

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RIMPANG
LEMPUYANG GAJAH (*Zingiber zerumbet Rhizoma*)
MENGUNAKAN METODE DPPH
(1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)**

SKRIPSI



**Oleh :
Dia Retno Dwi Faningrum
NIM 18040109**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RIMPANG
LEMPUYANG GAJAH (*Zingiber zerumbet Rhizoma*)
MENGUNAKAN METODE DPPH
(1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi
Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:
Dia Retno Dwi Faningrum
NIM 18040109

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti
seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Jember, 27 September 2022

Pembimbing 1



I Gusti Ayu Kamasih, M.Kep.,Sp.Mat
NIDN. 4005116802

Pembimbing 2



Apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm
NIDN. 0703028901

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul (Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) Menggunakan Metode DPPH (*1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl*)) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Senin

Tanggal : 14 November 2022

Tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Ketua Penguji

apt. Dyan Wigati, M.Sc
NIDN. 061109820

Penguji 2

I Gusti Ayu Kamasih, M.Kep.,Sp.Mat
NIDN. 4005116802

Penguji 3

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm
NIDN. 0703028901

Mengesahkan
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi

Hella Melay Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep
NIDN.0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dia Retno Dwi Faningrum

NIM : 18040109

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Demikian pemyataan ini saya buat dengan sebenar – benarnya.

Jember, September 2022

Yang menyatakan,



Dia Retno Dwi Faningrum
18040109

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RIMPANG
LEMPUYANG GAJAH (*Zingiber zerumbet Rhizoma*)
MENGUNAKAN METODE DPPH
(1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)**

Oleh :

Dia Retno Dwi Faningrum

NIM 18040109

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : I Gusti Ayu Karnasih, M.Kep.,Sp.Mat

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang telah memberi rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan naskah tugas akhir ini.
2. Dosen penguji dan dosen pembimbing yang telah membimbing dengan sabar dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Alm Abah dan Ibu yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, semangat dan semua keluarga atau saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu serta adikku yang selalu memberikan motivasi;
4. Suluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
5. Para sahabatku yang selalu setia memberikan bantuan serta dukungan dan mengeluarkan banyak waktunya untuk penulis;
6. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember;
7. Almamater Universitas dr Soebandi Jember.

MOTTO

"Kita menjadi bijak bukan oleh ingatan masa lalu kita, tetapi dengan tanggung jawab untuk masa depan kita."

George Bernard Shaw

"Keberhasilan adalah kemampuan untuk melewati dan mengatasi dari satu kegagalan ke kegagalan berikutnya tanpa kehilangan semangat."

Winston Churchill

ABSTRAK

Retno Dwi Faningrum, Dia,* Ayu Karnasih, I Gusti** Trianggaluh Fauziah, Dina***.2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Latar Belakang: Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan, terbentuk sebagai hasil antara (intermediet) dalam suatu reaksi organik melalui proses homolisis dari ikatan kovalen. Untuk menangkal radikal bebas maka diperlukan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*)

Metode: Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl) yang memiliki prinsip penurunan intensitas absorbansi DPPH yang sebanding dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dalam IC₅₀. Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 516 nm. Ekstraksi pada penelitian menggunakan metode perkolasi menggunakan pelarut 96%.

Hasil penelitian: Hasil ekstraksi perkolasi rimpang lempuyang gajah pada penelitian ini memiliki nilai rendemen 8,7%. Pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) yang didapatkan, ekstrak tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah flavonoid, fenolik, alkaloid dan tanin. Ekstrak rimpang lempuyang gajah juga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 67,5 µg/ml sedangkan untuk kuersetin memiliki nilai IC₅₀ sebesar 36,4 µg/ml.

Kesimpulan: Ekstrak rimpang lempuyang gajah memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah daripada kuersetin dimana berdasarkan nilai IC₅₀ kuersetin merupakan antioksidan yang tergolong dalam kategori sangat kuat sedangkan untuk ekstrak rimpang lempuyang gajah merupakan golongan antioksidan kuat.

Kata kunci : Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*), Radikal bebas, DPPH, IC₅₀.

*peneliti

**pembimbing 1

***pembimbing 2

ABSTRACT

Retno Dwi Faningrum, Dia,* Ayu Karnasih, I Gusti** Trianggaluh Fauziah, Dina***.2022. **Antioxidant Activity Test of Lempuyang Gajah Rhizome Extract (Zingiber zerumbet Rhizoma) Using the DPPH Method (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)**. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.

Introduction: Free radical is an atom or molecular structure with an unpaired electron that is used as an intermediate result of an organometallic reaction through the homolysis process of ikatan kovalen. Antioksidan is necessary to reduce bebas radical activity. The purpose of this essay is to understand antioxidant espionage activity in lempuyang gajah rhizome (Zingiber zerumbet Rhizoma).

Methods: The current study is a type of laboratory experiment using the DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl) method. It has the principle of increasing the intensity of DPPH absorption in comparison to the threshold concentration of an antioxidant indicated by the IC₅₀. Spectrofotometer UV-VIS was used for the absorption measurement at 516 nm. Extractionm method used in this research was percolation method. Those extraction used ethanol 96% as solvent.

Result and Analysis: The percolation extraction method produce extract with 8,7% rendemen value. The extract of lempuyang gajah rhizome (Zingiber zerumbet Rhizoma) contains many secondary metabolites, including flavonoid, fenolik, alkaloid, and tanin. L lempuyang gajah rhizome extract also has anti-oxsidan activity with an IC₅₀ of around 67,5 g/ml, whereas kuersetin has an IC₅₀ of around 36,4 g/ml.

Conclusion: the lempuyang gajah rhizome extract has lower antioxidant activity than quercetin which based on the IC₅₀ value quercetin is an antioxidant that belongs to the very strong category while the lempuyang gajah rhizome extract is a strong antioxidant group..

Keywords: Lempuyang Gajah rhizome (Zingiber zerumbet Rhizoma), Free radicals, DPPH, IC₅₀.

*author

**advisor 1

***advisor 2

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) Menggunakan Metode DPPH (*1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl*)”. Selama proses penyusunan skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep.,Ns.,MM. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi.
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.
4. I Gusti Ayu Karnasih, M.Kep.,Sp.Mat selaku Penguji II.
5. apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku Penguji III
6. apt. Dyan Wigati, M.Sc selaku Ketua Penguji.
7. Para dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa
8. Seluruh laboran laboratorium kimia dan biologi Universitas dr Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian

9. Ibu yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, semangat dan Keluarga atau Saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu serta adikku yang selalu memberikan motivasi
10. Silca dan sheila yang telah memberi semangat dan banyak membantu penulis dalam melakukan persiapan bahan dan penelitian serta banyak dukungan lain yang membantu penulis.
11. Teman-teman saya saat berkuliah di Universitas Jember
12. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember

Dalam penyusunan tugas akhir ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini agar dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Jember, 29 September 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>)	5
2.1.1 Morfologi Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>) ..	5
2.1.2 Taksonomi Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>)	6
2.1.3 Manfaat Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>)	6

2.1.4	Cara Budidaya Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>).....	7
2.1.5	Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman <i>Zingiber zerumbet</i> .	7
2.2	Ekstraksi.....	10
2.2.1	Pengertian Ekstraksi	10
2.2.2	Metode Ekstraksi	11
2.3	Antioksidan	17
2.3.1	Pengertian Antioksidan	17
2.3.2	Jenis Antioksidan.....	18
2.3.3	Mekanisme Kerja Antioksidan	29
2.4	Metode Uji Aktivitas Antioksidan	31
2.4.1	Metode Pengujian Antioksidan	31
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	35
3.1	Kerangka Konseptual	35
3.2	Hipotesis Penelitian.....	36
BAB 4	METODOLOGI PENELITIAN	37
4.1	Desain Penelitian.....	37
4.2	Populasi dan Sampel	37
4.2.1	Populasi Penelitian	37
4.2.2	Sampel Penelitian	37
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	38
4.4	Variabel Penelitian	38
4.4.1	Variabel Bebas.....	38
4.4.2	Variabel Terikat.....	38
4.4.3	Variabel Terkendali	38
4.5	Definisi Operasional.....	38
4.6	Alat dan Bahan	39
4.6.1	Alat	39
4.6.2	Bahan.....	40
4.7	Prosedur Penelitian.....	40

4.7.1	Determinasi Tanaman Rimpang Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet Rhizoma</i>).....	40
4.7.2	Preparasi Sampel	40
4.7.3	Pembuatan Ekstrak Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>) .	40
4.7.4	Uji fitokimia	41
4.7.5	Uji Aktivitas Antioksidan.....	42
4.8	Tehnik Pengumpulan Data.....	44
4.9	Tehnik Analisa Data.....	45
BAB 5	HASIL PENELITIAN	46
5.1	Hasil Determinasi Tanaman.....	46
5.2	Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	46
5.3	Ekstraksi	46
5.4	Uji Fitokimia	47
5.5	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	47
5.5.1	Hasil Penentuan Absorbansi DPPH.....	47
5.5.2	Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	48
5.5.3	Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah	48
5.5.4	Hasil Pengujian Larutan pembanding Kuersetin	49
5.5.5	Hasil Analisis Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah dan Kuersetin	49
BAB 6	PEMBAHASAN	51
6.1	Hasil Ekstraksi Rimpang Lempuyang Gajah	51
6.2	Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah.....	52
6.3	Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah dan Kuersetin	53
6.4	Analisis Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah dengan Kuersetin.....	54
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	56
7.1	Kesimpulan.....	56
7.2	Saran.....	56

DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1. Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1. Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	33
Tabel 4.1. Definisi Operasional	37
Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah.....	46
Tabel 5.2 Hasil Uji Fitokimia	47
Tabel 5.3 Hasil Analisis Nilai % Inhibisi Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah ...	49
Tabel 5.4 Hasil Analisis % Peredaman DPPH oleh Pembanding Kuersetin	49
Tabel 5.5 Hasil Nilai IC50 Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah dan Pembanding Kuersetin.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Lempuyang Gajah	6
Gambar 2.2 Ekstrasi Maserasi	12
Gambar 2.3 Alat Perkolasi	14
Gambar 2.4 Refluks	15
Gambar 2.5 Sokhletasi	15
Gambar 2.6 Destilasi.....	16
Gambar 5.1. Kurva Absorbansi DPPH	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Form Usulan Judul	59
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman	60
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	61
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah	63
Lampiran 5. Uji Fitokimia.....	64
Lampiran 6. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah	66
Lampiran 7. Grafik Panjang Gelombang DPPH	67
Lampiran 8. Perhitungan Pengujian Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	68

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan, terbentuk sebagai hasil antara (intermediet) dalam suatu reaksi organik melalui proses homolisis dari ikatan kovalen. Reaktivitas senyawa radikal bebas akan secepat mungkin menyerang komponen seluler yang berada disekelilingnya seperti senyawa lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA, maupun DNA. Akibat reaktivitas radikal bebas akan menimbulkan terjadinya kerusakan struktur maupun fungsi sel. Stres oksidatif adalah suatu keadaan ketika kandungan oksidan dan radikal bebas di dalam tubuh lebih banyak dibandingkan antioksidan.(Prasonto *et al.*, 2017)

Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau menetralkan adanya radikal bebas sehingga atom dengan elektron tidak berpasangan mendapat pasangan elektron. Antioksidan berfungsi mencegah adanya reaksi oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah mengalami oksidasi (teroksidasi) dengan bantuan menyumbangkan elektron atau atom hidrogennya. (Prasonto *et al.*, 2017)

Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas melalui donor elektron sehingga radikal bebas lebih stabil dan tidak reaktif. Senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan dapat diperoleh dari berbagai sumber, salah satunya adalah antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman. (Rasyid *et al.*, 2020)

Kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid, turunan kumarin dan lainnya yang terkandung di dalam bahan tanaman tertentu diketahui dapat menangkal

stres oksidatif di tubuh manusia dengan cara membantu mempertahankan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan. (Prasonto *et al.*, 2017)

Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet L Smith*) sebagai salah satu agen antioksidan tumbuh melimpah di Indonesia. Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu contoh polifenol yang paling banyak ditemukan didalam tumbuhan. Senyawa-senyawa polifenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan menghambat reaksi oksidasi dengan cara menangkap radikal bebas. Gugus fenol dalam flavonoid akan menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas yang tidak berpasangan sehingga radikal bebas itu menjadi stabil kembali. (Syarifah, 2019)

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhidrazil). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada Panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. (Winardi *et al.*, 2020)

Metode DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana dengan tingkat sensitivitas DPPH sebagai senyawa radikal bebas cukup tinggi. Nilai IC50 adalah parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan. (Mau, Maria *et al.*, 2016)

Hasil KLT menunjukkan adanya flavonoid total lempuyang gajah adalah $9,654 \pm 0,276$ mg kuersetin/ g ekstrak. Nilai IC50 lempuyang gajah adalah 147,265 µg/ml. Korelasi flavonoid total dan aktivitas antioksidan lempuyang gajah adalah 0,790. (Syarifah, 2019)

Berdasarkan hasil penelitian Mutma'inah (2018) desa Greden memiliki tingkat kesuburan tanah yang merata dengan kedalaman zona tanah yang subur sampai 239 cm dimana hal ini sangat mendukung tanaman lempuyang gajah tumbuh dengan subur di wilayah tersebut

Lempuyang gajah dapat ditemukan di desa grenden. Meskipun populasinya tidak banyak tetapi lempuyang gajah dapat ditemukan di dusun ini yang mana masih berada di Kecamatan Puger. Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti ingin melakukan penelitian untuk menilai aktifitas antioksidan dari tanaman lempuyang gajah.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak rimpang lempuyang gajah?
- 2) Berapa nilai IC50 pada ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

- 1) Untuk menganalisa aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan menggunakan metode DPPH
- 2) Untuk mengidentifikasi nilai IC50 pada ekstrak rimpang lempuyang gajah menggunakan metode DPPH

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak rimpang lempuyang gajah
- 2) Mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah

- 3) Mengidentifikasi aktivitas antioksidan pembanding Kuersetin
- 4) Menganalisis perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan kuersetin.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Manfaat Bagi Peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan menggunakan metode DPPH

- 2) Manfaat Bagi Peneliti Lain

Sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya

- 3) Manfaat Bagi Masyarakat

Menambah pengetahuan dan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat rimpang lempuyang gajah sebagai antioksidan

1.5 Keaslian Penelitian

Dalam kajian pustaka di bahas temuan dari kajian sebelumnya untuk melihat keaslian, kejelasan arah dan kemanfaatan dari penelitian ini. Adapun penelitian sebelumnya adalah sebagai berikut :

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Peneliti	Judul Jurnal	Persamaan	Perbedaan
Syarifah, 2019	penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol lempuyang gajah (<i>Zingiber zerumbet L.</i>) dan lempuyang wangi (<i>Zingiber aromaticum Valetton</i>)	1. Menggunakan metode ekstraksi maserasi 2. Penggunaan pelarut etanol 3. Menggunakan ekstrak etanol lempuyang gajah (<i>Zingiber zerumbet</i>)	1. Uji aktivittas antioksidan menggunakan metode FRAP 2. Menggunakan ekstrak etanol (<i>Zingiber aromaticum Valetton</i>)

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

Lempuyang gajah merupakan tanaman yang tumbuh melimpah di Indonesia. Tanaman ini merupakan tanaman dengan batang semu dengan daun berbentuk lonjong. Bunga dari tanaman ini keluar melalui permukaan tanah yang berbentuk bonggol. Pada saat muda, bunga tersebut memiliki kuncup berwarna hijau dan semakin lama akan berubah menjadi warna putih. Rimpang tanaman ini berbentuk agak kecil dan lebih berserat serta mempunyai rasa pedas dengan bau yang khas.

2.1.1 Morfologi Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

Lempuyang merupakan tanaman tahunan yang memiliki batang tegak. Batangnya merupakan batang semu yang terdiri dari helaian kelopak daun yang saling membungkus. Daun lempuyang berbentuk seperti bulat memanjang dengan ujung meruncing dan pangkal mengecil. Ukuran daun dalam kisaran panjang 25-40 cm dan lebar 10-15 cm. Daun berwarna hijau dan memiliki permukaan licin. (Nurchayati, 2021)

Bunga merupakan bunga majemuk yang muncul dari umbi batang dan berbonggol pada bagian atas. Biji tanaman ini berbentuk bulat panjang, berwarna hitam dan berukuran sekitar 4 mm. Akar dari tanaman lempuyang merupakan akar serabut berwarna kuning keputihan. Rimpangnya berbentuk agak pipih. Ujungnya bercabang-cabang pendek. Rimpang memiliki rasa pedas seperti menthol dan sedikit pahit. (Nurchayati, 2021).

2.1.2 Taksonomi Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)



Gambar 2.1 Lempuyang Gajah

Taksonomi tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) yaitu :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Genus	: <i>Zingiber</i>
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales (Scitami-neae)</i>
Familia	: <i>Zingiberaceae</i>
Subfamilia	: <i>Zingiberoideae</i>
Nama ilmiah	: <i>Zingiber zerumbe</i>
Nama daerah	: Lempuyang
Nama Asing	: Bitter ginger (Inggris), Luiang-isui (Tagalog).

(Nurchayati, 2021)

2.1.3 Manfaat Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

Lempuyang di wilayah pulau Jawa banyak digunakan sebagai bahan jamu.

Tanaman tersebut berkhasiat untuk melangsingkan badan, penambah nafsu

makan, penghangat badan, obat pusing, obat disentri, mengatasi radang tenggorokan, dan membantu mengeluarkan gas pada perut kembung. Selain itu tanaman lempuyang dapat digunakan untuk mengatasi reaksi alergi makanan, encok dan rematik, serta penambah darah.(Nurchayati, 2021)

Di Brazil, *Zingiber zerumbet* ditemukan di wilayah Amazon, Taruma-mirim dan Puraquequara (daerah pedesaan Manaus, Amazon, Brazil). Senyawa kimia utama yang ditemukan dalam *Zingiber zerumbet* adalah terpena dan polifenol.

Turunan senyawa tersebut seperti zerumbon dan seskuiterpena merupakan senyawa biokatif yang ditemukan pada *Zingiber zerumbet* yang kemudian lebih lanjut dipelajari sifat obatnya. Hasil ekstrak dan isolasi metabolit dari *Zingiber zerumbet* telah menunjukkan beberapa sifat yang mendukung seperti: antiradang, antioksidan, antidiabetes, anti kanker, antimikroba, analgesik, dan antivirus.(Fatmawati, 2019)

2.1.4 Cara Budidaya Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

Teknik budidaya tanaman lempuyang dapat dilakukan dengan menggunakan biji. Pemeliharaannya juga mudah yaitu dengan penyiraman yang cukup, menjaga kelembaban, dan pemupukan terutama pupuk dasar.(Nurchayati, 2021)

2.1.5 Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman *Zingiber zerumbet*

Metabolit sekunder tumbuhan merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder, dengan menggunakan senyawa antara yang dari proses metabolisme primer, seperti senyawa antara dari proses glikolisis. Secara umum metabolit sekunder dibedakan menjadi alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Berbagai jenis metabolit sekunder dihasilkan tumbuhan dengan fungsi yang

berbeda-beda seperti antifeedant, antimikroba, dan anti grazing. Tumbuhan menyimpan metabolit sekunder pada organ yang berbeda. (Silalahi, 2018)

Metabolit sekunder yang ditemukan pada *Zingiber zerumbet* *Rhizoma* antara lain: flavonoids (kaempferol, quercetin, dan curcumin) dan minyak atsiri/volatile oils. Minyak atsiri yang terdapat pada *Zingiber zerumbet* seperti cyclic sesquiterpene zerumbone atau 2,6,9-humulatrien-8-one sebagai komponen utama dan humulene camphene. (Silalahi, 2018)

Lempuyang mempunyai aktivitas sebagai inhibitor tumor dari *aktivasi* Epstein-barr. Lempuyang juga memiliki manfaat sebagai anti radang dan dapat mencegah senyawa anion TPA superoksida yang dihasilkan dari NADH pada DMSO HL-60 pada manusia yang memiliki sel leukemia dan xantin oksidasi pada AS 52 sel ovarium hamster. Pencegahan yang dilakukan cukup efektif dengan menurunnya konsentrasi nitrit dan prostaglandin E, tanpa mengubah jumlah Cox-1. Senyawa zerumbone, yang diisolasi dari lempuyang, digunakan untuk menghambat proliferasi dari sel adenokarsinoma tanpa adanya pengaruh pertumbuhan dermal manusia normal (2FO-C25) dan kolon (CCD-18CO) secara signifikan. Selain itu, senyawa fenolat lain yang diisolasi dari akar lempuyang juga menunjukkan anti inflamasi, diantaranya 3-O-metil kaempferol, kaempferol-3-O (2,4-di-O-asetil-a-L-ramnopiranosida), dan kaempferol-3-O-(3,4-di-O asetil a-L-ramnopiranosida). (Fatmawati, 2019)

Zerumbone dalam produk fitokimia makanan (neutraceutical), memiliki potensi yang tinggi dalam anti peradangan, kemoprevensi, kemoterapi dan

memiliki potensi sebagai inhibitor pencegahan HIV yang cukup besar. (Fatmawati, Sri, 2019)

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6. (Julianto, 2019)

Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos=bunga, kyanos, biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70%. (Julianto, 2019)

Senyawa golongan flavonoid umumnya bersifat polar, karena memiliki beberapa gugus hidroksil atau juga sering dijumpai dalam bentuk flavon glikosida. Senyawa golongan flavonoid umumnya memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas tersebut diduga, karena golongan flavonoid memiliki gugus fungsi hidroksil. (Saidi *et al.*, 2018)

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Peran ekstraksi dalam analisis fitokimia sangat penting karena sejak tahap awal hingga akhir menggunakan proses ekstraksi termasuk fraksinasi dan pemurnian. Metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik, dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan di ekstraksi. Pelarut yang digunakan tergantung pada polaritas senyawa yang akan di sari, mulai yang bersifar nonpolar hingga polar, sering disebut sebagai ekstraksi bertingkat. Pelarut yang di gunakan dimulai dengan heksana, petroleum eter lalu selanjutnya kloroform atau diklometana, diikuti dengan alkohol, metanol dan terakhir apabila diperlukan digunakan air. (Hanani, 2015)

Dalam melakukan ekstraksi terhadap simplisia sebaiknya gunakan simplisia yang segar tetapi karena berbagai keterbatasan umumnya dilakukan terhadap bahan yang telah dikeringkan. Kerja berbagai enzim yang terdapat dalam simplisia segar akan dihambat pada proses ekstraksi. Pengeringan simplisia dilakukan setelah kerja enzim dihambat dengan cara mencelupkan dalam metanol mendidih selama beberapa detik sehingga perubahan senyawa secara enzimatis dapat dicegah atau dikurangi. Cara pengeringan dipilih yang tidak meyebabkan terjadinya perubahan metabolit baik secara kualitatif ataupun kuantitatif. Pengeringan dilakukan secepat-cepatnya, selain pengaruh sinar matahari dengan suhu yang tidak terlalu tinggi. Salah satu contoh pengeringan yang sering

dilakukan adalah dengan aliran udara. Sebelum simplisia di ekstraksi simplisia kering dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat dan tidak terlalu lama untuk mencegah timbulnya hama/kutu yang dapat merusak kandungan kimia. Pengcilan ukuran diperlukan agar proses ekstraksi berjalan cepat. (Hanani, 2015)

Tujuan ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Pemilihan metode ekstraksi dilakukan dengan memperhatikan sifat senyawa, pelarut yang digunakan dan alat yang tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. Alkohol merupakan salah satu pelarut yang paling banyak di pakai untuk menyari secara total. (Hanani, 2015)

2.2.2 Metode Ekstraksi

Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain:

1) Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang, kinetic adalah cara ekstraksi seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60° C. (Hanani, 2015)



Gambar 2.2 Ekstraksi Maserasi

2) Perkolasi

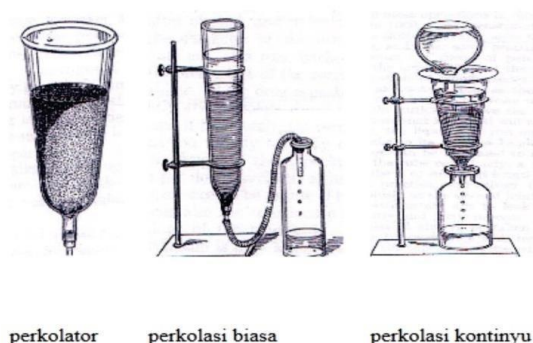
Perkolasi adalah cara ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna. Cara ini memerlukan waktu lebih lama dan pelarut yang lebih banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik. (Hanani, 2015)

Prinsip ekstraksi secara perkolasi adalah serbuk simplisia di tempatkan dalam suatu wadah bejana berbentuk silinder, yang bagian bawah silinder diberi sekat berpori, dimana cairan penyari dialirkan dari bagian atas kebagian bawah melalui serbuk simplisia, dimana cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel simplisia yang dilalui sampel dalam kondisi jenuh. Gerakan kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan tekanan penyari dari cairan diatasnya, dikurangi daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan kebawah.

Bentuk perkolator ada tiga macam yaitu perkolator berbentuk tabung, perkolator berbentuk paruh dan perkolator berbentuk corong. pemilihan perkolator tergantung pada jenis serbuk simplisia yang akan disari. Serbuk kina yang

mengandung sejumlah besar zat aktif yang larut, tidak baik jika diperkolasi dengan alat perkolasi yang sempit, sebab perkolat akan menjadi pekat dan berhenti mengalir. Pada pembuatan tinctur dan ekstrak cair, jumlah cairan penyari yang tersedia lebih besar dibandingkan dengan jumlah cairan penyari yang diperlukan untuk melarutkan zat aktif. Dalam kondisi tersebut, proses pembuatan sediaan digunakan perkolator lebar untuk mempercepat proses perkolasi.

Perkolator berbentuk tabung biasanya digunakan untuk pembuatan ekstrak cair, perkolator berbentuk paruh biasanya digunakan untuk pembuatan ekstrak atau tingtur dengan kadar tinggi, perkolator berbentuk corong biasanya digunakan untuk pembuatan ekstrak atau tingtur dengan kadar rendah.



Gambar 2.3 Alat Perkolasi

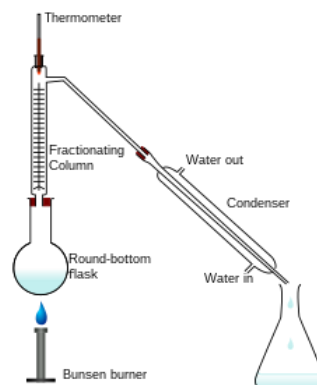
Proses perkolasi memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan cara maserasi karena adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah sehingga dapat meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Ruangan diantara butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler maka kecepatan pelarut

cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Kerugian dari proses perkolasi adalah serbuk simplisia yang mengandung zat aktif akan larut, tidak baik bila diperkolasi menggunakan alat perkolasi yang sempit sebab perkolat akan segera menjadi pekat dan berhenti mengalir. Kekuatan yang berperan dalam proses perkolasi adalah gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adhesi, daya kapiler dan daya geseran.

3) Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna refluks umumnya dilakukan berulang – ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas. (Hanani, 2015)

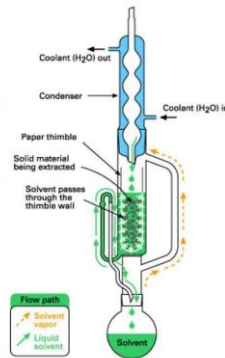


Gambar 2.4 Refluks

4) Sokhletasi

Sokhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet pada sokhletasi simplisia dan ekstrak berada pada labu

berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap dan uap masuk dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh pada simplisia sehingga ekstraksi berlangsung terus – menerus dengan jumlah pelarut relative konstan. Ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung. (Hanani, 2015)



Gambar 2.5 Sokhletasi

5) Infusa

Infus adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air pada suhu 96-98°C selama 15 – 20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun. (Hanani, 2015)

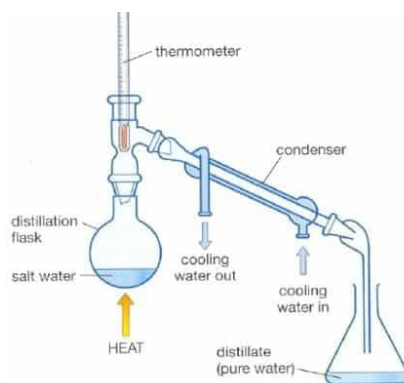
6) Dekok

Dekok adalah cara ekstraksi yang mirip dengan infusa hanya saja waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air. (Hanani, 2015)

7) Destilasi (penyulingan)

Destilasi merupakan cara ekstraksi untuk menarik atau menyari senyawa yang ikut menguap dengan air sebagai pelarut. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan terkondensasi dan terpisah menjadi destilat air dan senyawa yang

diekstraksi. Cara ini umum digunakan untuk menyari minyak atsiri dari tumbuhan. (Hanani, 2015)



Gambar 2.6 Destilasi

8) Lawan arah (Counter current)

Cara ekstraksi ini serupa dengan perkolasi, tetapi simplisia bergerak berlawanan arah dengan pelarut yang digunakan. Cara ini banyak digunakan untuk ekstraksi herbal dalam skala besar. (Hanani, 2015)

9) Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik melibatkan penggunaan gelombang ultrasonic dengan frekuensi 20-2000 kHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan isi sel keluar. Frekuensi getaran mempengaruhi hasil ekstraksi. (Hanani, 2015)

10) Gelombang mikro (Microwave Assited Extraction, MAE)

Ekstraksi menggunakan gelombang mikro (2450 MHz) merupakan ekstraksi yang selektif dan digunakan untuk senyawa yang memiliki dipol polar. Cara ini dapat menghemat waktu ekstraksi dibandingkan dengan cara konvensional seperti maserasi dan menghemat pelarut. (Hanani, 2015)

11) Ekstraksi gas superkritis (Supercritical Gas Extraction, SGE)

Metode ekstraksi menggunakan CO₂ dengan tekanan tinggi, dan banyak digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri atau senyawa yang bersifat mudah menguap atau termolabil. Penggunaan karbondioksida lebih disukai karena bersifat inert, toksisitasnya rendah, aman bagi lingkungan, harga relative murah dan tidak mudah terbakar pada kondisi superkritisnya.(Hanani, 2015)

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Oksidasi dan produk radikal bebas adalah bagian integral dari kehidupan dan metabolisme. Radikal bebas diproduksi dalam tubuh untuk memenuhi fungsi biologis penting seperti fagositosis, pertumbuhan sel, dan signal interselular walaupun demikian, radikal bebas tersebut hanya berguna bila diproduksi dalam jumlah yang tepat dan pada tempat dan waktu yang tepat pula. Sebaliknya mereka bisa sangat berbahaya karena mereka sangat reaktif dan dengan cepat menyerang molekul yang berada sangat dekat.(Yuslianti, 2018)

Supaya dapat bertahan dari serangan bahaya radikal bebas manusia dan organisme lainnya membangun suatu sistem yang disebut antioksidan yaitu senyawa-senyawa pemberi elektron (elektron donor) dimana dalam arti biologis, istilah antioksidan berarti semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif radikal bebas, termasuk enzim-enzim dan protein pengikat logam. (Yuslianti, 2018)

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel,

pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai electron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat masuk kedalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Efek negatif radikal bebas terhadap tubuh tersebut dapat dicegah dengan senyawa antioksidan. Antioksidan sangat berkaitan dengan penangkalan radikal bebas yang masuk kedalam tubuh dengan memperlambat proses oksidasi. Antioksidan juga memiliki kemampuan memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas. (Ramadhan *et al.*, 2020)

2.3.2 Jenis Antioksidan

a) Antioksidan Berdasarkan Sumbernya

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua macam antioksidan yaitu antioksidan dalam tubuh kita (antioksidan enzimatik) serta antioksidan non-enzimatik yang terdiri dari antioksidan dari alam sekitar (antioksidan alami) dan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia (antioksidan sintetis). (Yuslianti, 2018)

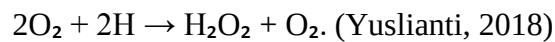
1) Antioksidan enzimatik

Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroxidase, peroxidase dan katalase. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan yang berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. (Yuslianti, 2018)

Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh antara lain adalah :

(1) Superoksida Dismutase

Superoksida Dismutase merupakan antioksidan enzimatik yang dihasilkan oleh rantai transport electron pada rantai pernafasan sel yang menghasilkan hidrogen peroksid. Superoksida Dismutase terdiri dari MnSOD (mitokondria) dan CuZn SOD (sitosol). Superoksida Dismutase (SOD) dapat mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida.



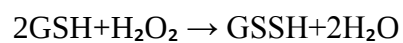
Fungsi enzim superoksida dismutase adalah memberikan perlindungan bagi organisme aerob terhadap kemungkinan efek superoksida yang merusak. Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja apabila ada pembantunya yaitu berupa mineral-mineral seperti tembaga, mangan yang bersumber pada kacang-kacangan, padi-padian. Dengan demikian sangat diperlukan sekali mengkonsumsi bahan tersebut di atas. Sayangnya kita lebih senang mengkonsumsi bahan yang enak dimakan. Bagi orang yang mampu, kekurangan mineral dapat dilakukan dengan meminum multivitamin dan suplemen mineral tetapi bagi orang yang hidupnya sedang-sedang saja lebih baik mengkonsumsi mineral dari tanaman karena banyak juga tanaman yang dapat menghasilkan SOD antara lain brokoli, bayam, sawi dan juga hasil-hasil olahan seperti tempe. (Yuslianti, 2018)

(2) Glutation

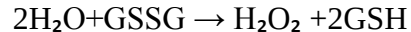
Glutation (GSH) adalah enzim yang mampu menangkap radikal bebas dalam sel. Glutation diproduksi di dalam dan di luar sel serta di seluruh organ tubuh, disintesis di dalam sel memerlukan beberapa enzim spesifik dalam proses

pembentukannya. Glutation terdiri dari tiga asam amino yaitu sistin, glisin, dan asam glutamat. (Yuslianti, 2018)

Glutation peroksidase (GPx) adalah enzim glutation yang mengandung selenium dapat mengubah hidrogen peroksida yang dibentuk oleh enzim SOD di dalam sitosol dan mitokondria dengan cara mengoksidasi tripeptida glutation (GSH) menjadi bentuk yang teroksidasi (GSSH) sebagai berikut :



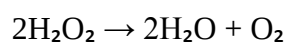
Glutation peroksidase (GPx) adalah enzim yang berperan aktif dalam menghilangkan H_2O_2 dalam tubuh dan mempergunakannya untuk mengubah glutation (GSH) menjadi glutation teroksidasi (GSSG) dengan reaksi sebagai berikut :



Enzim tersebut mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. Makanan yang kaya glutation adalah kubis, brokoli, asparagus, alpukat, dan kenari. Glutation sangat penting sekali melindungi membran sel. (Yuslianti, 2018)

(3) Katalase

Enzim katalase berfungsi mendukung aktivitas enzim SOD dan dapat mengkatalisis perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air.



Katalase

Enzim-enzim tersebut di atas dalam bekerjanya sangat membutuhkan mineral-mineral penyusun sebagai berikut : Copper (Cu), Zinc (Zn), Selenium (Se), Manganese (Mn), Besi (Fe). (Yuslianti, 2018)

(4) Protein Pengikat Metal

Protein selular yang berfungsi mengikat/mengkhelat mineral mineral prooksidan seperti besi dan tembaga serta logam lainnya. Protein Pengikat Metal, mencegah adanya ion Fe^2 untuk pembentukan radikal hidroksil (OH).

Molekul yang termasuk protein pengikat metal adalah transferrin berfungsi sebagai protein transpot zat besi, ferritin berfungsi sebagai protein penyimpan besi, metallothionein berfungsi pengikat mineral dan logam berat lainnya (Zn/Cu/Cd/Hg), dan seruloplasmin yang berfungsi sebagai protein transport dan penyimpan tembaga. (Yuslianti, 2018)

2) Antioksidan Alami

Dunia ini memiliki banyak sumber antioksidan yang diperoleh dari lingkungan sekitar manusia sebagai antioksidan alami. Sumber antioksidan tersebut dapat berasal dari molekul senyawa yang berasal dari satu atau dua komponen makanan, molekul senyawa yang berasal dari hasil reaksi melalui proses pengolahan, dan molekul senyawa yang berasal dari sumber alami kemudian diisolasi untuk ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan makanan. (Yuslianti, 2018)

Zat aktif antioksidan dapat diekstrak dari sumber alami lingkungan kita baik dari yang berasal bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran bahan tersebut. Sumber alami dari bahan tumbuhan

sangat melimpah, kingdom tumbuhan. Angiosperm memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. (Yuslianti, 2018)

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat beraksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, dan peredam terbentuknya singlet oksigen. (Yuslianti, 2018)

Sebanyak 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya sehingga flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Lebih lanjut disebutkan bahwa sebenarnya flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga pastilah ditemukan pula pada setiap telaah ekstrak tumbuhan, kebanyakan dari golongan flavonoid dan senyawa yang berkaitan erat dengannya memiliki sifat-sifat antioksidan baik didalam lipida cair maupun dalam makanan

berlipida. Bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami sangat melimpah, bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, seperti asam-asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tokoferol, karotenoid, tanin, peptida, melanoidin, produk produk reduksi, dan asam-asam organik. (Yuslianti, 2018)

3) Antioksidan sintetik

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidoksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial

(1) Butil hidroksi anisol (BHA)

(2) Butil hidroksi anisol (BHA) memiliki kemampuan antioksidan (carry through, kemampuan antioksidan baik dilihat dari ketahanannya. terhadap tahap-tahap pengelolaan maupun stabilitasnya pada produk akhir) yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih dan dijual dalam bentuk tablet atau serbuk, bersifat volatil sehingga berguna untuk penambahan ke materi pengemas. (Yuslianti, 2018)

(3) Butil hidroksi toluen (BHT)

Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat serupa BHA, akan memberi efek sinergis bila dimanfaatkan bersama BHA, berbentuk kristal padat putih dan digunakan secara luas karena relatif murah. (Yuslianti, 2018)

(4) Propil galat

Propil galat mempunyai karakteristik sensitif terhadap panas, terdekomposisi pada titik cairnya 148 °C, dapat membentuk kompleks warna dengan ion metal, sehingga kemampuan antioksidannya rendah. Selain itu, propil galat memiliki sifat berbentuk kristal padat putih, sedikit tidak larut lemak tetapi larut air, serta memberi efek sinergis dengan BHA dan BHT. (Yuslianti, 2018)

(5) Tert-butil hidoksi quinon (TBHQ)

Tert-butil hidoksi quinon (TBHQ) dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk lemak dan minyak, khususnya minyak tanaman karena memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada penggorengan tetapi rendah pada pembakaran. Bila TBHQ direkomendasikan dengan BHA yang memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada pemanggangan akan memberikan kegunaan yang lebih luas. TBHQ dikenal berbentuk bubuk putih sampai coklat terang, mempunyai kelarutan cukup pada lemak dan minyak, tidak membentuk kompleks warna dengan Fe dan Cu tetapi dapat berubah pink dengan adanya basa. (Yuslianti, 2018)

Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik seperti Torlok C, Prowl galat, dan mono-tertiery-butyl-hidroquinone (TBHQ) sedang mendapat perhatian

karena mempunyai efek mengurangi kerusakan oksidatif namun mempunyai aktivitas yang dapat merugikan konsumen, antara lain gangguan fungsi hati, paru-paru, mukosa usus, dan keracunan. Mengatasi hal tersebut sebaiknya dipilih memanfaatkan antioksidan alami. (Yuslianti, 2018)

b) Antioksidan Berdasarkan Komponen Pembentukannya

Berdasarkan komponen pembentukannya, terdapat antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh (endogen) dan antioksidan yang didapat dari makanan (eksogen)

1) Komponen endogen sistem antioksidan.

(1) Glutathion (GSH)

Glutathion memiliki dua bentuk enzim, yaitu glutathion reduktase dan glutathion peroksidase. Glutathion peroksidase adalah salah satu cara utama yang digunakan oleh tubuh untuk melindungi diri dari kerusakan oksidatif. (Yuslianti, 2018)

Enzim ini mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida dan peroksida lipid oleh glutathion (γ -glutamyl-sisteinylglycine). Gugus sulfhidril pada glutathion (GSH) berfungsi sebagai donor elektron, dan dioksidasi menjadi bentuk disulfida (GSSG) selama reaksi tersebut. Apabila disulfida telah terbentuk, disulfida harus direduksi kembali menjadi bentuk sulfhidril oleh glutathion reduktase, Glutathion reduktase memerlukan elektron dari NADPH, yang biasanya dihasilkan dari jalur pentosa fosfat. (Yuslianti, 2018)

(2) Fe-katalase

Enzim katalase merupakan antioksidan berupa enzim. Katalase tergolong kelas enzim oksidoreduktase, yaitu kelas enzim yang mengkatalis reaksi oksidasi reduksi. Katalase berperan dalam pemecahan senyawa H_2O_2 , menjadi H_2O dan O . Katalase banyak ditemukan pada sel darah merah, sitoplasma, mitokondria dan peroksisom berbagai sel. (Yuslianti, 2018)

Aktifitas katalase yang rendah menunjukkan adanya penumpukan H_2O_2 yang mengakibatkan oksidasi gugus-SH dari protein dan peroksidasi lipid pada membran sel. H_2O_2 bereaksi pada jarak yang cukup jauh dari tempat pembentukannya, sehingga potensial menimbulkan kerusakan pada susunan saraf pusat. Selain itu, myelin sel saraf kaya asam lemak tak jenuh sehingga peka terhadap kerusakan oksidatif. (Yuslianti, 2018)

(3) NADPH

(4) Ubiquinol-10 (mengurangi koenzim Q10)

(5) Mn, Cu, Zn-superoksid dismutase (SOD)

SOD merupakan salah satu antioksidan enzimatis. Ada tiga jenis SOD yang sudah diketahui, yaitu copper zinc superoxide dismutase (CuZnSOD), manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) dan iron superoxide dismutase (FeSOD). CuZnSOD dan Mn-SOD terdapat pada manusia. CuZnSOD terdapat di retikulum endoplasma, nukleus dan peroksisom, sedangkan Mn-SOD terdapat di mitokondria. Logam Cu sebagai katalisator sedangkan Zn diperlukan sebagai stabilisator enzim. Fungsi SOD untuk mempercepat dismutase O_2 dan pembentukan H_2O_2 . Superoksida dismutase sering

disebut sebagai pertahanan primer terhadap stres oksidatif karena superoksida adalah inisiator reaksi berantai yang kuat. Karena fungsinya itu SOD digunakan juga sebagai parameter pengukuran antioksidan alami dalam tubuh.

- (6) Asam urat
- (7) Asam lipoat
- (8) Beberapa hormon dengan aktifitas antioksidan (melatonin, DHEA)
- (9) Metal binding protein termasuk albumin (albumin terikat thiol dan bilirubin), Fe dan Cu-binding protein (transferin ceruloplasmin) dan Fe-complex binding protein (heptoglobin, hemopexin). (Yuslianti, 2018)
- 2) Komponen eksogen sistem antioksidan:
 - (1) Tokoferol dan tokotrienol (vitamin E)
 - (2) Askorbat (vitamin C)
 - (3) Vitamin A dan karotenoid (B-karoten, likopen, lutein, dan lain-lain)
 - (4) Se dan logam esensial yang lain untuk fungsi enzim antioksidan
 - (5) Fitokimia dengan aktifitas antioksidan
 - (6) Suplemen (CoQ10, glutathion, asam lipoat, dan lain-lain)
 - (7) Antioksidan makanan (BHA, BTH, propyl gallate, TBHQ, ekstrak rosemary). (Yuslianti, 2018)
- c) Antioksidan Berdasarkan Fungsinya

Antioksidan berdasarkan mekanisme kerja dan fungsinya dalam meredam radikal bebas dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier.

1) Antioksidan Primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena kelompok antioksidan ini dapat mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang lebih stabil sebelum bereaksi membentuk radikal bebas baru, contohnya adalah Superoksida Dismutase (SOD). glutathione peroksidaše, katalase, peroksidase dan protein pengikat logam (feritin, seruloplasmin, albumin, haptoglobin. hemopeksin, transferin dan laktoferin). Antioksidan primer selain bekerja mencegah terbentuk radikal bebas baru, antioksidan ini bekerja dengan mengubah reaktivitas radikal bebas menjadi kurang reaktif sehingga tidak berbahaya bagi sel tubuh manusia. (Yuslianti, 2018)

Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini sangat penting sekali karena dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Bekerjanya enzim ini sangat dipengaruhi oleh mineral mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang terdapat dalam makanan dan minuman. (Yuslianti, 2018)

2) Antioksidan Sekunder

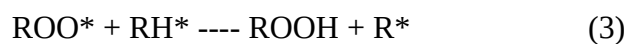
Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Antioksidan sekunder diantaranya adalah vitamin E. vitamin C, vitamin A. dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan . Antioksidan dapat diperoleh dari diet/makanan. Contoh : vitamin C, betakaroten, vitamin A, vitamin E. (Yuslianti, 2018)

3) Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang bekerja memperbaiki sel sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker. (Yuslianti, 2018)

2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Mekanisme kerja antioksidan akan dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi satu). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi. radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi dua). Radikal peroksil lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi tiga)



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti

aldehida dan keton yang bertanggungjawab atas flavor makanan berlemak. (Yuslianti, 2018)

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme kerja serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Seringkali, kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibanding dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak. Dalam proses melumpuhkan radikal bebas, vitamin E menjadi pelopor diikuti oleh vitamin C dan dengan bantuan senyawa glutathion, betakaroten, seng, mangan dan selenium akan memudahkan pelumpuhan radikal bebas. (Yuslianti, 2018)

Dalam tubuh, antioksidan dapat bereaksi melalui :

- 1) Pembersihan senyawa oksigen reaktif atau penurunan konsentrasinya secara lokal.
- 2) Pembersihan ion logam katalitik
- 3) Pembersihan radikal bebas yang berfungsi sebagai inisiator seperti hidroksil, peroksil dan aloksil.
- 4) Pemutusan rantai dari rangkaian reaksi yang diinisiasi oleh radikal bebas
- 5) Peredam reaksi dan pembersih singlet oksigen.

Antioksidan dapat menghambat reaksi peroksidasi lipid melalui mekanisme a, b dan d sehingga disebut juga antioksidan pencegah. Melalui mekanisme c antioksidan juga berfungsi sebagai antioksidan pencegah, tetapi mekanismenya

dilakukan oleh enzim, seperti superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase. Antioksidan pemutus reaksi, peredam singlet oksigen dan pengikat logam dapat ikut bereaksi selama antioksidan tersebut melakukan fungsinya. (Yuslianti, 2018)

2.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan

2.4.1 Metode Pengujian Antioksidan

Berbagai metode in vitro dikembangkan untuk menguji potensi antioksidan suatu bahan atau produk dalam hubungannya dengan efek kesehatan. Berikut ini beberapa metode untuk pengujian aktivitas antioksidan in vitro yang paling umum digunakan, yang umumnya mendasarkan daya tangkap atau penetralan terhadap senyawa-senyawa turunan oksigen reaktif (ROS). (Santoso, 2021)

1) ORAC

Metode oxygen radical absorbance capacity (ORAC). Jika suatu senyawa penghasil radikal bebas seperti senyawa azo-initiator ditambahkan pada molekul fluoresen seperti B-phicoerythrin atau fluorescein dan dipanaskan, azo-initiator tersebut akan menghasilkan radikal bebas peroksil, yang selanjutnya akan merusak molekul fluoresen sehingga menurunkan sifat fluoresensinya, Kurva intensitas fluoresensi versus waktu dicatat dan luas area di bawah kurva dengan atau tanpa antioksidan dihitung dan dibandingkan dengan kurva standar yang dihasilkan menggunakan Trolox, yaitu analog vitamin E yang larut air. (Santoso, 2021)

2) TRAP

Metode total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP). Metode ini menggunakan spektrometer luminescence untuk mengukur penurunan fluoresensi R-phicoerythrin selama peroksidasi yang terkendali. Nilai TRAP dihitung dari panjang fase lag (lag-phase) akibat antioksidan dibandingkan dengan Trolox. (Santoso, 2021)

3) TEAC

Metode trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC). Metode ini prinsipnya mirip dengan metode ORAC. Menggunakan diode-array spectrophotometer untuk mengukur kehilangan warna jika suatu antioksidan ditambahkan pada kromofor biru-hijau ABTS (2,2'-azino bis(3-ethylbenzthiozoleine-6-sulfonic acid)). Antioksidan akan mereduksi ABTS menjadi ABTS sehingga akan terjadi dekolorisasi. ABTS adalah radikal bebas stabil yang tak ditemukan dalam tubuh manusia. (Santoso, 2021)

4) PSC

Metode peroxy radical scavenging capacity (PSC). Metode ini prinsipnya juga mirip dengan ORAC, berdasarkan tingkat penghambatan oksidasi dichlorofluorescein (DCF) oleh antioksidan yang menangkap radikal peroksil yang dihasilkan dari degradasi termal 2,2'-azobis (amidinopropane). (Santoso, 2021)

5) FRAP

Metode ferric reducing/antioxidant power (FRAP). Metode ini mengukur kemampuan antioksidan mereduksi ion ferri. Ini didasarkan pada reduksi kompleks ion ferri dan 2,3,5-triphenyl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta 1,4-diene

chloride (disebut juga 2,4,6-tripyridyltriazine, TPTZ) menjadi ion ferro pada pH rendah. Reduksi ini dimonitor dengan mengukur perubahan absorbansi pada 595 nm menggunakan diode-array spectrophotometer. Prosedurnya ialah dalam sebuah tabung reaksi, 100 ml larutan antioksidan atau ekstrak, standar (kurang lebih 4,5-114 mmol α -tokoferol/l), atau blanko (n-heksan) dan 600 ml reagen FRAP mengandung ferri klorida dan TPTZ dalam buffer asetat (pH 3,6), digojog pada thermoshaker ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) 1.400 rpm: Setelah 6 menit penggojogan, campuran dipindah ke mikrokuvet (1,5 ml) dan disentrifugasi selama 30 detik pada 1.000 g untuk memisahkan lapisan. Setelah tepat 8 menit dari mulai penggojogan, ukur absorbansi lapisan bawah (sampel, standar, dan blanko) pada panjang gelombang 595 nm. (Santoso, 2021)

6) Folin-Ciocalteu

Folin-Ciocalteu untuk menentukan kandungan total fenolik Metode Folin-Ciocalteu untuk menentukan total fenolik. Pengujian ini mengukur perubahan warna jika oksida-oksida logam (reagen phosphomolybdate-phosphotungstic acid) direduksi oleh antioksidan fenolik seperti asam galat dan katekin yang mengakibatkan terbentuknya warna biru larutan dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 765 nm. Kurva standar didapat dari larutan asam galat atau katekin sebagai standar. (Santoso, 2021)

7) DPPH

Metode DPPH Pengujian ini mengukur dengan spektrofotometer kemampuan antioksidan dalam menangkap (mereduksi) radikal bebas 2,2-diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) yang larutannya dalam metanol, etanol, atau

aseton berwarna ungu dengan absorbansi maksimum pada 517nm. DPPH adalah radikal bebas relatif stabil yang tak ditemukan juga dalam tubuh. (Santoso, 2021)

Metode DPPH merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat. Metode uji ini menggunakan radikal bebas DPPH. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC₅₀). Hal ini dapat dicapai dengan cara menginterpretasikan data eksperimental dari metode tersebut. DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak.(Santoso, 2021).

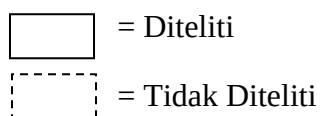
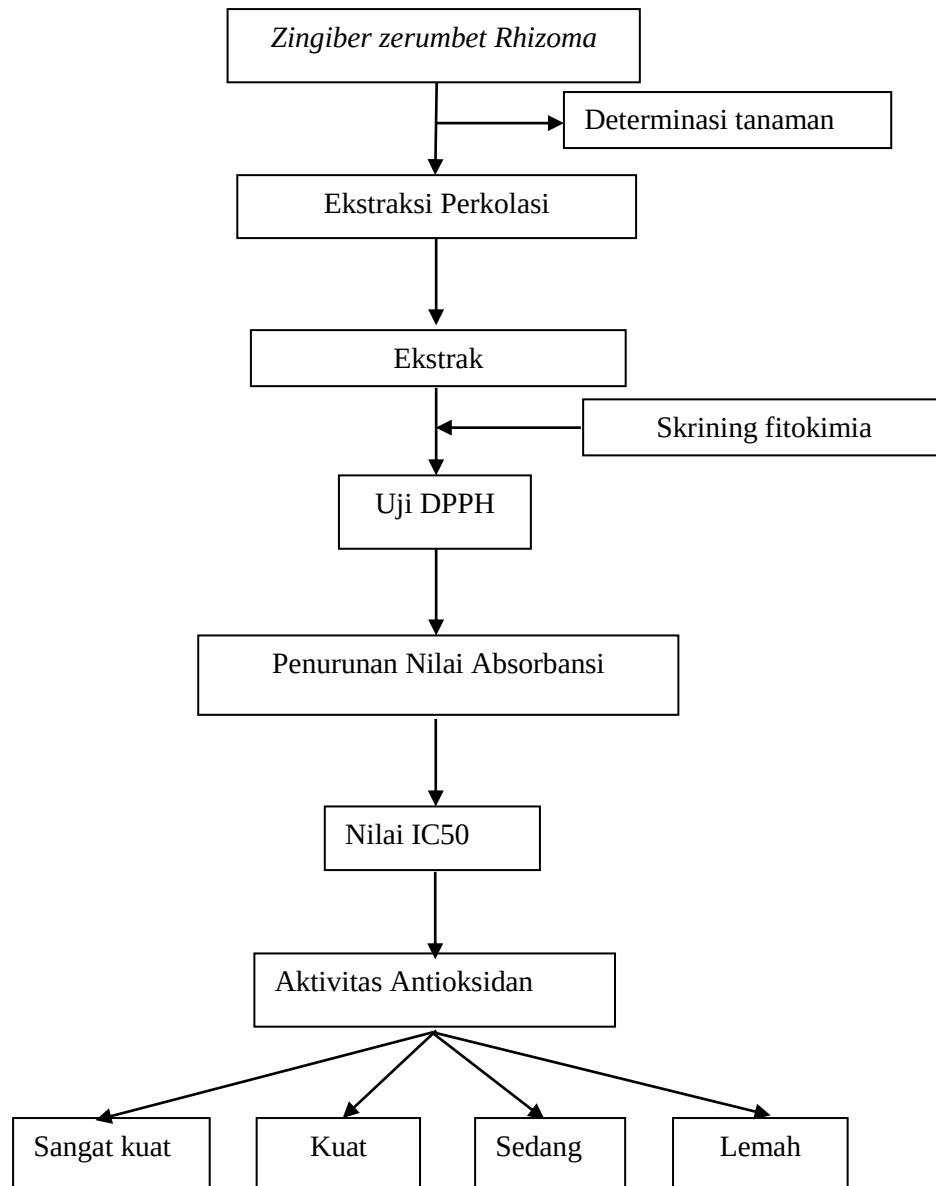
Tabel 2.1. Tingkat Kekuatan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode 2.2.-diphenyl picrylhydrazyl (DPPH).

Intensitas Kekuatan Aktivitas	Nilai IC₅₀	Warna
Sangat kuat	<50 µg/mL	Kuning pucat
Kuat	50 - 100 µg/mL	Kuning
Sedang	100 – 150 µg/mL	Ungu
Lemah	>150 µg/mL	Ungu gelap

(Santoso, 2021)

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual di atas maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

- H₀ : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dengan metode DPPH
- H₁ : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dengan metode DPPH

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) merupakan penelitian eksperimen Laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihirazyl)

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah sekumpulan orang, hewan, tumbuhan, atau benda yang memiliki karakteristik tertentu yang akan diteliti. (Mulyatingsih, 2011)

Populasi dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) yang di dapat dari dusun Karangsono Desa Grenden Kecamatan Puger yang diambil secara acak.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah cuplikan atau bagian dari populasi. Peneliti boleh mengambil sebagian populasi saja untuk diteliti meskipun kesimpulan hasil penelitian akan berlaku untuk semua populasi. (Mulyatingsih, 2011)

Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) yang di peroleh dengan tehnik ekstraksi perkolasi dan telah dibuat dalam berbagai macam konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm)

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Akademi Farmasi Jember untuk melaksanakan proses ekstraksi lalu dilanjutkan menggunakan Laboratorium Kimia Universitas dr. Soebandi Jember untuk pengujian antioksidan. Waktu penelitian dimulai pada bulan September 2022.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang di tunjukan dengan nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration)

4.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara pengujian antioksidan, pengambilan sampel rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dan metode ekstraksi dari simplisia

4.5 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Pengertian	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Uji Fitokimia	suatu pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu simplisia	Pemeriksaan dilakukan dengan cara mereaksikan larutan ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan reagen yang digunakan dalam uji fitokimia	Tabung reaksi dan pipet tetes	Nominal	Positif Negatif

	tumbuhan				
Aktivitas antioksidan	Kemampuan ekstrak lempuyang gajah (<i>Zingiber zumbet</i>) dalam meredam radikal bebas yang di lihat dari nilai IC50	Pengukuran aktivitas antioksidan di lakukan menggunakan Uji DPPH yaitu dengan cara memipet 0,5ml dari masing – masing larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm kemudian di tambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 3,5 ml kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm	Spektrofotometer UV-Vis	Ordinal	Sangat kuat (<50 µg/mL) Kuat (50 - 100 µg/mL) Sedang (100 - 150 µg/mL) Lemah (>150 µg/mL)

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, gunting, spatula, cawan, timbangan analitik, kertas saring, perkolator, pipet tetes, corong, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, gelas ukur, beaker glas, labu ukur, vial, aluminium foil, handscon, rotary evaporator, vortex, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis

4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) yang diambil dari desa Grenden Kecamatan Puger, Jawa timur, etanol 96% dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), dan Kuersetin,

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Determinasi Tanaman Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*)

Determinasi rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian tumbuhan. Tujuan dari determinasi ini adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar – benar spesies dari (*Zingiber zerumbet*)

4.7.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstra rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dengan proses pembuatan pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan kemudian setelah kering di blender menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah tertutup untuk mencegah terjadinya penurunan mutu simplisia

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

Ekstrak lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) dibuat dengan cara mengekstraksi serbuk rimpang lempuyang gajah secara perkolasi dengan pelarut etanol 96% hingga terekstraksi sempurna. Ekstraksi dengan menggunakan cara perkolasi dilakukan dengan menimbang serbuk rimpang lempuyang gajah

sebanyak 250 gram dan direndam terlebih dahulu dengan pelarut etanol 96%. sekurang-kurangnya 3 jam dalam bejana tertutup, kemudian proses ekstraksi dilanjutkan pada alat perkolator selama 2 hari, simplisia yang sudah direndam dalam pelarut dimasukkan ke dalam perkolator untuk dilakukan ekstraksi perkolasi dan pelarut dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir lambat melewati simplisia hingga cairan yang menetes dari alat perkolator berwarna bening. Ekstrak cair yang didapatkan selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan rotary evaporator. Hasil rendemen ekstrak di hitung menggunakan rumus:

Rendemen = bobot ekstrak kental/bobot simplisia x 100%

4.7.4 Uji fitokimia

1) Flavonoid

Ambil sampel uji beberapa tetes masukkan kedalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Kocok sampel dan amati hingga terbentuk perubahan. Dapat dinyatakan positif jika larutan berwarna merah, kuning hingga jingga. (Suci, 2021)

2) Tanin

Ambil 1 mg ekstrak tambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Amati perubahannya dan dinyatakan positif adanya senyawa tanin dengan terbentuknya larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman. (Suci, 2021)

3) Saponin

Ambil 1 mg ekstrak tambahkan air panas kedalam sampel uji pada tabung reaksi. Kocok selama 10 detik, dinyatakan positif adanya senyawa

saponin dapat terbentuknya buih tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10cm dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N. (Suci, 2021)

4) Alkaloid

Ambil 1mg ekstrak masukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 2 tetes pereaksi dreagendroff amati perubahannya selama 30 menit, hasil yang dinyatakan positif akan terbentuk larutan berwarna jingga. (Suci, 2021)

5) Fenolik

Ambil 1 mg sampel uji masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 1mL FeCl₃ 1%.(Suci, 2021)

4.7.5 Uji Aktivitas Antioksidan

1) Pembuatan larutan DPPH

Pembuatan larutan uji DPPH dengan cara menimbang 5 mg serbuk DPPH masukkan kedalam labu ukur 100ml, tambahkan sedikit etanol 96% kocok sampai serbuk terlarut, kemudian tambahkan etanol 96% sampai batas volume 100 ml sehingga di peroleh larutan induk DPPH 50 ppm.(Nugroho, 2021)

Perhitungan :

$$\text{Ppm larutan induk DPPH} = 5\text{mg}/100\text{ml} \times 1000\text{ml} = 50\text{ppm}$$

2) Penentuan Absorbansi DPPH

Penentuan absorbansi DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar yang dapat dabsorpsi oleh senyawa DPPH. Alat yag digunakan untuk melakukan pengujian ini adalah spektrofotometri UV-VIS. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil 4ml larutan DPPH kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu

37°C dalam ruangan gelap selama 30 menit lalu ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm.(Nugroho, 2021)

3) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara timbang ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) sebanyak 10mg kemudian dilarutkan menggunakan etanol 96% sebanyak 5ml kemudian dihomogenkan menggunakan getaran ultrasonik selama kurang lebih 1 menit atau sampai seluruh ekstrak terlarut, lalu ditambahkan alkohol 96% hingga mencapai volume 10ml hingga di peroleh larutan induk dengan konsentrasi sebesar 1000 ppm. Selanjutnya dibuat pengenceran larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.(Nugroho, 2021)

Perhitungan :

$$\text{Ppm larutan induk ekstrak} = 10\text{mg}/10\text{ml} \times 1000\text{ml} = 1000\text{ppm}$$

Pengenceran :

(1) 50ppm (10ml)

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1.1000\text{ppm} = 150\text{ppm}.10\text{ml}$$

$$V_1.1000\text{ppm} = 50\text{ppm}.10\text{ml}$$

$$V_1 = 1.5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0.5 \text{ ml}$$

(4) 200ppm (10ml)

(2) 100ppm (10ml)

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1.1000\text{ppm} = 200\text{ppm}.10\text{ml}$$

$$V_1.1000\text{ppm} = 100\text{ppm}.10\text{ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

(5) 250ppm (10ml)

(3) 150ppm (10ml)

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 250\text{ppm} \cdot 10\text{ml} \quad V_1 = 2.5 \text{ ml}$$

4) Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin dibuat dengan cara menimbang kuersetin sebanyak 2 mg kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan dengan sedikit etanol 96% hingga kuersetin terlarut kemudian di kocok sampai homogen. Setelah homogen tambahkan alkohol sampai tanda batas yang tertera pada labu ukur, sehingga di peroleh larutan pembanding quersetin dengan konsentrasi 200ppm. Selanjutnya dibuat pengenceran larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. (Nugroho, 2021)

Perhitungan :

$$\text{Ppm larutan induk kuersetin} = 2\text{mg}/10\text{ml} \times 1000\text{ml} = 200\text{ppm}$$

Pengenceran :

- | | |
|--|--|
| 1. 10ppm (10ml) | $V_1 \cdot 200\text{ppm} = 30\text{ppm} \cdot 10\text{ml}$ |
| $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$ | $V_1 = 1.5 \text{ ml}$ |
| $V_1 \cdot 200\text{ppm} = 10\text{ppm} \cdot 10\text{ml}$ | 4. 40ppm (10ml) |
| $V_1 = 0.5 \text{ ml}$ | $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$ |
| 2. 20ppm (10ml) | $V_1 \cdot 200\text{ppm} = 40\text{ppm} \cdot 10\text{ml}$ |
| $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$ | $V_1 = 2 \text{ ml}$ |
| $V_1 \cdot 200\text{ppm} = 20\text{ppm} \cdot 10\text{ml}$ | 5. 50ppm (10ml) |
| $V_1 = 1 \text{ ml}$ | $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$ |
| 3. 30ppm (10ml) | $V_1 \cdot 200\text{ppm} = 50\text{ppm} \cdot 10\text{ml}$ |
| $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$ | $V_1 = 2.5 \text{ ml}$ |

5) Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Menentukan waktu inkubasi dilakukan dengan cara pipet 0,5ml dari masing – masing konsentrasi larutan uji ekstrak rimpang lempuyang gajah (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan memipet 0,5 ml dari masing – masing konsentrasi Kuersetin (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm) kemudian tambahkan masing – masing larutan dengan 3,5ml larutan DPPH. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang 517nm yang dimulai dari menit ke 10 sampai menit ke 60 dengan selang waktu 10menit.(Nugroho, 2021)

6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan larutan Ekstrak Lempuyang gajah dan larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan IC₅₀ dilakukan replikasi sebanyak tiga kali, cara mengukur aktivitas antioksidan yaitu dengan memipet sebanyak 0,5ml dari masing – masing konsentrasi sampel (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan memipet 0,5ml dari masing – masing konsentrasi Kuersetin (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm). Kemudian masing – masing larutan ditambahkan dengan 3,5 ml larutan DPPH, aduk hingga homogen. Semua campuran larutan kemudian diinkubasi pada suhu ruang sesuai hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum.(Nugroho, 2021)

4.8 Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini pengumpulan data dilakukan dengan mengumpulkan data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif diperoleh dari hasil uji fitokimia

kandungan dari ekstrak rimpang lempuyang gajah. Sedangkan untuk data kuantitatif diperoleh dari nilai serapan sampel dan pembanding hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri uv – vis yang hasilnya menunjukkan nilai IC50.

4.9 Teknik Analisa Data

Data kuantitatif yang telah di kumpulkan pada penelitian ini yang berupa uji aktivitas antioksidan selanjutnya dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian di deskripsikan hasilnya. Daya antioksidan dilihat dari nilai IC50 yang dihitung dengan persamaan regresi linear dari hubungan antara konsentrasi sampel dengan prosentase inhibisi. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Microsoft exel.

Pengolahan data menggunakan microsoft exel yaitu dengan cara analisis probit. Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategori (kualitatif) dan variabel-variabel independen yang bersifat kualitatif maupun kuantitatif. Data antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan presentase aktivitas antioksidan (y) sehingga di dapatkan nilai IC50, selanjutnya data di masukkan ke dalam aplikasi microsoft excel kemudian di proses dari aplikasi kemudian akan muncul persamaan linier. Persamaan linier ini yang digunakan untuk menghitung nilai IC50.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) dilakukan di UPT (Pengembangan Pengembangan Terpadu) Universitas Politeknik Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan spesies *Zingiber zerumbet* (L.) Smith dari famili *Zingiberaceae*.

5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang gajah. Kemudian dilanjutkan dengan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering sehingga di dapatkan berat serbuk simplisia sebesar 250 gram.

5.3 Ekstraksi

Proses ekstraksi rimpang lempuyang gajah dalam penelitian ini menggunakan metode perkolasi dengan etanol 96% sebagai pelarutnya. Jumlah pelarut yang dibutuhkan untuk melakukan ekstraksi secara perkolasi pada 250 gram serbuk rimpang lempuyang gajah sebanyak 2 liter. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat di (Lampiran 2) dan Perhitungan hasil % randemen dapat dilihat pada (Lampiran 3)

Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah

Simplisia	Ekstrak Kental	Rendemen
250 g	21.75 g	8.7%

5.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*). Hasil uji fitokimia pada ekstrak rimpang lempuyang gajah menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 5.2 Hasil Uji Fitokimia

No.	Uji Fitokimia	Cara	Hasil
1.	Uji Alkaloid	Ambil 1mg ekstrak masukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 2 tetes pereaksi dreagendroff amati perubahannya selama 30 menit	+
2.	Uji Fenolik	Ambil 1 mg sampel uji masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 1mL FeCl ₃ 1%	+
3.	Uji Flavonoid	Ambil sampel uji beberapa tetes masukkan kedalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Kocok sampel dan amati hingga terbentuk perubahan	+
4.	Uji Saponin	Ambil 1 mg ekstrak tambahkan air panas kedalam sampel uji pada tabung reaksi. Kocok selama 10 detik	-
5.	Uji Tanin	Ambil 1 mg ekstrak tambahkan beberapa tetes larutan FeCl ₃ 1%.	+

Keterangan:

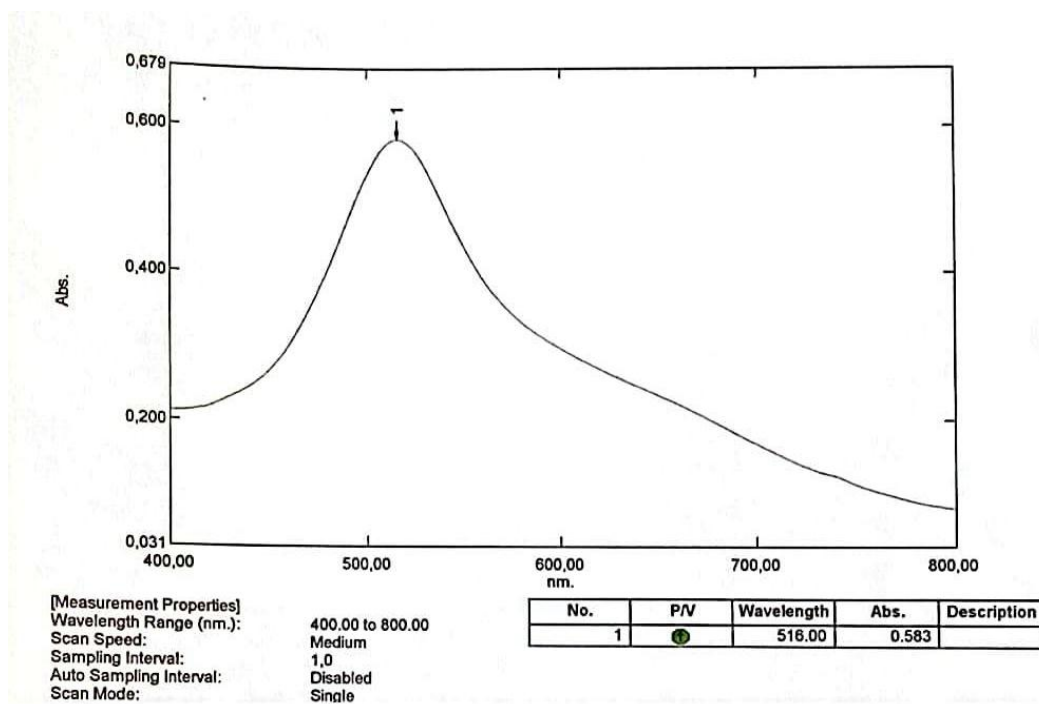
(+) positif : mengandung golongan senyawa

(-) negatif :tidak mengandung golongan senyawa

5.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

5.5.1 Hasil Penentuan Absorbansi DPPH

Hasil penentuan absorbansi DPPH dilakukan dengan memipet 4 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur serapannya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis Biobase pada panjang gelombang 400-800 nm. Hasil pengukuran absorbansi DPPH pada penelitian ini menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 516 nm. Data hasil pengukuran hasil absoebansi DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Kurva absorbansi DPPH

5.5.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Hasil optimasi waktu inkubasi larutan pembanding kuersetin dengan ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah yang diamati selama 60 menit dalam selang waktu 10 menit menunjukkan penurunan absorbansi yang stabil pada menit ke-30 dengan ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ ekstrak sebesar 104,96 µg/mL dan nilai R=0,9101, sedangkan untuk nilai IC₅₀ kuersetin sebesar 36,97 µg/mL dan nilai R=0,9943. Hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada Lampiran 9

5.5.3 Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah

Hasil pengujian ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah setelah penambahan larutan DPPH dihitung sebagai persen inhibisi. Hasil pengujian ekstrak etanol lempuyang gajah dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Analisis Nilai %Inhibisi Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah

Konsentrasi	Absorbansi			% inhibisi		
	Rep I	Rep II	Rep III	Rep I	Rep II	Rep III
50	0.339	0.339	0.36	49.4	49.40	49.7
100	0.335	0.334	0.345	50	50.15	50
150	0.331	0.332	0.33	50.59	50.45	50.3
200	0.325	0.328	0.325	51.49	51.04	51,34
250	0.321	0.322	0.315	52.09	51.94	51.94

Dari tabel pengujian % inhibisi ekstrak rimpang lempuyang gajah diatas dapat dilihat bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi larutan maka semakin rendah nilai absorbansinya dan semakin tinggi nilai % inhibisinya.

5.5.4 Hasil Pengujian Larutan pembanding Kuersetin

Hasil pengujian larutan pembanding kuersetin setelah penambahan larutan DPPH di hitung sebagai prosentase inhibisi. Hasil pengujian tersebut dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Hasil analisis % inhibisi pembanding Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi			% inhibisi		
	Rep I	Rep II	Rep III	Rep I	Rep II	Rep III
10	0.355	0.366	0.36	45.8	44.12	45.04
20	0.34	0.356	0.345	48.09	45.65	47.33
30	0.327	0.34	0.33	50.07	48.09	49.62
40	0.312	0.328	0.325	52.36	49.92	50.38
50	0.302	0.318	0.315	53.89	51.45	51.91

Dari tabel pengujian % inhibisi pembanding kuersetin diatas dapat dilihat bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi larutan maka semakin rendah nilai absorbansinya dan semakin tinggi nilai % inhibisinya

5.5.5 Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah dan Kuersetin

Hasil Nilai IC₅₀ pada penelitian didapatkan dari persamaan regresi linier dari setiap larutan uji dan pembanding kuersetin dari hubungan antara persen

inhibisi sebagai ordinat dan konsentrasi sebagai absis, hasil nilai IC50 ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah dan pembanding kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Nilai IC50 Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah Dan Pembanding Kuersetin

Sampel	Replikasi	Konsentrasi	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{X} \pm \text{SD}$	Kategori
Ekstrak	I	150	98.03	97.4 $\pm$ 3.23	Kuat
	II	200	100.34		
	III	250	93.96		
Kuersetin	I	30	29.79	36.4 $\pm$ 6.41	Sangat Kuat
	II	40	42.59		
	III	50	36.81		

Berdasarkan tabel 5.5 nilai hasil IC50 ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah dan pembanding kuersetin dengan tiga kali replikasi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kategori kuat dengan nilai IC50 sebesar 97.4 dan nilai SD= 3.23 sedangkan untuk nilai aktivitas antioksidan pembanding kuersetin ditunjukkan dengan nilai IC50 sebesar 36.4 dan nilai SD= 6.41 yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Hasil Ekstraksi Rimpang Lempuyang Gajah

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah perkolasi dengan satu kali replikasi. Awal mula proses ekstraksi perkolasi dimulai dengan serbuk rimpang ditimbang sebanyak 250 gram lalu direndam pada pelarut etanol 96% kurang lebih 3 jam. Pemilihan pelarut tersebut didasarkan karna etanol 96% merupakan pelarut universal yang mampu menarik zat metabolit sekunder dengan sifat polar maupun non polar. Etanol juga dapat bertindak sebagai bahan pengawet karna pelarut tersebut tidak mendukung pertumbuhan kontaminan seperti mikroorganisme pada umumnya. Ekstrak harus direndam pelarut dapat menarik zat serta masuk kedalam bagian bagian tumbuhan. Ekstraksi perkolasi dilakukan selama 2 hari hingga zat yang menetes bening. Durasi ekstraksi tersebut dilakukan karena ketika pada saat akhir proses perkolasi, pelarut yang bening menandakan bahwa jumlah zat metabolit sekunder yang tertarik ke pelarut sudah mencukupi dan mungkin tidak terdapat lagi pada serbuk. Ekstrak yang didapat kemudian di pekatkan menggunakan rotary evaporator hingga ekstrak tersebut kental. Pemekatan ekstrak dilakukan agar zat metabolit sekunder yang terkandung dapat terkonsentrasi dan pelarut dapat diuapkan. Setelah ekstrak menjadi pekat, maka dilakukan perhitungan rendemen dengan hasil yang didapat yaitu 8,7%. Hasil tersebut kurang baik karena nilai proses ekstraksi yang optimal ditandai dengan nilai rendemen lebih dari 10%. Nilai rendemen yang cukup rendah bisa disebabkan karena beberapa macam faktor salah satunya proses penguapan pelarut atau pemekatan yang dilakukan berlangsung lebih lama dari yang diperlukan.

Proses penguapan atau pemekatan dilakukan lebih lama dari yang diperlukan sehingga zat metabolit ikut terangkat yang menyebabkan nilai rendemen yang cukup rendah.

6.2 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah

Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*). Identifikasi tersebut dapat dilihat melalui beberapa macam uji kandungan senyawa metabolit sekunder yang dilakukan pada ekstrak yang telah dibuat. Hasil dari identifikasi senyawa metabolit sekunder menandakan terdapatnya kandungan senyawa antara lain seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, dan tanin.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wahidah, *et al* 2020 menunjukkan adanya rekasi serupa yang menandakan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*). Terdapat perbedaan pada penelitian ini dimana hasil yang didapat pada penelitian tersebut tidak menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid.

Perbedaan tersebut mungkin dapat terjadi karena perbedaan metode ekstraksi serta pelarut yang dilakukan sehingga menimbulkan perbedaan pada zat metabolit sekunder yang dapat ditarik dari ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*). Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dimana pelarut tersebut melalui hasil uji senyawa metabolit yang didapat mampu menarik beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*

Rhizoma). Perbedaan juga dapat mungkin terjadi karena lama proses ekstraksi serta suhu pada saat proses pemekatan. Suhu yang digunakan pada saat pemekatan adalah 50°C dimana pada suhu tersebut pelarut mampu menguap tanpa membawa senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya.

6.3 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah dan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan pada panjang gelombang 516 nm dengan waktu inkubasi selama 30 menit. Pemilihan waktu optimasi karena pada menit ke 30 dengan hasil yang didapat yaitu dengan nilai akhir IC₅₀ ekstrak 104.96 µg/mL dan nilai R=0,9101 dan nilai akhir kuersetin sebesar 36,97 µg/mL dan nilai R=0,9943.

Menurut penelitian Da'i, dkk (2013) yang berjudul *Potency of Radical Scavenging Activity and Determination of Total Phenolic Content of Five Ethanolic Extract of Rhizome Zingiberaceae Family* menunjukkan bahwa hasil optimasi yang dilakukan adalah 30 menit. Waktu optimasi tersebut menunjukkan hasil inhibisi IC₅₀ sebesar 38.61 ± 1.67

Terdapat perbedaan hasil inhibisi IC₅₀ pada penelitian yang dilakukan dimana perbedaan tersebut cukup besar. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena kesalahan peneliti pada saat proses uji dilakukan. Hasil yang didapat yaitu 104.96 µg/mL. Kesalahan yang terjadi biasanya terjadi pada saat dilakukannya pengambilan ekstrak menggunakan *micropipet* atau kuvet yang mungkin belum dibersihkan sejak penelitian yang dilakukan sebelumnya. Meskipun terdapat kesalahan yang mungkin terjadi pada saat proses penelitian, hasil yang didapat

masih termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang yaitu nilai inhibisi IC50 pada menit tersebut mendapat nilai diantara 100-150. Hasil tersebut dapat terjadi melalui senyawa metabolit sekunder terutama flavonoid yang dapat memberi efek antioksidan pada uji yang dilakukan.

6.4 Analisis Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah dengan Kuersetin

Dari hasil pengujian ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah didapatkan nilai rata-rata IC50 97.44 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan kuat dan 36.4 $\mu\text{g/mL}$ untuk pembanding kuersetin dengan kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin kecil nilai IC50 maka semakin besar aktivitas antioksidannya.

Dapat dilihat di tabel 5.4 terjadi penurunan absorbansi DPPH, dimana semakin tinggi konsentrasi maka akan terjadi penurunan absorbansi dan akan menyebabkan besarnya nilai %inhibisi, hal tersebut terjadi karena semakin banyak atom hidrogen yang disumbangkan kepada DPPH sehingga DPPH akan membentuk reduksinya. Suatu penelitian menunjukkan bahwa perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak uji dengan larutan pembanding kuersetin digunakan untuk menentukan kuat aktivitas antioksidan suatu ekstrak melalui pengelompokan nilai inhibisi IC50. Kuersetin sendiri akan masuk dalam kategori sangat kuat karena bertindak sebagai larutan acuan bagi ekstrak yang diujikan (Fathurrahman, 2014).

Perbedaan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizomal* dengan larutan pembanding kuersetin menandakan bahwa terdapat perbedaan pada hasil inhibisi terhadap IC50, dimana

pada aktivitas ekstrak, hasil rata-rata yang didapat masih termasuk dalam kategori aktivitas kuat. Angka antioksidan tersebut erat hubungannya dengan kandungan flavonoid. Semakin banyak senyawa flavonoid yang terkandung, maka semakin besar pula total aktivitas antioksidannya. Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen. Ion hidrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki elektron, sehingga dalam elektron radikal yang terdapat pada atom nitrogen disenyawa DPPH berikatan dengan ion hidrogen dan menghasilkan DPPH yang tereduksi. Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebegini besar flavonoid oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil Analisa aktivitas antioksidan ekstrak rimpang lempuyang gajah dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan hasil baik melalui nilai inhibisi IC50
2. Nilai aktivitas antioksidan IC50 dari rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) sebesar 97.44 µg/ml kategori aktivitas antioksidan kuat.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode ekstraksi lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan pada tanaman rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut melalui instrumen seperti *Gas-Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS) untuk mengetahui kadar total senyawa dalam ekstrak rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) .
3. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan sampel tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet Rhizoma*) pada bagian yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidannya.

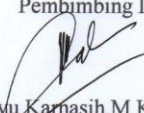
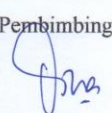
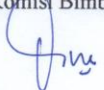
DAFTAR PUSTAKA

- Fathurrachman, D.A. (2014) 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan EKstrak Etanol Daun Sirsak Dengan metode DPPH', *UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Fatmawati, Sri, D. (2019) *Bioaktivitas dan Konstituen Kimia Tanaman Obat Indonesia*. cetakan pe. Edited by R. Herlambang. Jl. Rajawali, G Elang 6 No 3, Drono, Sandonoharjo, Ngaglik, Sleman.
- Hanani, E. (2015) *Analisi Fitokimia*. Edited by A.H. Theresia Veronica. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Julianto, T.S. (2019) *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunderdan Skrining Fitokimia*. Cetakan I. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Mariana, E. (2015) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval)', *Jurnal Mulawarman Scientifie*, Volume 11(April 2012 ISSN 1412-498X), p. Nomor 1.
- Mau, Maria Alexandria, Sambara, Jefrin, Yuliani, N.N. (2016) *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Dengan Metode DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)*, *JURNAL INFO KESEHATAN*.
- Mulyatingsih, E. (2011) *Riset Terapan Bidang Pendidikan dan teknik*. Cetakan 1. Edited by A. Nuryanto. Jl. Gejayan, Gg. Alamanda, Kompleks FT Universitas Negeri Yogyakarta Kampus Karangmalang, Yogyakarta Telp: 0274-586168 ekstensi 279: UNY Press.
- Nugroho, W.. (2021) *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*. Universitas dr Soebandi Jember.
- Nurchayati, N. dkk (2021) *Tanaman Obat Keluarga Warisan Leluhur*. Edited by @Awaluddin Syaddad. Jl. Syamsu Alam Bulu, Parepare, Sulawesi Selatan.
- Prasonto, Djuned, Riyanti, Eriska, Gartika, M. (2017) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*)', *ODONTO Dental Journal*, Volume 4., pp. 122–127.
- Ramadhan, H., Baidah, D., Lestari, N. P., & Yuliana, K.A. (2020) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah dan Kulit Terap (*Artocarpus odoratissimus*) Menggunakan Metode CUPRAC', *Farmasains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, 7(1), pp. 7–12. doi:10.22236/farmasains.v7i1.4331.
- Rasyid, Abdul, Faradiba, Kurniawati, Ida Handayani, S. (2020) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus elastica*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH.
- Riwanti, P., Izazih, F., & A. (2020) 'Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%', *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), pp. 82–95.
- Rohman, A. (2016) *Lipid: sifat fisika-kimia dan analisisnya*. Cetakan Pe. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Saidi, Nurdin, Ginting, Binawati, Murniana, M. (2018) *Analisis Metabolit Sekunder*. Cetakan Pe. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Sakinah, I. (2017) *Uji Fitokimia Ektrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha Indica Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (Artemia salina Leach)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Santoso, U. (2021) *Antioksidan Pangan*. Edited by Dewi. Jl. Sendok, Karanggayam CT VIII Caturtunggal Depok, Sleman, DI Yogyakarta, 55281: Gadjah Mada University Press.
- Silalahi, M. (2018) 'Botani dan Bioaktivitas Lempuyang (Zingiber zerumbet (L.) Smith.)', *Jurnal EduMatSains*, Vol.2, p. No 2.
- Syarifah, Laeli, F. (2019) *Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Lempuyang Gajah (Zingiber zerumbet (L.) Sm.) dan Lempuyang Wangi (Zingiber aromaticum Valetton)*. Universitas Jenderal Soedirman. Available at: <http://repository.unsoed.ac.id/id/eprint/4936>.
- Wahidah, Suci Wildatul, Fadhilah, Khuzaimah Nurul, Hadyani Nahhar, Afifah, Saskia Nur, Gunarti, N.S. (2021) 'Uji Skrining Fitokimia Dari Amilum Familia Zingiberaceae', *Jurnal Buana Farma*, 1, p. 2.
- Winardi, Rafael Remit, Prasetyo, H.A. (2020) 'Perubahan Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Pada Pembuatan Tepung dan Cake Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.)', *Jurnal Agrica Ekstensia*, Vol. 14No.(2715–9493).
- Yuslianti, R.E. (2018) *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. cetakan pe. Edited by Cinthia Morris Sartono. Yogyakarta: Group Penerbitan CV BUDI UTAMA.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Form Usulan Judul Penelitian

 UNIVERSITAS dr. SOEBANDI FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483536, E_mail : info@uds.ac.id Website : http://www.uds.ac.id	
<u>FORM USULAN JUDUL PENELITIAN</u>	
Nama Mahasiswa	: Dia Retno Dwi Faningrum
NIM	: 18040109
Usulan Judul Penelitian	: Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet rhizoma</i>) Menggunakan Metode DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl)
Pembimbing I	: I Gusti Ayu Karnasih,M.Kep.,Sp Mat
Pembimbing II	: apt. Dina Trianggaluh,M.Farm
Menyatakan bahwa Usulan Judul Penelitian (Skripsi) mahasiswa tersebut di atas telah mendapat rekomendasi dari kedua pembimbing untuk dilanjutkan menjadi proposal penelitian.	
Pembimbing I  <u>I Gusti Ayu Karnasih,M.Kep.,Sp Mat</u>	Tanggal <u>4/02²²</u>
Pembimbing II  <u>apt. Dina Trianggaluh,M.Farm</u>	Tanggal <u>15/07²²</u>
Mengetahui, Komisi Bimbingan  <u>apt. Dina Trianggaluh,M.Farm</u>	Tanggal <u>15/07²²</u>

Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
 RISET DAN TEKNOLOGI
 POLITEKNIK NEGERI JEMBER
 UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 136/PL17.8/PG/2022

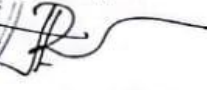
Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1939/FIKES.UDS/U/VII/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Dia Retno Dwi Faningrum
 NIM : 18040109
 Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Subdevisio: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida (Monocotyledoneae); Ordo: Zingiberales; Famili: Zingiberaceae; Genus: Zingiber; Spesies: Zingiber zerumbet, (L.) Smith.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 03 Agustus 2022
 Ka. UPA Pengembangan Pertanian Terpadu

 Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
 NIP. 197106212001121001

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

Pembuatan Simplisia Rimpang Lempuyang Gajah (Zingiber zerumbet Rhizoma)	
	
Pengumpulan Rimpang Lempuyang Gajah Dan Sortasi Kering	Pencucian Rimpang Lempuyang Gajah Dan Sortasi Basah
	
Proses Perajangan Rimpang Lempuyang gajah	Proses Pengeringan Rimpang Lempuyang gajah
	Rimpang Lempuyang Gajah Setelah Proses Penghalusan

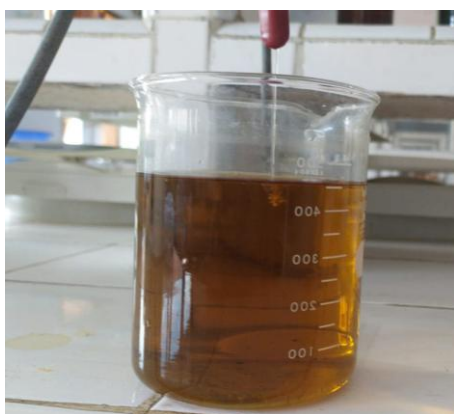
**Pembuatan Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah
(Zingiber zerumbet Rhizoma) Secara Perkolasi**



Proses Perendaman Serbuk Rimpang
Lempuyang Gajah



Proses Awal Perkolasi



Proses Akhir Perkolasi



Larutan Hasil Perkolasi



Proses Pengentalan Ekstrak Rimpang
Lempuyang Gajah



Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah

(Zingiber zerumbet Rhizoma)

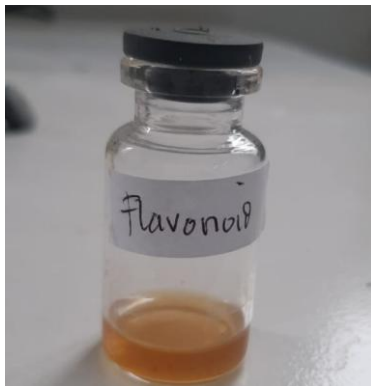
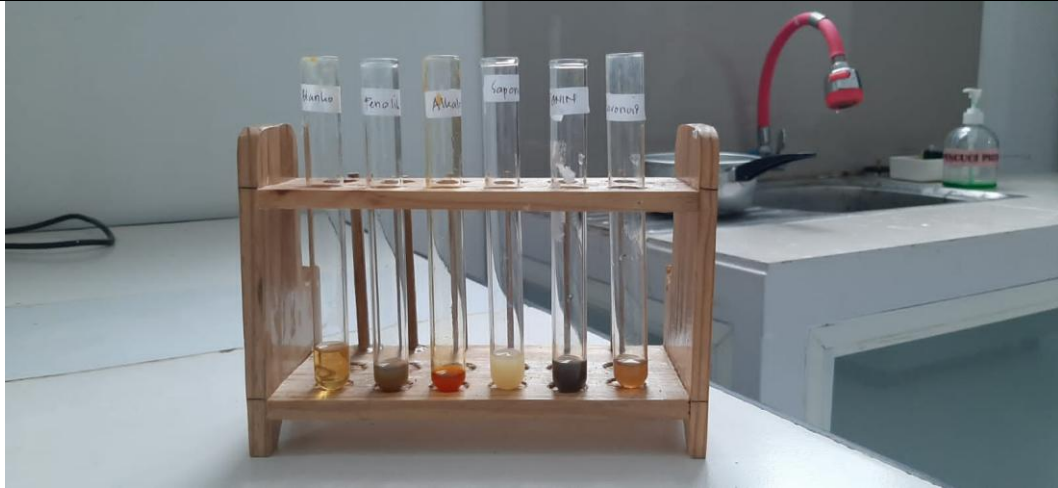
Rendemen = Bobot ekstrak kental/bobot simplisia x 100%

= 21,75 gram/250 gram x 100%

= 8,7 %

Lampiran 5. Uji Fitokimia

Uji Fitokimia Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (Zingiber zerumbet Rhizoma)



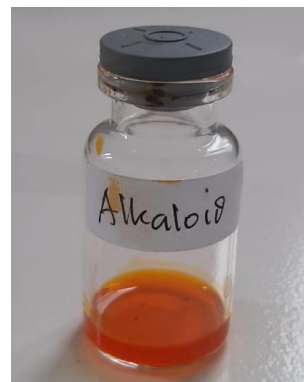
Warna jingga menandakan adanya senyawa flavonoid



Warna hijau kehitaman menandakan adanya senyawa tanin



Tidak terbentuknya busa menandakan tidak adanya senyawa saponin



Adanya endapan warna jingga menandakan adanya senyawa alkaloid



Warna hijau menandakan adanya senyawa fenolik



Lampiran 6. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah**Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah
(Zingiber zerumbet Rhizoma)**

50 PPM



100 PPM



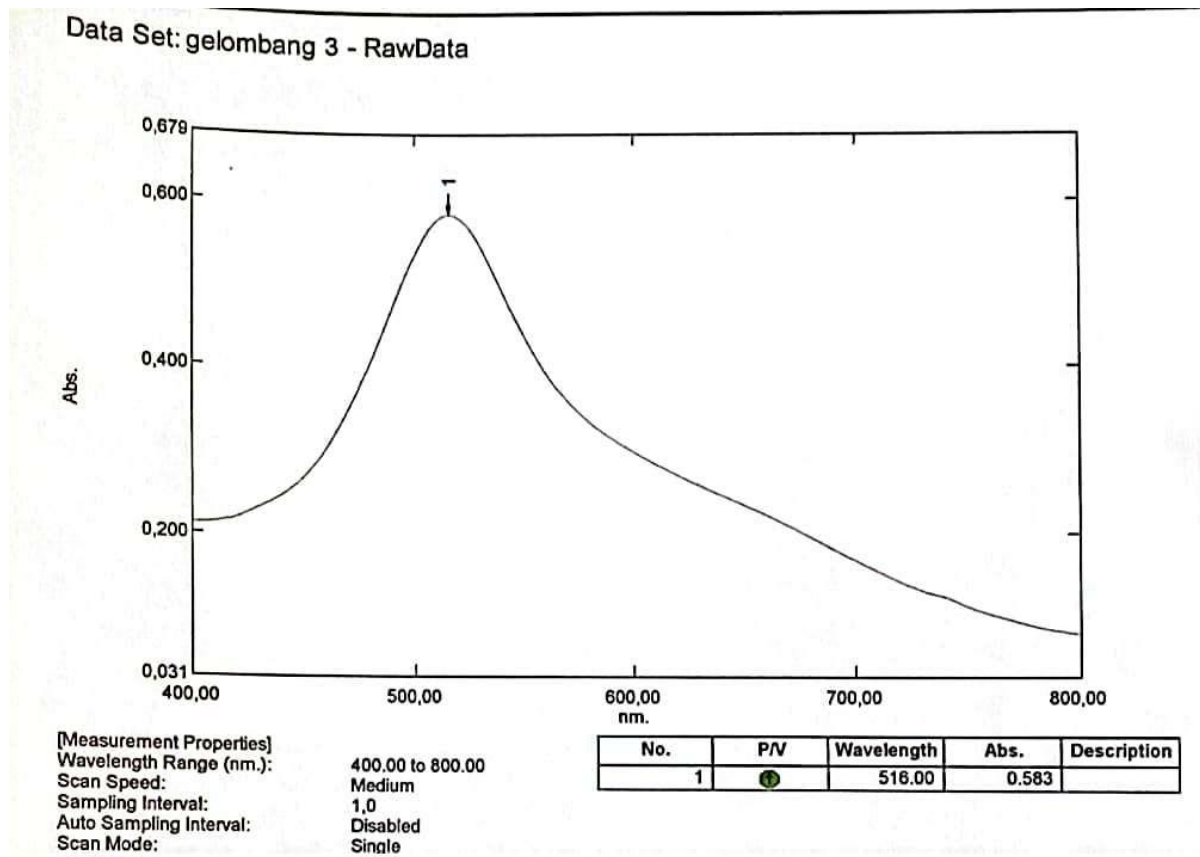
150 PPM



200 PPM



250 PPM

Lampiran 7. Grafik Panjang Gelombang DPPH

Lampiran 8. Perhitungan Pengujian Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

➤ Pembatan Larutan DPPH

Diketahui :

- Berat serbuk DPPH : 5 mg
- Volume pelarut : 100 mL

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi Larutan DPPH} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{5}{100} \times 1000 \\ &= 50 \text{ ppm}\end{aligned}$$

➤ Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Rimpang Lempuyung Gajah

+ Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Rimpang Lempuyung Gajah

Larutan Induk 1000 ppm

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi Larutan Induk} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{10}{10} \times 1000 \\ &= 1000 \text{ ppm}\end{aligned}$$

+ Perhitungan Pengenceran 50;100;150;200;250 ppm

Pengenceran

$$\text{Pengenceran} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

- 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

- 100 ppm $= \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$
- 150 ppm $= \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$
- 200 ppm $= \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$
- 250 ppm $= \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$

➤ **Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin**

 Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Pembanding Kuersetin

Larutan Induk 1000 ppm

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Larutan Induk} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{2}{10} \times 1000 \\ &= 200 \text{ ppm} \end{aligned}$$

 Perhitungan Pengenceran 10;20;30;40;50 ppm

Pengenceran

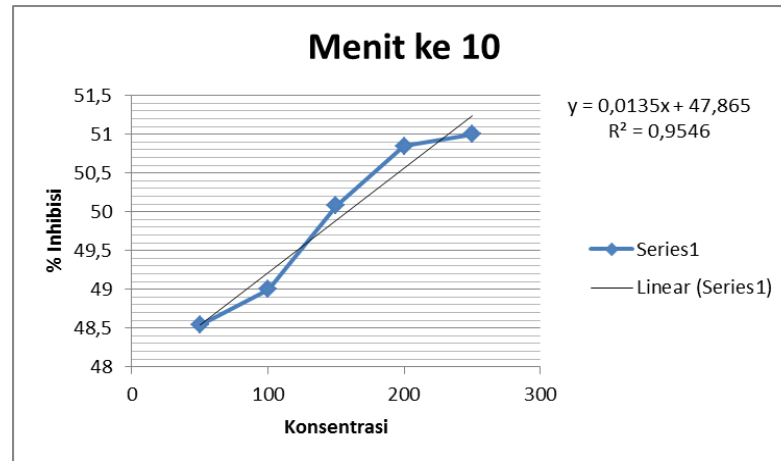
$$\text{Pengenceran} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

- 10 ppm $= \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$
- 20 ppm $= \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$
- 30 ppm $= \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$
- 40 ppm $= \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$
- 50 ppm $= \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$

- Optimasi Ekstrak Rimpang Lempuyung Gajah

Menit	Konsentrasi	Absorbansi	%Inhibisi	IC50	Nilai R
Blangko		0.651			
10	50	0.335	48.54	158.15	0.9546
	100	0.332	50.69		
	150	0.325	51.09		
	200	0.32	51.61		
	250	0.319	53.92		
20	50	0.335	48.54	136	0.917
	100	0.332	49.01		
	150	0.32	50.84		
	200	0.318	51.15		
	250	0.315	51.61		
30	50	0.337	48.23	105.53	0.9101
	100	0.321	50.69		
	150	0.319	51.09		
	200	0.315	51.61		
	250	0.3	53.92		
40	50	0.332	49.01	113.50	0.9749
	100	0.328	49.62		
	150	0.321	50.69		
	200	0.315	51.61		
	250	0.313	51.92		
50	50	0.335	48.54	120.71	0.9356
	100	0.325	50.08		
	150	0.321	50.69		
	200	0.319	50.99		
	250	0.313	51.92		
60	50	0.338	48.08	127.23	0.9165
	100	0.325	50.08		
	150	0.323	50.38		
	200	0.315	51.61		
	250	0.313	51.92		

PERHITUNGAN NILAI IC50

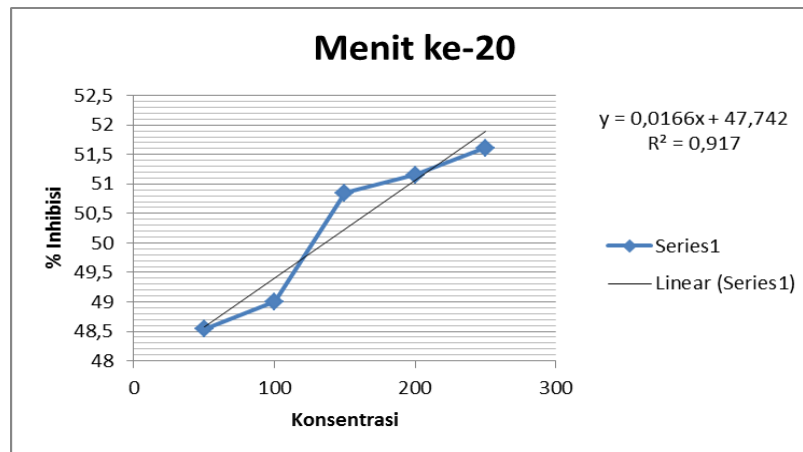


Persaman Regresi:

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,01356x + 47,865$$

$$158,15$$

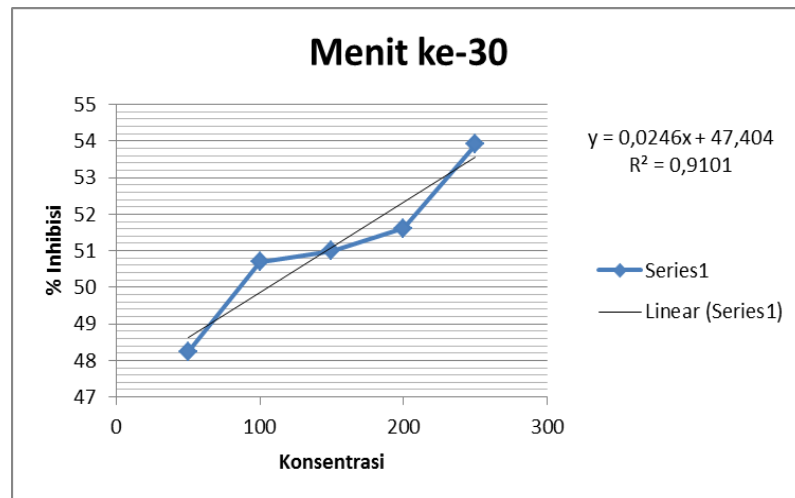


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,0166x + 47,742$$

$$136$$

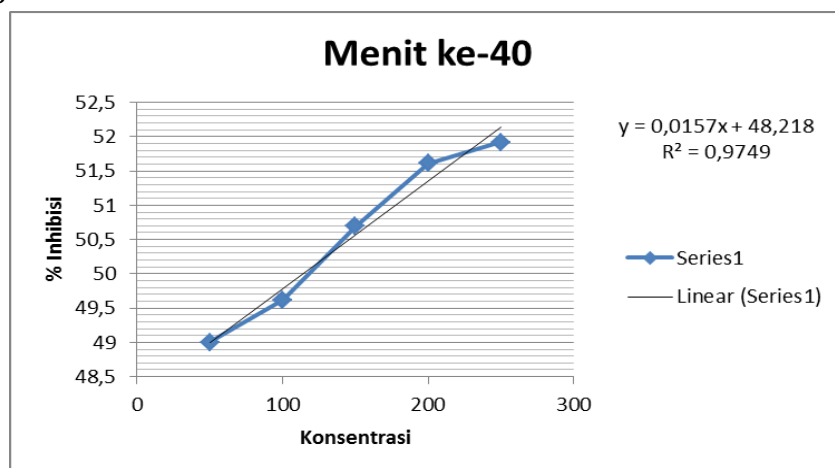


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,0246x + 47,404$$

$$105,53$$

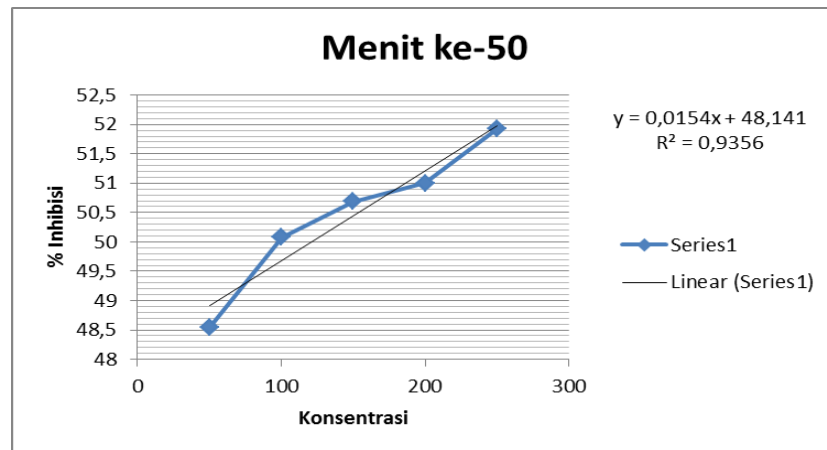


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,0157x + 48,218$$

$$113,50$$

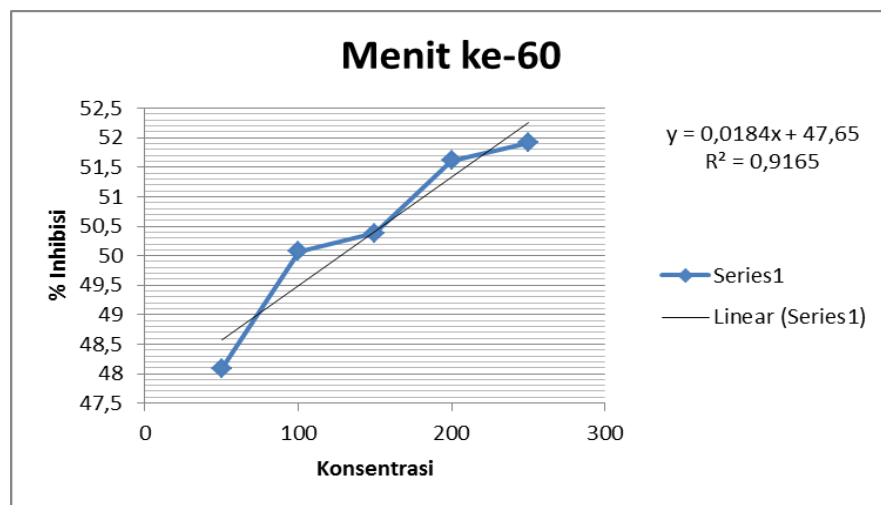


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,0154x + 48,141$$

$$120,71$$



Persaman Regresi

$$y = bx + a$$

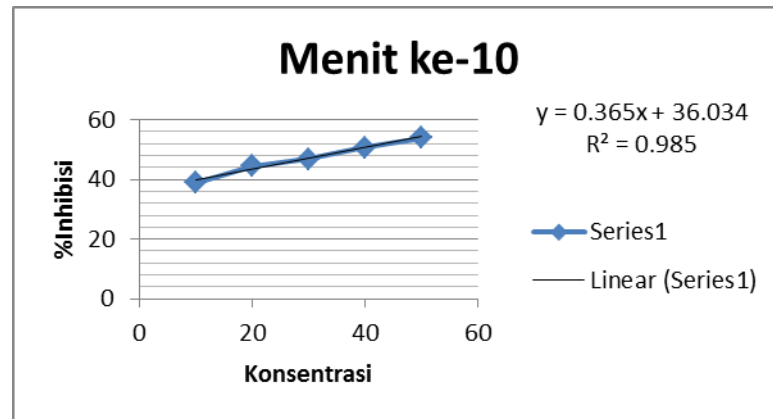
$$50 = 0,0184x + 47,65$$

$$127,23$$

- Optimasi Pembanding Kuersetin

Menit	Konsentrasi	Absorbansi	%Inhibisi	IC50	Nilai R
Blangko		0.63			
10	10	0.385	38.89	38.26	0.985
	20	0.35	44.45		
	30	0.335	46.82		
	40	0.31	50.79		
	50	0.29	53.97		
20	10	0.37	41.27	50,00	0.9943
	20	0.367	41.75		
	30	0.355	43.65		
	40	0.33	47.62		
	50	0.31	50.79		
30	10	0.345	45.24	36.97	0.9943
	20	0.335	46.82		
	30	0.325	48.41		
	40	0.31	50.79		
	50	0.3	52.38		
40	10	0.39	38.01	46.37	0.9532
	20	0.385	38.89		
	30	0.35	44.44		
	40	0.337	46.51		
	50	0.3	52.38		
50	10	0.395	37.3	50.46	0.9584
	20	0.39	38.09		
	30	0.365	42.06		
	40	0.34	46.03		
	50	0.31	50.79		
60	10	0.38	39.68	50.74	0.9687
	20	0.367	41.75		
	30	0.355	43.65		
	40	0.326	48.25		
	50	0.318	49.52		

PERHITUNGAN NILAI IC50

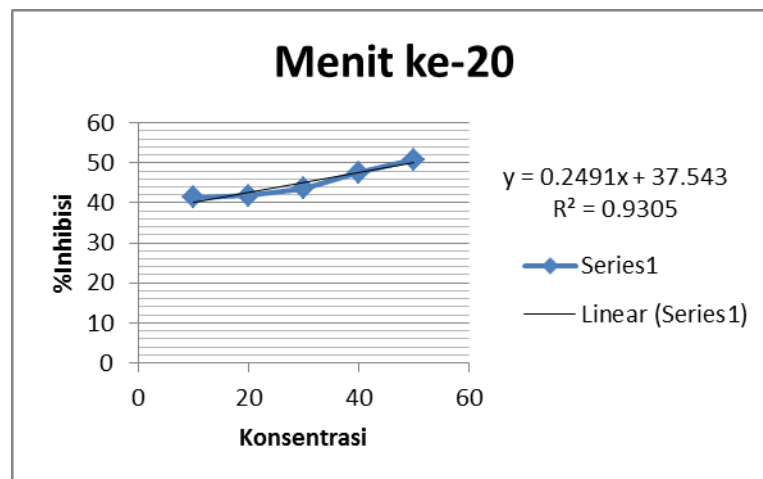


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.365x + 36.034$$

$$38.26$$

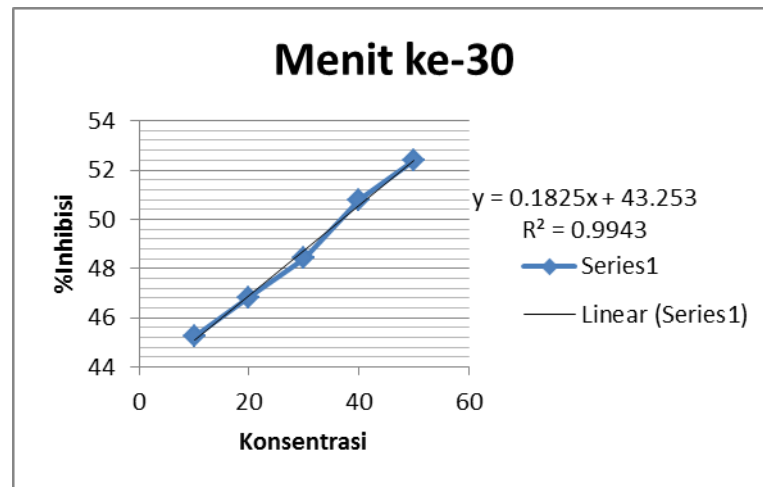


Persaman Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.2491x + 37.543$$

$$50$$

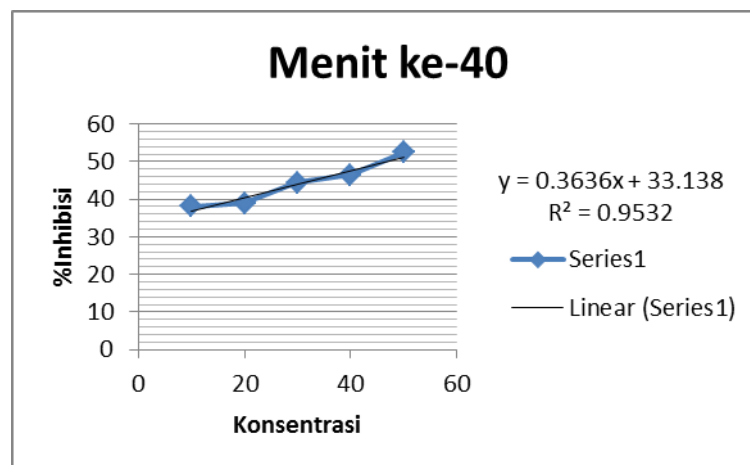


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.1825x + 43.253$$

$$36.97$$

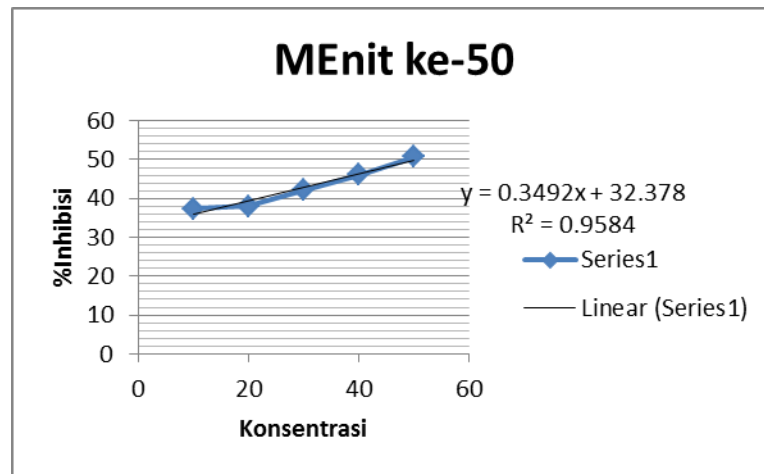


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.3636x + 33.138$$

$$46.37$$

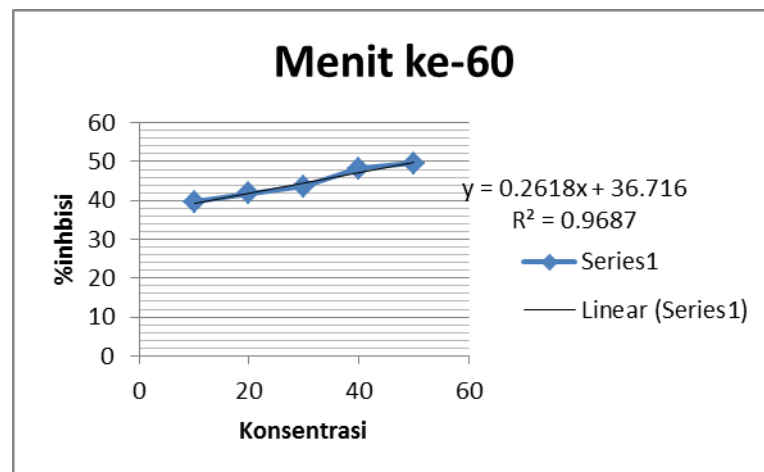


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.3492x + 32.378$$

$$50.46$$



$$y = bx + a$$

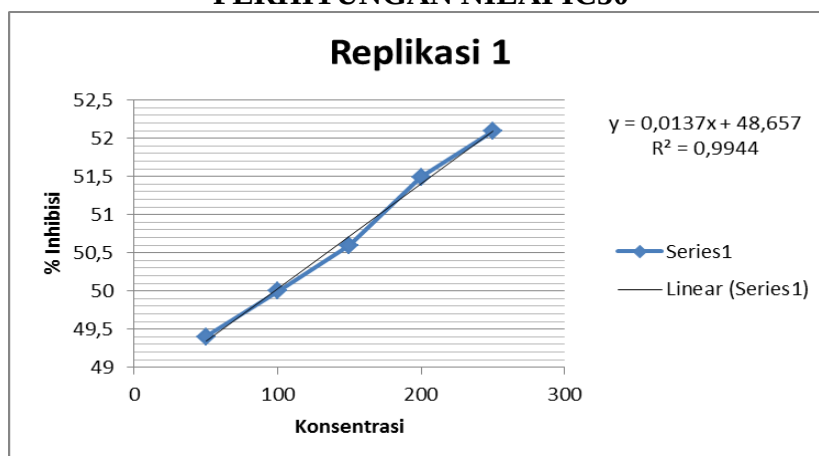
$$50 = 0.2618x + 36.716$$

$$50.74$$

- Hasil Uji Ekstrak Rimpang Lempuyung Gajah

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%Inhibisi	IC50	Nilai R	Kategori
Blangko		0.67				
Replikasi 1	50	0.339	49.4	98.03	0.994	Kuat
	100	0.335	50			
	150	0.331	50.59			
	200	0.325	51.49			
	250	0.321	52.09			
Replikasi 2	50	0.339	49.40	100.34	0.9756	Kuat
	100	0.334	50.15			
	150	0.332	50.45			
	200	0.328	51.04			
	250	0.322	51.94			
Replikasi 3	50	0.337	49.7	93.96	0.9435	Kuat
	100	0.335	50			
	150	0.333	50.3			
	200	0.326	51,34			
	250	0.322	51.94			
IC50 RATA RATA				97,44		Kuat
SD				1.34859		

PERHITUNGAN NILAI IC50

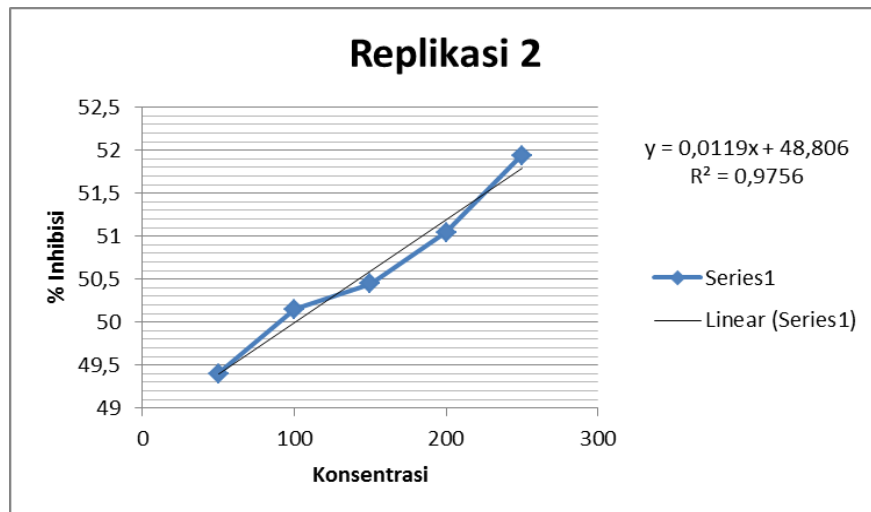


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.0137x + 48.657$$

$$98.03 \quad (\text{Kuat})$$

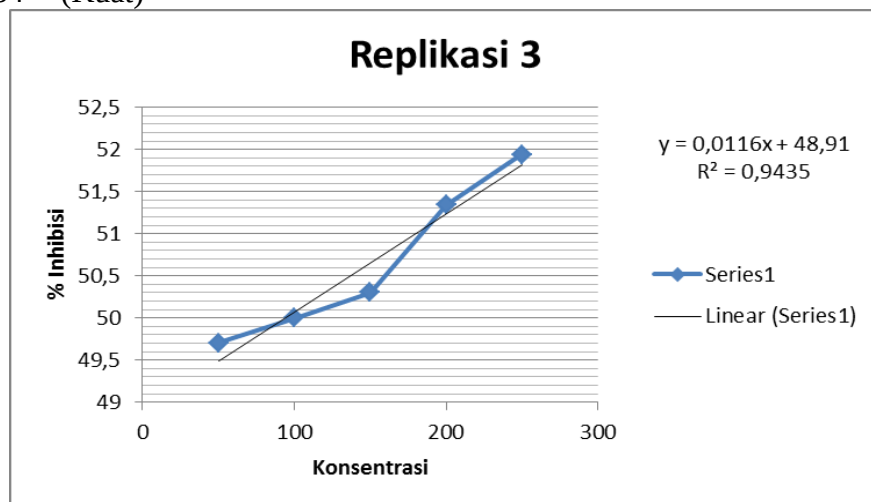


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,0119x + 48,806$$

$$100,34 \quad (\text{Kuat})$$



Persaman Regresi

$$y = bx + a$$

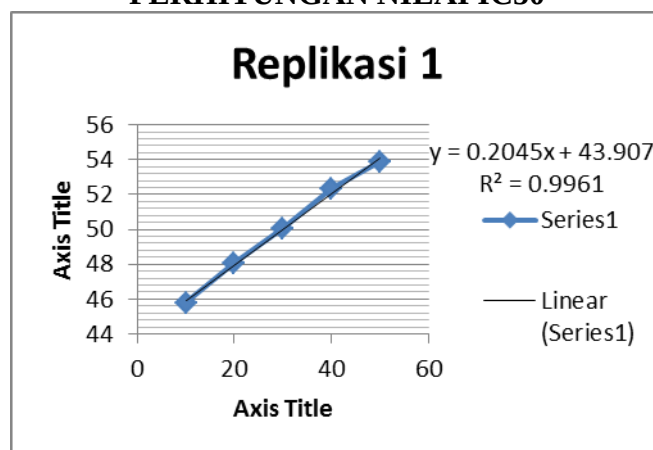
$$50 = 0,0116x + 48,91$$

$$93,96 \quad (\text{Kuat})$$

- Hasil Uji Pembanding Kuersetin

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%Inhibisi	IC50	Nilai R	Kategori
Blangko		0.655				
Replikasi 1	10	0.355	45.8	29.79	0.9961	Sangat Kuat
	20	0.34	48.09			
	30	0.327	50.07			
	40	0.312	52.36			
	50	0.302	53.89			
Replikasi 2	10	0.366	44.12	42.59	0.9939	Sangat Kuat
	20	0.356	45.65			
	30	0.34	48.09			
	40	0.328	49.92			
	50	0.318	51.45			
Replikasi 3	10	0.36	45.04	36.81	0.968	Sangat Kuat
	20	0.345	47.33			
	30	0.33	49.62			
	40	0.325	50.38			
	50	0.315	51.91			
IC50 RATA RATA				36.3967		Sangat Kuat
SD				6.41		

PERHITUNGAN NILAI IC50

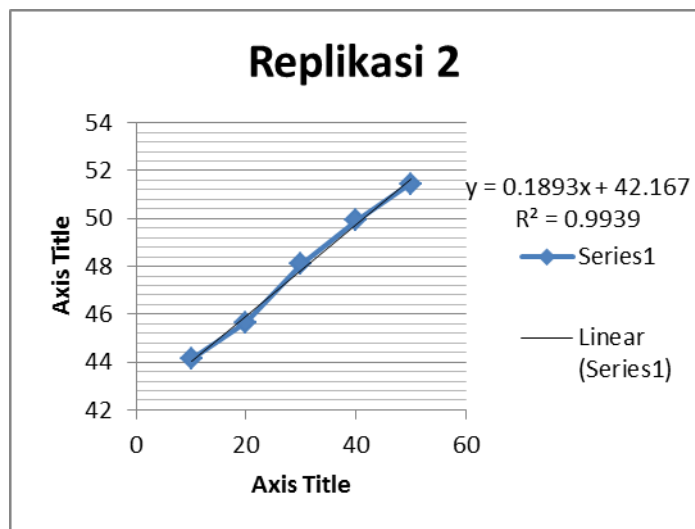


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.2045x + 43.907$$

$$29.79 \quad (\text{Sangat Kuat})$$

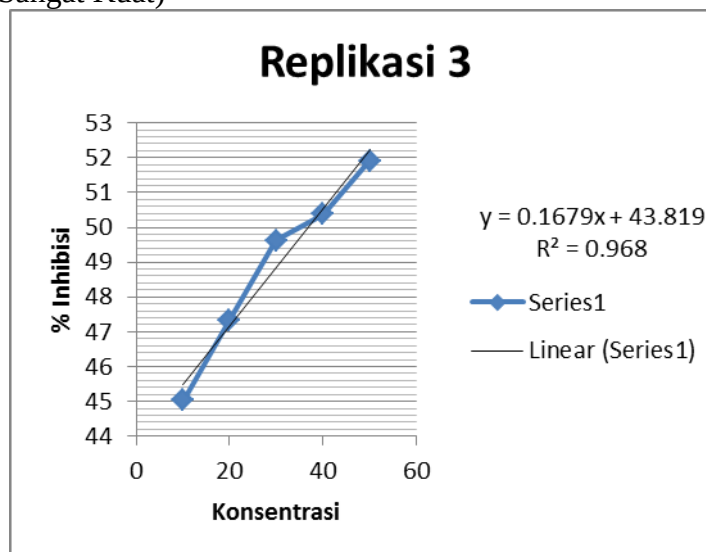


Persamaan Regresi

$$y = bx + a$$

$$50 = 0.1893x + 42.167$$

$$42.59 \quad (\text{Sangat Kuat})$$



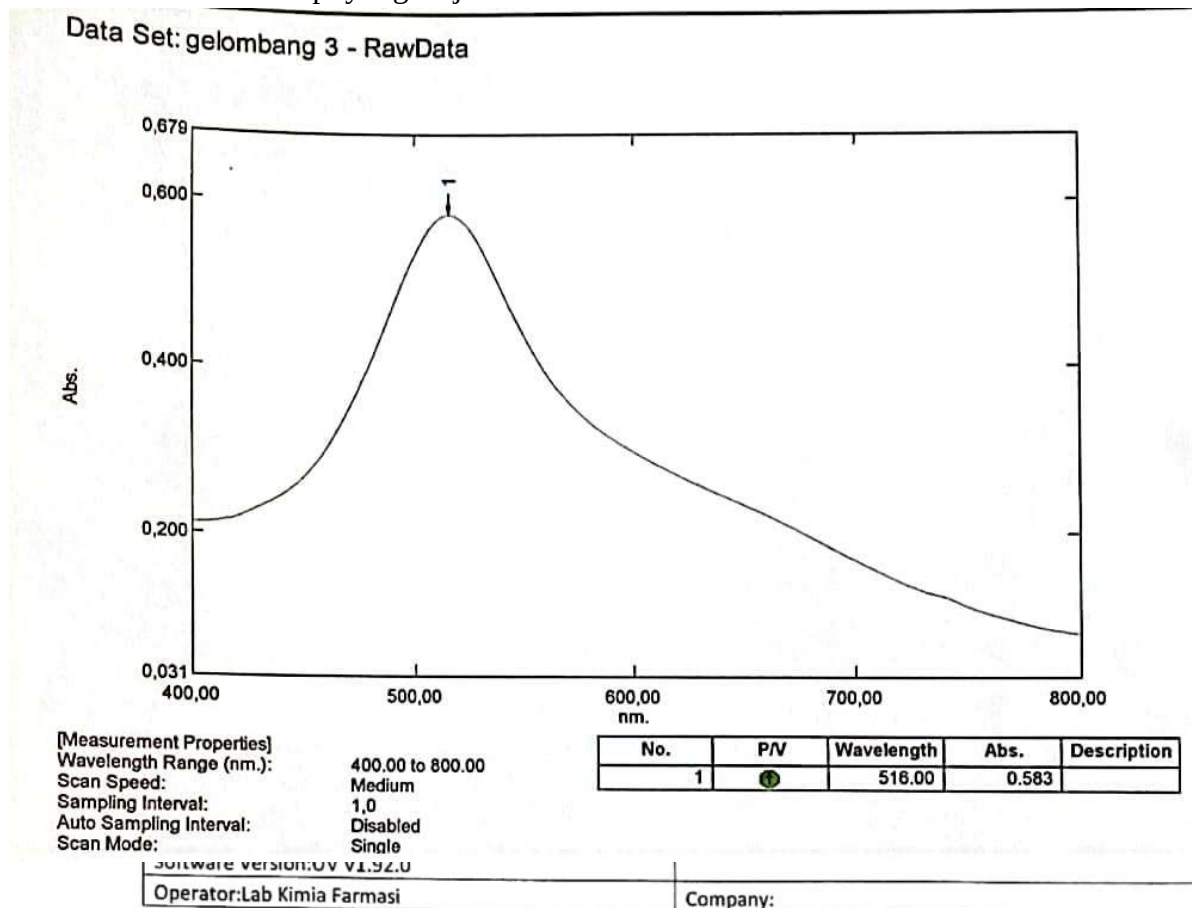
$$y = bx + a$$

$$50 = 0.1679x + 43.819$$

$$36.81 \quad (\text{Sangat Kuat})$$

- *Photometry tesr report* Ekstrak Rimpang Lempuyung Gajah dan Kuersertin

1. Ekstrak Lempuyung Gajah



Test Record List.

No.	WL (nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	516,0	0,655	22,1	22/09/2022 10:30:02	BLANGKO
2	516,0	0,355	46,4	22/09/2022 10:31:07	10PPM REP 1
3	516,0	0,366	44,2	22/09/2022 10:31:42	10PPM REP 2
4	516,0	0,360	43,4	22/09/2022 10:32:08	10PPM REP 3
5	516,0	0,340	45,5	22/09/2022 10:32:35	20PPM REP 1
6	516,0	0,356	44,1	22/09/2022 10:33:01	20PPM REP 2
7	516,0	0,345	46,6	22/09/2022 10:33:20	20PPM REP 3
8	516,0	0,327	45,6	22/09/2022 10:33:55	30PPM REP 1
9	516,0	0,340	46,1	22/09/2022 10:34:10	30PPM REP 2
10	516,0	0,330	50,6	22/09/2022 10:34:45	30PPM REP 3
11	516,0	0,312	48,8	22/09/2022 10:35:02	40PPM REP 1
12	516,0	0,328	48,9	22/09/2022 10:35:32	40PPM REP 2
13	516,0	0,325	49,2	22/09/2022 10:35:59	40PPM REP3
14	516,0	0,302	45,2	22/09/2022 10:36:06	50PPM REP 1
15	516,0	0,318	47,6	22/09/2022 10:36:43	50PPM REP 2
16	516,0	0,315	46,2	22/09/2022 10:36:04	50PPM REP 3