1256	$y = 16,299x - 2,7108$	3,234
$\bar{x} \pm LE$						3,398 ± 0,409
SD						0,165
CV (%)						4,850 %

Pada **Tabel 6** diperoleh rata-rata nilai IC₅₀ 3,398 ± 0,409 ppm, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan kuersetin sangat kuat. Sedangkan hasil IC₅₀ ekstrak etanol jahe hitam konsentrasi 50%,70%, dan 96% secara berturut-turut yaitu sebesar 800,244 ± 48,775; 618,683 ± 56,417; dan 517,403 ± 52,534 ppm. Berdasarkan hasil tersebut, antioksidan yang terkandung dalam jahe hitam dengan variasi konsentrasi etanol sangat lemah. Nilai %inhibisi dan IC₅₀ ekstrak etanol ditunjukkan pada **Tabel 7**.

Tabel 7. %Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Jahe Hitam

Konsentrasi Ekstrak	\bar{x} IC ₅₀ (ppm) ± LE	SD	CV (%)	Kategori Antioksidan
50%	800,244 ± 48,775	19,633	2,453	Sangat Lemah (>500 ppm)
70%	618,683 ± 56,417	22,709	3,671	Sangat Lemah (>500 ppm)
96%	517,403 ± 52,534	21,146	4,087	Sangat Lemah (>500 ppm)

6. Analisis Statistika SPSS

Data IC₅₀ dari kuersetin dan ekstrak etanol pada masing-masing konsentrasi kemudian diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan hasil analisis *Shapiro-Wilk*, seluruh sampel perlakuan etanol 50%, etanol 70%, etanol 96% dan kuersetin menunjukkan nilai signifikansi di atas 0,05. Dengan demikian, data pada setiap kelompok dapat disimpulkan terdistribusi normal (Hardini *et al.*, 2025)

Uji yang kedua yaitu homogenitas menggunakan uji *Levene*. Hasil uji *Levene* menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada mean, median, dan trimmed mean berada di atas 0,05 (**Tabel 8**). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa data memiliki varians yang homogen (Wiranata & Sasadara, 2022).

Data yang telah didapat menunjukkan pola distribusi normal dan homogen, sehingga memenuhi syarat untuk uji *One-Way ANOVA*. Uji *One-Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata nilai IC_{50} antar sampel penelitian. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai F sebesar 1039,530 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar sampel penelitian (Nainggolan *et al.*, 2025). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut menggunakan *Post Hoc Tukey* untuk mengidentifikasi pasangan variabel mana saja yang menunjukkan perbedaan signifikan. Dari hasil yang diperoleh, seluruh sampel menunjukkan perbedaan signifikan karena $< 0,05$ (Handayani *et al.*, 2025). Hasil statistik yang diperoleh tertera pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Statistik Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Sampel	Uji Normalitas	Uji Homogenitas	Uji <i>One-Way ANOVA</i>	Uji Post Hoc
Kuersetin	0,178			0,000 0,000 0,000
Ekstrak Etanol 50%	0,460			0,000 0,001 0,000
Ekstrak Etanol 70%	0,546	0,163	0,000	0,000 0,001 0,000
Ekstrak Etanol 96%	0,801			0,000 0,000 0,000

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jahe hitam menggunakan metode DPPH. Pemilihan jahe hitam didasarkan pada berbagai studi yang menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki kandungan metabolit sekunder yang beragam, seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin, dan steroid, yang diketahui memiliki potensi sebagai antioksidan (Hanifa *et al.*, 2024). Proses awal yang dilakukan, yaitu determinasi tanaman untuk menjamin keakuratan dan keaslian identitas tanaman, serta memastikan bahwa tanaman tersebut sesuai dengan yang dibutuhkan atau diinginkan (Hardini *et al.*, 2025). Tanaman jahe hitam yang diperoleh dari KH. Garden, Pekanbaru, diidentifikasi sebagai *Kaempferia parviflora* Wall., melalui identifikasi morfologi bagian rimpang di Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan. Langkah ini sangat penting untuk menjamin keakuratan hasil, sebab ketepatan spesies sangat menentukan validitas aktivitas fitokimia dan biologis yang dianalisis dalam penelitian ini (Hardini *et al.*, 2025).

Selanjutnya, dilakukan pengolahan simplisia yang melibatkan proses pembersihan, pengeringan bertahap, perajangan, hingga penghalusan menjadi serbuk. Proses pengeringan dilakukan dengan dua metode, yaitu pengeringan alami di bawah sinar matahari yang disaring menggunakan kain hitam, dan pengeringan oven pada suhu 50°C selama ± 27 jam. Penggunaan kain hitam bertujuan untuk membantu penyebaran panas secara merata serta menghambat penyerapan sinar ultraviolet (UV) yang bersifat merusak, sehingga kandungan senyawa yang terkandung dalam jahe hitam tetap terjaga (Maulidah *et al.*, 2022). Proses pengeringan ini dilakukan guna menurunkan kadar air dalam simplisia, sekaligus menghentikan aktivitas enzimatik (Maulidah *et al.*, 2022). Setelah diperoleh simplisia kering, bahan digiling dan diayak menggunakan ayakan mesh 60 untuk memperoleh ukuran serbuk yang seragam. Keseragaman ukuran partikel ini sangat penting karena memengaruhi efisiensi pelarutan senyawa aktif ke dalam pelarut selama proses ekstraksi.

Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 50%, 70%,

dan 96%. Perbedaan konsentrasi etanol ini digunakan untuk melihat bagaimana polaritas pelarut mempengaruhi kelarutan jumlah senyawa aktif yang terekstraksi. Pelarut dengan kandungan air lebih tinggi (etanol 50%) memiliki polaritas lebih besar dan cenderung mengekstraksi senyawa polar. Sebaliknya, etanol dengan konsentrasi lebih tinggi (96%) memiliki polaritas lebih rendah, sehingga lebih efektif untuk melarutkan senyawa yang bersifat kurang polar. Sebelum menentukan hasil %rendemen, terlebih dahulu di cek kadar airnya. Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui jumlah sisa air yang masih terdapat dalam ekstrak setelah melalui proses pengentalan dan pengeringan. Informasi ini penting karena kadar air yang tinggi dapat menjadi lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme, yang pada akhirnya dapat menurunkan kualitas serta merusak kandungan senyawa aktif dalam ekstrak. Secara berturut-turut hasil yang didapat dari konsentrasi 50%, 70%, dan 96% yaitu 2,19%; 2,81%; dan 2,75%. Ketiga sampel memenuhi syarat nilai kadar air, karena kadar air yang optimal dalam ekstrak sebaiknya kurang dari 10% untuk menghindari terjadinya reaksi hidrolisis, serangan serangga, serta mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak ekstrak (Ramlah *et al.*, 2025). Berdasarkan hasil ekstraksi, rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 50% sebesar 21,062%, diikuti oleh ekstrak etanol 70% sebesar 18,989%, dan terendah pada etanol 96% sebesar 10,397%, dari ketiga sampel tersebut memenuhi syarat %rendemen yaitu tidak kurang dari 10% (Ramlah *et al.*, 2025). Penurunan rendemen dengan meningkatnya konsentrasi etanol mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam jahe hitam didominasi oleh senyawa polar hingga semi-polar (Khasanah, 2023). Pelarut dengan kandungan air yang lebih tinggi (etanol 50%) memiliki polaritas lebih besar sehingga mampu melarutkan senyawa-senyawa bioaktif polar maupun semi polar secara lebih efisien dibandingkan pelarut dengan kandungan etanol murni. Namun dengan demikian, rendemen yang lebih tinggi tidak selalu berkorelasi langsung dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini disebabkan karena rendemen hanya menunjukkan jumlah total ekstrak yang diperoleh, bukan kandungan senyawa bioaktif secara spesifik. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian fitokimia dan aktivitas antioksidan untuk mengevaluasi potensi biologis ekstrak.

Hasil uji fitokimia dari seluruh variasi konsentrasi etanol menunjukkan bahwa seluruh ekstrak etanol jahe hitam terdeteksi adanya senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, tanin, dan steroid. Dalam analisis flavonoid, penambahan HCl dan serbuk magnesium bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid. Proses reduksi ini menyebabkan perubahan warna yang terlihat menjadi merah atau jingga, yang menunjukkan terbentuknya garam flavylum sebagai produk akhir. Perubahan warna tersebut merupakan indikator penting dalam pengujian keberadaan flavonoid (Juanda *et al.*, 2023).

Dalam pengujian alkaloid, digunakan tiga pereaksi yaitu Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat, yang menunjukkan hasil positif untuk ketiga pereaksi tersebut. Senyawa alkaloid mengandung atom nitrogen dan bersifat basa, sehingga asam klorida diperlukan untuk proses ekstraksinya. Pada uji Mayer, gugus nitrogen dalam alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) yang terbentuk melalui reaksi pembuatan reagen Mayer dengan penambahan KI berlebih, menghasilkan kompleks kalium alkaloid. Uji Dragendorff didasarkan pada pembentukan kalium tetraiodobismutat ($K[BiI_4]$), yang merupakan hasil reaksi antara bismuth nitrat ($Bi(NO_3)_3$) dan kalium iodida (KI) berlebih. Ion logam K^+ dari kalium tetraiodobismutat tersebut berinteraksi dengan gugus nitrogen pada alkaloid, membentuk ikatan kovalen koordinat dan menghasilkan endapan berwarna jingga. Dalam uji Bouchardat, pereaksi ini mengandung kalium iodida dan iod, di mana terjadi ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid yang menghasilkan endapan coklat kompleks kalium alkaloid (Hanifa *et al.*, 2024).

Reaksi dengan pereaksi $FeCl_3$ 5% dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa fenolik. Ketika $FeCl_3$ ditambahkan, ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan gugus -OH aromatis yang terdapat pada senyawa fenol, membentuk kompleks yang menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna ini menjadi indikator penting dalam mendeteksi keberadaan senyawa fenol (Nafiisah *et al.*, 2024).

Uji kualitatif dengan $FeCl_3$ dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fenol. Jika senyawa fenol terdeteksi, kemungkinan besar senyawa tanin juga

ada, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Untuk memperkuat dugaan adanya tanin dalam ekstrak jahe hitam, perlu dilakukan pengujian menggunakan gelatin. Prinsip dasar uji tanin dengan gelatin adalah kemampuan tanin untuk berikatan dengan protein. Ketika tanin berinteraksi dengan gelatin (yang merupakan protein), akan terbentuk endapan berwarna kekuningan. Dalam struktur gelatin, atom hidrogen dari gugus hidroksil tanin membentuk ikatan hidrogen dengan atom oksigen dan nitrogen. Penambahan NaCl bertujuan untuk meningkatkan interaksi antara tanin dan gelatin (Nafiisah *et al.*, 2024).

Uji steroid menggunakan kloroform berfungsi sebagai pelarut yang efektif untuk melarutkan senyawa steroid, menghasilkan larutan yang jernih karena sifat nonpolar kloroform yang cocok untuk senyawa lipofilik seperti steroid. Setelah penambahan H_2SO_4 , terbentuklah batas antara lapisan kloroform dan asam sulfat pekat, di mana gugus hidroksil (-OH) pada struktur cincin steroid akan bereaksi dengan asam sulfat. Reaksi ini mengakibatkan pelepasan gugus -OH dan pembentukan karbokation (ion bermuatan positif) dalam struktur steroid. Karbokation yang terbentuk selanjutnya mengalami delokalisasi muatan, membentuk sistem konjugasi yang panjang. Struktur ini dapat menyerap cahaya dalam spektrum tampak, sehingga menghasilkan cincin berwarna merah pada lapisan kloroform, yang menandakan adanya senyawa steroid dalam sampel (Nafiisah *et al.*, 2024).

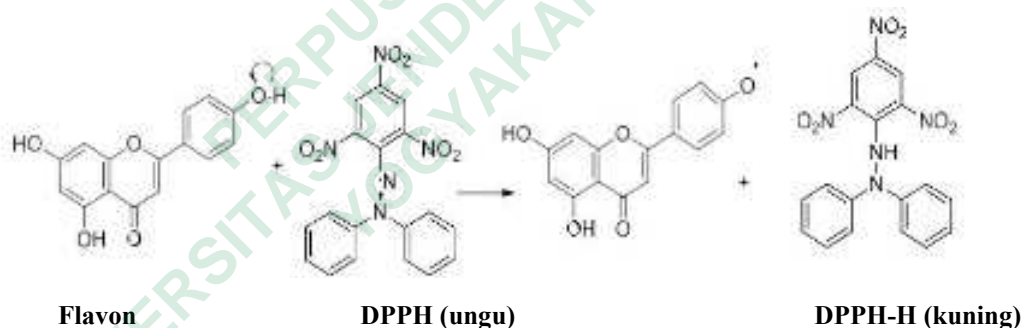
Senyawa-senyawa tersebut merupakan bagian dari metabolit sekunder tumbuhan yang dikenal memiliki aktivitas biologis, khususnya sebagai antioksidan alami. Hasil uji fitokimia ini sama seperti yang didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Hanifa *et al.* (2024). Hasil positif uji fitokimia pada seluruh variasi konsentrasi etanol belum dapat dipastikan seberapa besar konsentrasi atau kadar relatif masing-masing senyawa pada tiap ekstrak, karena uji fitokimia hanya bersifat kualitatif. Meskipun dilihat dari hasil %rendemen ekstrak etanol 50% memiliki rendemen paling tinggi, hal ini belum dapat dipastikan bahwa konsentrasi senyawa aktif seperti flavonoid atau fenolik juga paling tinggi pada ekstrak tersebut. Persen rendemen hanya menunjukkan total jumlah ekstrak yang dihasilkan, yang bisa saja terdiri dari berbagai komponen baik senyawa aktif

maupun senyawa inert (tidak aktif secara biologis). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji kuantitatif potensi antioksidan melalui penentuan nilai IC_{50} .

Pengujian aktivitas antioksidan dimulai dengan menentukan *Operating Time* dan panjang gelombang maksimum. *Operating time* dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan seiring waktu. Langkah ini bertujuan untuk meminimalkan kesalahan dalam pengukuran. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa DPPH stabil pada menit ke 47-51. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanifa *et al.* (2024), dengan interval waktu yang sama yaitu 1 menit dari menit 0-60. Setelah menentukan *operating time*, selanjutnya menentukan panjang gelombang maksimum untuk memastikan serapan paling optimal dari larutan uji, sehingga memberikan sensitivitas tertinggi dan menghasilkan nilai absorbansi yang akurat pada sampel. Dalam penelitian ini, panjang gelombang maksimum yang diperoleh sesuai dengan yang didapat oleh Loin & Budiana (2024) dan Harahap & Ridwanto (2023) yaitu 515 nm. Berdasarkan hasil yang diperoleh, panjang gelombang pada tahap ini sesuai dengan teori (515 nm) (Loin & Budiana, 2024).

Menilai kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas dapat menggunakan metode DPPH yang dilihat dari nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Sebagai pembanding dalam penelitian ini, digunakan kuersetin yang merupakan senyawa golongan flavonoid dan diketahui memiliki distribusi yang luas di berbagai jenis tanaman (Ambarwati *et al.*, 2025). Nilai IC_{50} kuersetin yang didapat yaitu $3,398 \pm 0,409$ ppm, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya sangat kuat (<50 ppm). Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol jahe hitam 50%, 70%, dan 96% secara berturut-turut yaitu $800,244 \pm 48,775$; $618,683 \pm 56,417$; dan $517,403 \pm 52,534$ ppm. Hasil data pada konsentrasi 50% dan 70% merupakan data ekstrapolasi yang disebabkan karena absorbansi kontrol pada konsentrasi 50% yaitu 0,623, sedangkan absorbansi terendah pada kelima konsentrasi sampel yaitu 0,425, yang mana 50% dari 0,623 yaitu 0,3115 dan pada konsentrasi 70% absorbansi kontrolnya yaitu 0,633 dengan absorbansi terendah pada kelima konsentrasi sampel yaitu 0,361, yang seharusnya 50% dari 0,633 yaitu 0,3165, sehingga menandakan bahwa aktivitas antioksidan

yang diperoleh tidak dapat menghambat 50% radikal bebas. Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan, nilai $IC_{50} > 500$ ppm dari ketiga konsentrasi etanol dikategorikan sangat lemah (Putri & Hidajati, 2015). Namun, dilihat dari nilai IC_{50} tiap konsentrasi terdapat perbedaan, yang mana semakin tinggi konsentrasi etanol, nilai IC_{50} semakin kecil atau potensi makin kuat. Seperti pada konsentrasi etanol 50% yang memiliki nilai IC_{50} lebih besar dari konsentrasi 96% karena kandungan air yang lebih tinggi dan polaritas yang lebih besar, sehingga cenderung mengekstraksi senyawa-senyawa polar atau bahkan senyawa inert seperti gula, protein, dan senyawa tak aktif lainnya dalam jumlah besar. Sementara itu, etanol 96% yang lebih non-polar lebih selektif dalam mengekstraksi senyawa semi-polar hingga non-polar seperti flavonoid. Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan melalui mekanisme pemberian ion hidrogen kepada radikal bebas, sehingga dapat menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Reaksi dari flavonoid dengan senyawa radikal DPPH dapat dilihat pada **Gambar 14** (Suryani *et al.*, 2025).



Gambar 14. Reaksi Flavonoid dengan DPPH (Suryani *et al.*, 2025)

Dengan demikian, meskipun secara kuantitas ekstrak etanol 50% menghasilkan rendemen lebih tinggi, namun secara kualitas, ekstrak etanol 96% memiliki komposisi senyawa aktif yang lebih dominan, seperti contohnya metoksiflavanon dan flavonoid terkonjugasi yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan. Penelitian yang dilakukan Pujiastuti & El'zaba (2021) juga menunjukkan bahwa kandungan flavonoid kulit buah naga tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 96%. Selain itu, dalam penelitian Wahyuni *et al.* (2021) mendapatkan hasil bahwa antioksidan ekstrak etanol kulit bawang merah konsentrasi 96% lebih kuat dari konsentrasi 60% dan 80%.

Untuk memastikan validitas data dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil uji menunjukkan bahwa data dari semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan memiliki variasi yang homogen ($> 0,05$) sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa data yang diperoleh terdapat perbedaan yang signifikan dari masing-masing kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Tukey* guna mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey*, seluruh perbandingan antar pasangan kelompok menunjukkan nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0.000 (< 0.05). Ini berarti bahwa seluruh kelompok perlakuan (Etanol 50%, 70%, 96%, dan Kuersetin) memiliki perbedaan yang signifikan terhadap nilai IC_{50} satu sama lain. Dengan kata lain, setiap perlakuan memiliki efek yang berbeda secara bermakna terhadap nilai IC_{50} . Hal ini menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi pelarut memengaruhi efektivitas senyawa terhadap IC_{50} secara signifikan.

Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanifa *et al.* (2024). Dimana, hasil IC_{50} ekstrak etanol jahe hitam konsentrasi 96% diperoleh nilai sebesar $530,57 \pm 24,64$ ppm. Namun, jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Prayoga (2024), terdapat perbedaan yang cukup signifikan. Prayoga (2024), menggunakan metode ekstraksi infusa dengan pelarut akuades pada jahe hitam asal Riau, yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1,65 ppm untuk sampel yang dikeringkan pada suhu ruang, dan 221,6 ppm untuk sampel yang dikeringkan menggunakan oven. Perbedaan signifikan tersebut dapat dijelaskan melalui perbedaan polaritas pelarut yang digunakan serta perbedaan senyawa bioaktif yang menjadi target penelitian. Akuades merupakan pelarut dengan polaritas lebih tinggi dibandingkan etanol 96%, sehingga cenderung mengekstraksi senyawa yang lebih polar seperti fenolik, yang menjadi target utama pada penelitian Prayoga (2024). Sementara itu, penelitian ini lebih berfokus pada senyawa flavonoid, yang bersifat kurang polar dibandingkan fenolik, dan lebih sesuai diekstraksi menggunakan pelarut etanol. Hal ini diperkuat oleh hasil uji fitokimia terhadap flavonoid, yang menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol 96%

menghasilkan intensitas warna paling pekat dibandingkan ekstrak etanol 50% dan 70%, menandakan bahwa flavonoid lebih banyak terekstraksi pada pelarut dengan polaritas lebih rendah. Dengan demikian, perbedaan senyawa target dan jenis pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidan. Untuk memperoleh ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, diperlukan fraksinasi, yang diharapkan dapat memaksimalkan perolehan senyawa bioaktif sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Selain itu, eksplorasi metode ekstraksi yang lebih selektif dan efisien juga perlu dilakukan.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA