

BAB VI Hasil dan Pembahasan

VI.1 Penyiapan Bahan

Pada penyiapan bahan, yang pertama dilakukan adalah pengumpulan bahan tanaman, determinasi tanaman, dan pembuatan simplisia.

VI.1.1 Pengumpulan Bahan

Pengumpulan bahan baku berupa tanaman bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) diperoleh dari perkebunan Manoko, Lembang, Bandung. Dimana, bagian tanaman yang digunakan adalah rimpang.

VI.1.2 Determinasi Tanaman

Untuk menentukan kebenaran jenis spesies dari tanaman bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) yang digunakan telah dibuktikan dengan surat keterangan determinasi dari Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2. Dari sertifikasi yang diperoleh membenarkan bahwa tanaman yang diteliti merupakan bangle hantu dengan spesies (*Zingiber ottensi* Val.).

VI.1.3 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dimulai dari sortasi basah yang dilakukan pada rimpang tanaman bangle hantu dalam keadaan segar. Proses ini bertujuan untuk memisahkan bahan pengotor atau bahan-bahan asing lainnya dari rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) Kemudian, dilakukan pencucian dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan tanah atau pengotor yang masih melekat pada rimpang. Setelah dicuci bersih, dianginkan terlebih dahulu agar tidak terlalu basah saat proses perajangan. Selanjutnya yaitu tahapan

perubahan bentuk (perajangan) untuk memperkecil ukuran sehingga mempercepat proses pengeringan dan memaksimalkan saat proses penyarian (ekstraksi).

Rimpang tipis yang telah diperoleh, dilanjutkan pada tahap pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40°C. Proses pengeringan ini dimaksudkan untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sampel, sehingga dapat mencegah pembusukan oleh bakteri dan mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama.

Sortasi dilakukan kembali, dalam hal ini dilakukan sortasi kering untuk memisahkan partikel atau bahan yang tidak diinginkan seperti ranting atau daun-daun kering yang masih tertinggal pada simplisia bangle hantu yang telah dikeringkan. Bobot simplisia yang telah dikeringkan didapatkan sebesar 3.543,71 gram, kemudian simplisia diserbukkan untuk memperbesar luas permukaannya yang akan mempengaruhi penarikan senyawa pada saat proses ekstraksi. Terakhir, serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup rapat dan tidak lembab.

VI.1.4 Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan untuk mengambil senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Prinsip ekstraksi didasarkan pada perpindahan masa komponen zat yang terlarut ke dalam pelarut sehingga terjadi perpindahan pada lapisan antar muka dan berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, J.B 1987). Proses ekstraksi serbuk simplisia rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.), dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode

maserasi selama 3 hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Simplisia dimasukkan ke dalam wadah kaca, kemudian direndam dalam pelarut etanol 70% sampai terendam seluruhnya. Hasil maserasi disaring, sehingga diperoleh ekstrak cair rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.). Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat rotary vaporator (Buchi Rotavapor R-215) pada suhu 40°C dengan tekanan 175mbar sampai diperoleh ekstrak kental.

Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, penggunaan etanol dikarenakan etanol merupakan pelarut universal, sehingga diharapkan hampir semua senyawa yang terkandung dalam rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) dapat tersari secara keseluruhan. Selain itu juga, pelarut etanol 70% mampu melarutkan senyawa yang bersifat sangat polar karena terkadang ada senyawa-senyawa yang sangat polar tidak larut dalam etanol 96%.

Pada proses pemekatan ekstrak, digunakan alat *rotary vaporator* dengan suhu rendah yaitu 40°C untuk menguapkan pelarutnya, hal ini dikarenakan proses penguapan pada *rotary vaporator* telah dibantu dengan adanya tekanan, sehingga tidak diperlukan suhu tinggi untuk menguapkan pelarutnya.

Dari proses penguapan pelarut diperoleh rendemen ekstrak. Ekstrak kental yang didapat dari hasil pemekatan rimpang *Zingiber ottensi* Val) yaitu sebanyak 269,03 gram, didapatkan rendemen ekstrak rimpang 7,68%. Selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak berdasarkan kepolaran.

VI.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan dengan metode Ekstraksi Cair-cair (ECC). Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang bersifat semi polar akan larut dalam pelarut semi polar begitu juga dengan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Fraksinasi ini dilakukan dengan menggunakan corong pisah.

Ekstrak kental sebanyak 210 g dilarutkan metanol 20% dalam air lalu diekstraksi cair-cair dalam corong pisah dengan pelarut n-heksan, kemudian diambil fraksi air dan di ECC lagi dengan menggunakan n-heksan lagi sampai tiga kali pengulangan. Setelah itu, barulah fraksi air di ECC dengan pelarut yang semi polar yaitu etil asetat. Kemudian, fraksi air di ECC dengan butanol. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali pada masing masing pelarut. Hasil dari fraksinasi rimpang bangle hantu didapat empat fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi butanol, dan fraksi air. Dari keempat fraksi tersebut dipekatkan dengan *rotary vaporator* dan diperoleh fraksi kental. Hasil rendemen fraksi kental dari rimpang dapat dilihat pada tabel VI.1. Penentuan rendamen ini berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut (Ahmad, Juwita dan Malik, 2016)

Tabel VI.1 Hasil Rendemen Fraksi

Nama Fraksi	Bobot fraksi kental	% Rendemen
N-heksan	5,89 gr	2,80
Etil asetat	4,3907 gr	2,09
Butanol	67,1809 gr	31,99
Metanol : air (sisal)	131,9344 gr	62,82

VI.3 Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia bertujuan untuk memastikan mutu dan kualitas dari simplisia yang digunakan sebagai salah satu parameter standarisasi, meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik.

VI.3.1 Parameter Non Spesifik

Karakterisasi simplisia parameter non spesifik meliputi pengujian kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pengeringan dan kadar air. Hasil karakterisasi simplisia rimpang bangle hantu dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel VI.2 Karakterisasi Simplisia Rimpang Bangle Hantu

Karakteristik	Hasil
Susut pengeringan	9,85%
Kadar abu total	6,60%
Kadar abu tidak larut asam	2,32%
Kadar sari larut air	10,75%
Kadar sari larut etanol	8,71%
Kadar air	2,0122%

Pada pengujian kadar abu total, dilakukan dengan pemanasan menggunakan alat tanur sampai simplisia di dalam krus mengabu yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi putih abu. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui kandungan

senyawa anorganik yang terdapat didalam simplisia, baik yang berasal dari internal maupun eksternal tanaman atau gambaran kandungan mineral baik fisiologis maupun non fisiologis. Berdasarkan tabel VI.3 dapat dilihat bahwa kadar abu total yang didapatkan sebesar 6,60%.

Penetapan kadar sari bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang dapat tersari dalam pelarut tertentu. Nilai kadar sari larut air yang didapat yaitu 10,75% dan lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar sari larut etanol yaitu 8,71%. Hal ini menunjukkan tingginya senyawa yang larut dalam air dibandingkan senyawa yang larut dalam etanol

Tujuan dari dilakukan susut pengeringan adalah untuk memberikan batasan (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Pada susut pengeringan ini didapatkan nilai sebesar 9,85 % yang menunjukkan adanya komponen lain yang menguap selain air pada saat proses penguapan yaitu pada suhu 105°C seperti minyak atsiri

VI.3.2 Parameter Spesifik

Pada penetapan parameter spesifik bertujuan untuk memberikan identitas objektif. Parameter spesifik meliputi Uji makroskopik, dan organoleptik.

a. Uji Makroskopik



Gambar VI.1 Rimpang segar



Gambar VI.2 Rimpang kering

b. Organoleptis

Tabel VI.1 Karakteristik Rimpang Segar dan Kering Bangle Hantu

Karakteristik	Hasil	
	Rimpang segar	Rimpang kering
Bentuk	Hampir bundar sampai lonjong dan padat keras	Bundar dan kering
Warna	Ungu kecoklatan	Ungu
Aroma	Khas	Khas
Ukuran	P : 12 cm dan L : 3 cm	P : 2,5 cm dan L : 2 cm

VI.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) secara kualitatif. Sehingga hasil yang diperoleh dapat memberikan gambaran awal untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam rimpang tersebut. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi pengujian alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid.

Hasil skrining fitokimia rimpang bangle hantu dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel VI.2 Penapisan Fitokimia Rimpang Bangle Hantu

Golongan Senyawa	Kesimpulan
Alkaloid	
1. Pereaksi dragendroff	(-)
2. Pereaksi mayer	(-)
Flavonoid	(+)
Kuinon	(-)
Tanin	
1. Pereaksi FeCl ₃	(-)
2. Pereaksi gelatin	(-)
3. Pereaksi stiasny	(-)
Saponin	(+)
Steroid / triterpenoid	(+)

Ket : (-) = tidak mengandung senyawa yang diuji

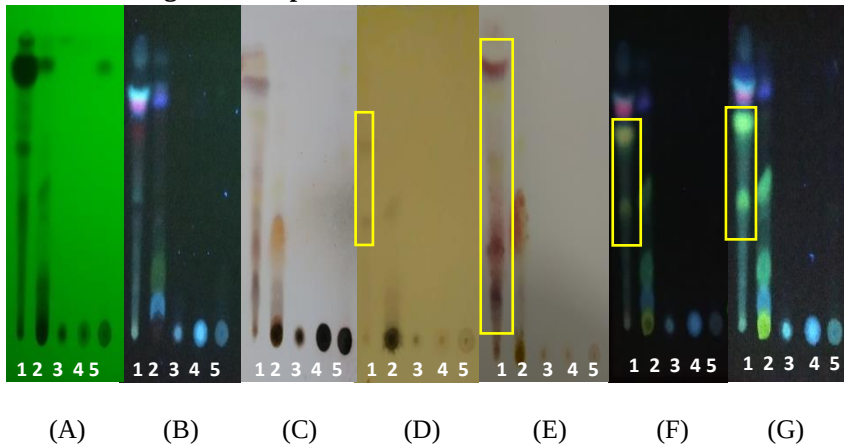
(+) = mengandung senyawa yang diuji

VI.5 Pemantauan Ekstrak dan Fraksi

Pemantauan ekstrak dan fraksi dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak secara kualitatif meliputi senyawa flavonoid dan karotenoid. Menggunakan metode

kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penotolan ekstrak dan fraksi pada plat KLT, fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄, dan fase geraknya menggunakan tiga eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk melihat spot yang terbentuk pada masing-masing tingkat kepolaran. Fase gerak non polar menggunakan perbandingan pelarut n-heksan-etil asetat (7:3), fase gerak semipolar menggunakan kloroform-metanol (8:2), fase gerak polar menggunakan BAW (Butanol-Asam asetat-Air) = 4:1:5. Pengamatan dilakukan di bawah lampu UV λ 254 nm, UV λ 365 nm, dan dengan menggunakan penampak bercak H₂SO₄ 10% visual, AlCl₃ dan sitroborat, FeCl₃ dan Anisaldehyd visual.

a. Fase gerak Non polar

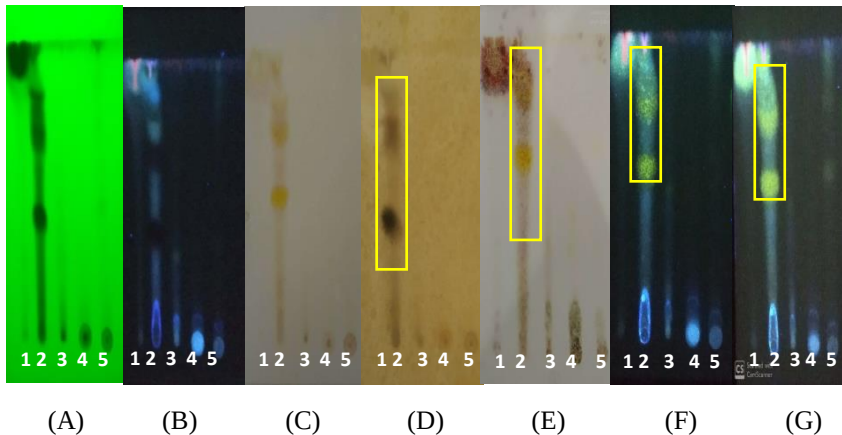


Gambar VI.3

Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) dengan fase diam silika gel F245 fase gerak n-heksana – Etil asetat (7:3), (1) fraksi n-heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu, (A) penampak bercak UV 254 nm, (B) penampak bercak UV 365 nm, (C)

penampak bercak H₂SO₄ 10%, (D) penampak bercak FeCl₃ 10%, (E) Penampak bercak anisaldehyd (F) penampak bercak AlCl₃ 5%, (G) penampak bercak Sitroborat

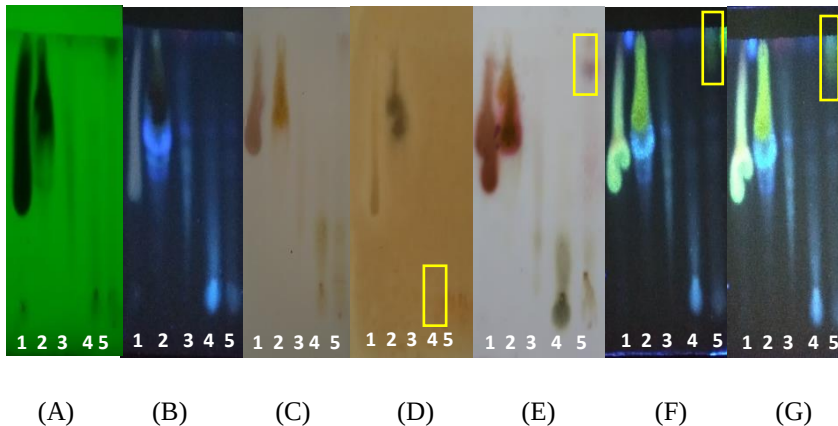
b. Fase gerak Semi polar



Gambar VI.4

Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) dengan fase diam silika gel F245 fase gerak kloroform - metanol (8:2), (1) fraksi n-heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu, (A) penampak bercak UV 254 nm, (B) penampak bercak UV 365 nm, (C) penampak bercak H₂SO₄ 10%, (D) penampak bercak FeCl₃ 10%, (E) Penampak bercak anisaldehyd (F) penampak bercak AlCl₃ 5%, (G) penampak bercak Sitroborat

c. Fase gerak Polar



Gambar
VI.5

Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) dengan fase diam silika gel F245 fase gerak Butanol: Asam asetat: Air (4:1:5), (1) fraksi n-heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu, (A) penampak bercak UV 254 nm, (B) penampak bercak UV 365 nm, (C) penampak bercak H₂SO₄ 10%, (D) penampak bercak FeCl₃ 10%, (E) Penampak bercak anisaldehyd (F) penampak bercak AlCl₃ 5%, (G) penampak bercak Sitroborat

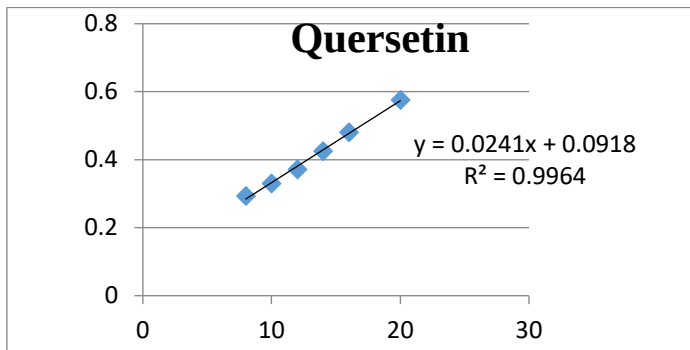
Pemantauan ekstrak dan fraksi menggunakan KLT menunjukkan adanya spot kuning pada penyemprotan menggunakan pereaksi semprot AlCl₃ dan sitroborat yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Penyemprotan dengan pereaksi FeCl₃ menunjukkan adanya spot hitam terutama didaerah penotolan menunjukkan adanya senyawa fenol. Sedangkan penyemprotan dengan pereaksi anisaldehyd menunjukkan adanya spot berwarna ungu dan orange terutama didaerah penotolan menunjukkan adanya senyawa karotenoid.

VI.5 Pembuatan Kurva Baku Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid pada ekstrak dan fraksi dilakukan dengan menambahkan metanol p.a, kemudian ditambahkan AlCl_3 2% (1:1) dan diinkubasi selama 60 menit. Intensitas warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 420 nm. Kandungan flavonoid dalam bahan dibandingkan dengan standar yang digunakan yaitu quersetin. Digunakan kuarsetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Azizah dan Faramayuda, 2014).

Selain itu, Kuersetin juga digunakan sebagai pembanding karena merupakan golongan flavonoid yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan diketahui memiliki banyak aktivitas biologis, khususnya antioksidan (Syofyan dkk, 2008).

Sebagai standar digunakan quersetin dengan konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, 16 ppm dan 20 ppm didapatkan data absorban (lampiran 4). Selanjutnya dari hasil pengukuran dibuat kurva baku antara konsentrasi (x) dan absorban (y), sehingga didapatkan persamaan standar quersetin yaitu $y = 0.0241x + 0.0918$ dengan nilai kuadrat koefisien relasi (r^2) = 0,9964.



Gambar VI.4 Kurva Baku Kuersetin

Persamaan yang didapat digunakan untuk menetapkan kadar flavonoid dari ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottrnsii* Val.). Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo). Dari data absorbansi sampel yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam persamaan regresi tersebut sebagai nilai “y” sehingga didapatkan kadar flavonoid sebagai nilai “x”.

VI.6 Penetapan Kadar Flavonoid

Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu. Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harborne, J.B 1987).

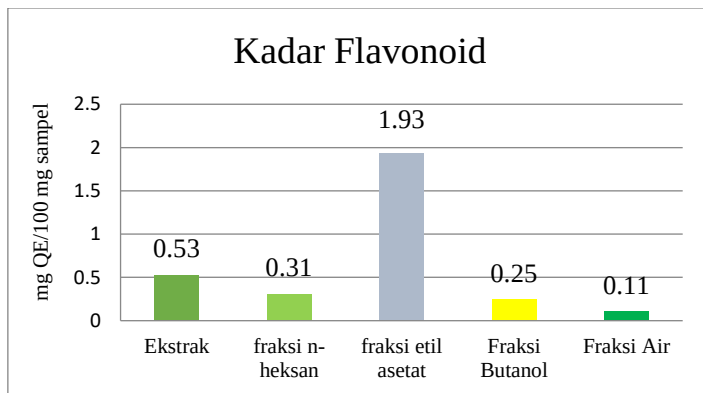
Penetapan kadar flavonoid masing-masing fraksi dan ekstrak rimpang bangle hantu (*Zingiber ottrnsii* Val.) menggunakan metode

kolorimetri dengan penambahan pereaksi AlCl_3 sebagai pembentuk kompleks, yang akan membentuk warna dengan senyawa flavonoid. Prinsip dari metode AlCl_3 yaitu pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil (Markham, 1988).

Dari hasil persamaan yang didapatkan dari pengukuran standar quersetin, maka didapatkan kadar senyawa flavonoid dari ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) sebagai tertera pada tabel 4 berikut. Dan perhitungan kadar flavonoid dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel VI.4 Hasil penetapan kadar senyawa flavonoid

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kadar (mg QE/100 mg sampel)
Ekstrak	3000	0.53 ± 0.003
Fraksi n-Heksan	1500	0.31 ± 0.010
Fraksi etil asetat	1000	1.93 ± 0.007
Fraksi Butanol	5000	0.25 ± 0.004
Fraksi Air	5000	0.11 ± 0.004



Gambar VI.5 Perbandingan Kadar Senyawa Flavonoid

Berdasarkan hasil kadar flavonoid dari ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.), dapat dilihat bahwa senyawa flavonoid lebih banyak terdapat pada fraksi etil asetat yaitu 1.93 ± 0.007 mg QE/100 mg sampel. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian Estaviani (2017) bahwa kadar flavonoid rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.) tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat.

VI.7 Penetapan Kadar Karotenoid

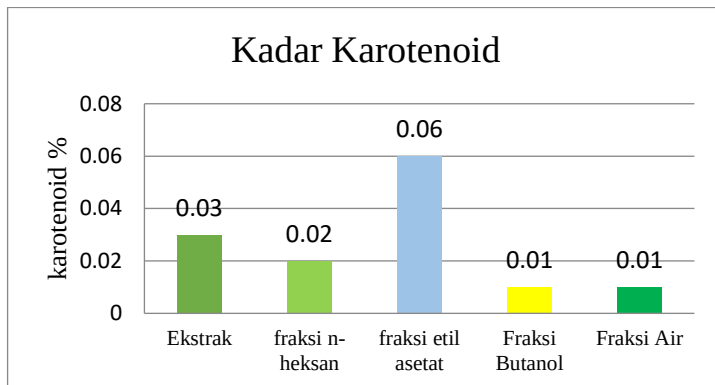
Pada penetapan kadar karotenoid dari ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*zingiber ottensi* Val.) dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu metode Buschmann dan metode dengan menggunakan standar β -karoten

a. Metode Buschmann

Pada metode ini pengukuran karotenoid total dilakukan dengan pengukuran sampel pada tiga panjang gelombang yaitu 470 nm, 661,6 nm dan 644,8 nm. Hasil pengujian yang diperoleh tertera pada tabel berikut.

Tabel VI.5 Hasil Penetapan Kadar Karotenoid

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%)
Ekstrak	8000	0.03 ± 0.001
Fraksi n-Heksan	2000	0.02 ± 0.002
Fraksi etil asetat	5000	0.06 ± 0.001
Fraksi Butanol	2000	0.01 ± 0.001
Fraksi Air	8000	0.01 ± 0.004



Gambar VI.6 Perbandingan Kadar Karotenoid

Dari diagram diatas diketahui bahwa kadar karotenoid yang memiliki nilai yang lebih tinggi terdapat pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 0.06 ± 0.001 %.

b. Metode Thaipong

1) Pembuatan Kurva Baku Karotenoid

Penetapan kadar karoten total menggunakan metode spektrofotometri, pembanding dan sampel dilarutkan dalam aseton PA, kemudian diukur pada panjang gelombang 470 nm, kadar karotenoid dihitung dari kurva kalibrasi β -karoten.

Sebagai standar digunakan beta karoten dengan konsentrasi yang digunakan 2-6 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dari hasil pengukuran dibuat kurva baku antara konsentrasi (x) dan absorbansi (y), sehingga didapatkan persamaan standar β -karoten yaitu $y = 0.0976x + 0.0454$ dengan nilai kuadrat koefisien relasi (r^2) = 0,9996. (Lampiran 6)

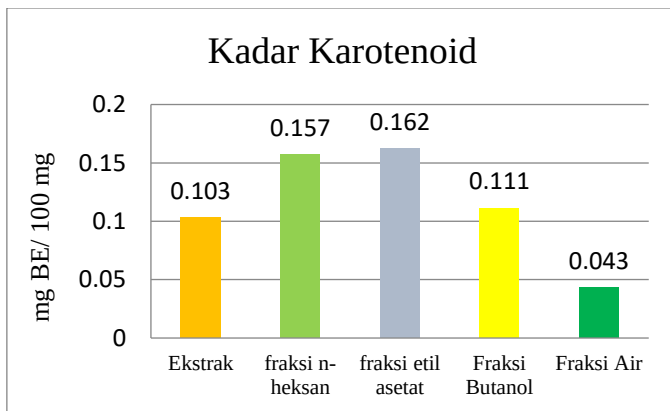
Persamaan yang didapat digunakan untuk menetapkan kadar karotenoid dari rimpang tanaman bangle hantu (*Zingiber ottensi* Val.). Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo). Dari data absorban yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam persamaan regresi beta karoten sebagai nilai “y” sehingga didapatkan kadar Karotenoid sebagai nilai “x”.

2) Penetapan Kadar Karotenoid

Dari hasil persamaan yang didapatkan terhadap standar yang berupa β -karoten, maka didapatkan hasil pengukuran kadar pada ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu sebagai berikut.

Tabel V1.6 Hasil Penetapan kadar karotenoid

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kadar (mg BE/100 mg sampel)
Ekstrak	8000	0.103 ± 0.001
Fraksi n-Heksan	2000	0.157 ± 0.002
Fraksi etil asetat	5000	0.162 ± 0.000
Fraksi Butanol	2000	0.111 ± 0.001
Fraksi Air	8000	0.043 ± 0.000



Gambar VI.7 Perbandingan Kadar Karotenoid

Berdasarkan hasil perhitungan kadar karotenoid didapatkan bahwa senyawa yang memiliki kadar karotenoid lebih tinggi terdapat pada fraksi etil asetat, sama halnya dengan metode sebelumnya fraksi etil asetat memiliki kandungan karotenoid lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Hal ini dikarenakan Karotenoid dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok berdasarkan keberadaan oksigen di struktur molekulnya. Karotenoid yang tidak memiliki atom oksigen atau hanya berupa hidrokarbon disebut karoten, sedangkan karotenoid yang memiliki sekurang-kurangnya satu atom oksigen disebut xantofil. Karoten memiliki sifat hidrofobik sehingga sulit larut dalam air namun larut dalam pelarut non polar. Sebaliknya, keberadaan gugus hidroksil di xantofil menyebabkan dapat larut dalam pelarut polar (Arab dkk, 2001).

Oleh karena karotenoid memiliki tingkat kepolaran yang beragam. Pelarut untuk mengekstrak karotenoid juga dapat berupa campuran pelarut nonpolar dan polar sehingga karotenoid pun dapat larut dalam pelarut semipolar dimana pada tabel VI.7 dan tabel VI.8 didapatkan hasil bahwa nilai kadar karotenoid lebih tinggi pada fraksi etil asetat.

Dari kedua metode yang digunakan untuk pengukuran kadar karotenoid dapat dilihat bahwa penentuan kadar dengan menggunakan perbandingan standar menghasilkan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan penentuan kadar karotenoid dengan metode bushmann, hal ini dikarenakan pada pengukuran dengan menggunakan standar, kadar yang terukur spesifik hanya untuk senyawa beta karoten sedangkan dengan metode bushman yang

diukur karotenoid total dengan menggunakan perhitungan klorofil a dan klorofil b. Hal ini dapat menyebabkan pada saat pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang terbaca pada gelombang tersebut tidak hanya untuk klorofil a dan klorofil b melainkan senyawa-senyawa yang lainnya ikut terbaca, hal inilah yang menyebabkan pada metode bushman meskipun yang diukur karotenoid total namun hasil yang diperoleh lebih kecil daripada menggunakan beta karoten.

VI.8 Hubungan antara kadar senyawa flavonoid dan karotenoid dengan aktivitas antioksidan

Pada penelitian ini dilakukan korelasi antara aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid dan karotenoid. Dimana, aktivitas antioksidan diperoleh dari penelitian Ulfah, 2019. Untuk melihat korelasi antara kadar flavonoid dan karotenoid total dengan aktivitas antioksidan dilakukan perhitungan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Hasil korelasi terlampir (lampiran 7).

Pada kadar flavonoid diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,039, sehingga terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji ($p < 0,05$). Diperoleh nilai korelasi $-0,834$, berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa besarnya aktivitas antioksidan sebesar 83,4 % dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total dengan interpretasi kuat.

Hasil analisis data menunjukkan adanya korelasi negatif (nilai r minus) dapat diinterpretasikan bahwa antara dua variabel yang diujikan berlawanan arah, yakni semakin besar kandungan flavonoid totalnya maka semakin kecil nilai IC_{50} . Dengan kata lain, semakin

besar kandungan flavonoid totalnya, semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Sama halnya dengan flavonoid, senyawa karotenoid juga terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji ($p < 0,05$) karena nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,043 dan besarnya aktivitas antioksidan sebesar 82,9 % dipengaruhi oleh kandungan karotenoid total dengan interpretasi kuat. Dan hasil analisis data menunjukkan adanya korelasi negatif (nilai r minus) yaitu $-0,829$ dapat diinterpretasikan bahwa antara 2 variabel yang diujikan mempunyai hubungan yang berlawanan arah, yakni semakin besar kandungan karotenoid totalnya maka semakin kecil nilai IC_{50} . Dengan kata lain semakin besar kandungan karotenoid totalnya, semakin tinggi aktivitas antioksidan. Dari korelasi kedua senyawa tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid dan karotenoid berhubungan secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan.