

BAB VI Hasil Pengamatan Dan Pembahasan

VI.1. Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan yang dilakukan meliputi pengumpulan bahan, determinasi dan pengolahan bahan hingga menjadi simplisia.

VI.1.1 Pengumpulan Bahan

Rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensii*) yang digunakan dalam penelitian ini, diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko Lembang, Bandung.

VI.1.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman ini dilakukan di Laboratorium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Zingiber ottensii* yang termasuk dalam famili Zingiberaceae. Pembuktian determinasi dipertegas dengan surat determinasi tanaman (Lampiran 2) yang dikeluarkan oleh Laboratorium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

VI.1.3. Pengolahan Bahan

Pengolah bahan yang dilakukan terdiri dari sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan.

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran- kotoran atau bahan asing lainnya seperti tanah, kerikil, serta pengotor lainnya. Rimpang *Zingiber ottensii* dibersihkan menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang tertinggal pada rimpang. Proses pengubahan bentuk dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga dapat mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga diperoleh simplisia kering. Tujuan dari proses pengeringan ini adalah untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga simplisia dapat disimpan dalam waktu lama. Sortasi kering dilakukan dengan memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lainnya yang tertinggal pada simplisia rimpang bangle hantu yang telah dikeringkan. Simplisia rimpang bangle hantu disimpan dalam wadah tertutup rapat, tidak lembab dan tidak terkena cahaya.

VI.2. Karakteristik Simplisia

Karakteristik simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas dan mutu simplisia yang digunakan. Hasil pemeriksaan karakteristik simplisia rimpang *Zingiber ottensii* dapat dilihat pada tabel VI.2.



Gambar VI.1 (a) Pemeriksaan Makroskopik Rimpang Segar (b) Pemeriksaan Makroskopik Simplisia *Zingiber ottensii*

Tabel VI.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptis Rimpang Segar dan Simplisia *Zingiber ottensii*

Karakteristik	Deskripsi	
	Rimpang Segar	Simplisia
Bentuk	Lonjong atau tidak beraturan	Bulat atau oval
Aroma	Khas	Khas
Ukuran	Panjang: 16,5 cm	Panjang: 2,5 cm
	Lebar: 2,5 cm	Lebar: 2 cm
Warna	Ungu kehitaman	Ungu

Tabel VI.2 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

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%

Berdasarkan tabel VI.2 dapat dilihat bahwa nilai susut pengeringan yang didapatkan untuk simplisia rimpang *Zingiber ottensii* yaitu sebesar 9,85%. Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan pada suhu 105°C.

Pada penetapan kadar abu bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa mineral internal dan eksternal yang terkandung dalam simplisia maupun ekstrak. Penetapan kadar abu meliputi kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Persentase kadar abu total menunjukkan besarnya jumlah mineral internal dan eksternal yang terkandung dalam sampel. Persentase kadar abu tidak larut asam menunjukan besarnya jumlah mineral eksternal. Dari hasil pengujian didapatkan nilai kadar abu simplisia rimpang *Zingiber ottensii* yaitu kadar abu total sebesar 6,60% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 2,32%.

Penentuan kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang tersari oleh pelarut tertentu. Dari pengujian didapatkan data kadar sari larut air sebesar 10,75% dan kadar sari larut etanol sebesar 8,71%. Sehingga dapat dilihat bahwa nilai kadar sari larut air lebih tinggi dibandingkan dengan nilai kadar sari larut etanol. Hal ini menunjukkan senyawa yang tersari dalam air lebih banyak dibandingkan dalam etanol.

VI.3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia rimpang *Zingiber ottensii*. Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengujian flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, quinon dan steroid/ triterpenoid. Hasil skrining fitokimia simplisia rimpang *Zingiber ottensii* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel VI.3 Hasil Penapisan Fitokimia

Senyawa	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Saponin	+
Tanin	-
Kuinon	-
Steroid/ Triterpenoid	+

Keterangan: (+) = mengandung senyawa uji

(-) = tidak mengandung senyawa uji

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada simplisia rimpang *Zingiber ottensii* memberikan hasil positif terhadap golongan flavonoid, saponin dan steroid/ triterpenoid.

VI.4. Ekstraksi

Proses pembuatan ekstrak simplisia rimpang *Zingiber ottensii* dilakukan dengan cara maserasi sebanyak 3 kali pengulangan selama 24 jam. Simplisia dimasukkan dalam wadah kaca dan direndam dalam etanol 70% hingga terendam seluruhnya. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary vaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 175 mbar hingga diperoleh ekstrak kental rimpang *Zingiber ottensii* sebanyak 296,03 gram dan diperoleh rendemen ekstrak rimpang 7,68%.

VI.5 Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan untuk memisahkan komponen berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC). Sebanyak 210 gram ekstrak kental rimpang *Zingiber ottensii* hasil maserasi dilarutkan dengan metanol 20% dalam air. Ekstrak rimpang *Zingiber ottensii* di fraksinasi menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat. Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi ini adalah n-Heksana, etil asetat, butanol dan air. Fraksinasi dilakukan sebanyak 4-5 kali pengulangan untuk masing-masing pelarut. Dari proses fraksinasi ini didapatkan 4 fraksi yaitu fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, fraksi butanol dan fraksi air. Keempat fraksi ini selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary vaporator* sehingga diperoleh fraksi kental. Hasil rendemen masing-masing fraksi dapat dilihat pada tabel berikut.

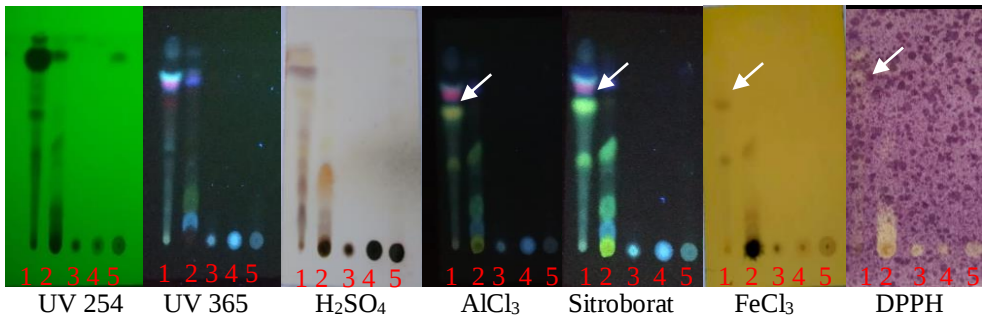
Tabel VI.4 Rendemen Fraksi Ekstrak Rimpang *Zingiber ottensii*

Fraksi	Bobot kental	Rendemen
n-Heksana	5,89 gram	2,80%
Etil asetat	4,3907 gram	2,09%
Butanol	67,1809 gram	31,99%
Air	131,9344 gram	62,82%

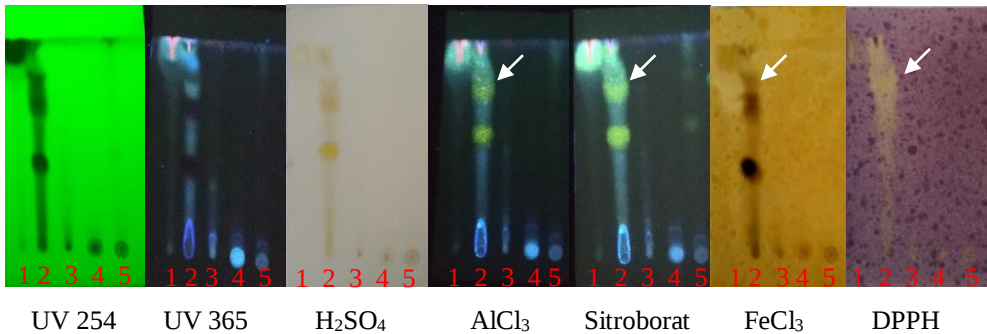
Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa rendemen fraksi terbesar terdapat pada fraksi air yaitu sebesar 62,82%. Sehingga dapat dikatakan bahwa banyak senyawa polar yang tertarik.

VI.6 Pemantauan Ekstrak dan Fraksi

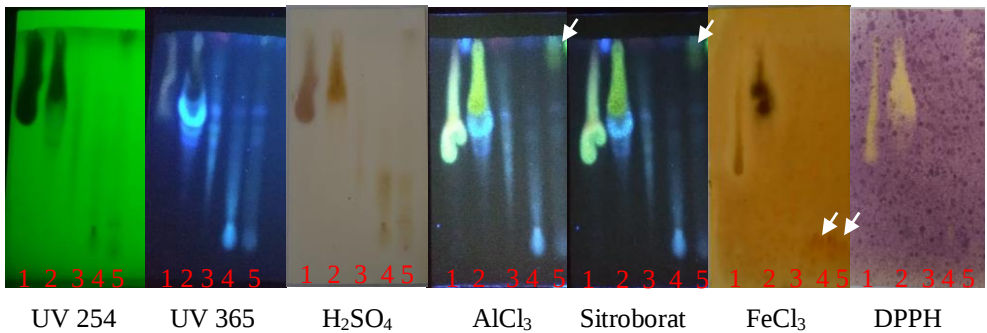
Identifikasi senyawa secara kualitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis. Ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu ditotolkan pada plat KLT menggunakan fase diam silika gel F_{254} , dengan fase gerak non polar yaitu n-Heksana: etil asetat (7:3), fase gerak semi polar kloroform: metanol (8:2) dan fase gerak polar butanol: asam asetat: air (4:1:5). Penampak bercak yang digunakan yaitu H_2SO_4 10%, $FeCl_3$ 10%, $AlCl_3$ 5%, sitroborat dan penampak bercak DPPH 0,2%.



Gambar VI.2 : kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak non polar n-heksana: etil asetat (7:3) , fase diam silika gel F_{254} , (1) fraksi n-Heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu.



Gambar VI.3 : kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak semi polar kloroform: metanol (8:2) , fase diam silika gel F_{254} , (1) fraksi n-Heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu.



Gambar VI.4 : kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak polar butanol: asam asetat: air (4:1:5), fase diam silika gel F_{254} , (1) fraksi n-Heksana, (2) fraksi etil asetat, (3) fraksi butanol, (4) fraksi air, (5) ekstrak rimpang bangle hantu.

Hasil pengujian menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan spot kuning pada penyemprotan menggunakan pereaksi semprot AlCl_3 dan sitroborat. Penyemprotan dengan pereaksi FeCl_3 menunjukkan adanya senyawa fenol yang ditandai dengan spot berwarna hitam. Penyemprotan dengan pereaksi DPPH menunjukkan adanya spot kuning dengan latar belakang ungu yang diduga menunjukkan adanya senyawa antioksidan.

VI.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan terhadap sampel rimpang *Zingiber ottensii* dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan CUPRAC. IC_{50} DPPH didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%, sedangkan EC_{50} dari kapasitas CUPRAC adalah konsentrasi dari sampel atau standar yang dapat menunjukkan efektivitas 50% kapasitas CUPRAC. IC_{50} atau EC_{50} kurang dari 50 ppm merupakan antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm merupakan antioksidan kuat, 101-150 ppm merupakan antioksidan sedang, lebih dari 150 ppm antioksidan yang lemah.

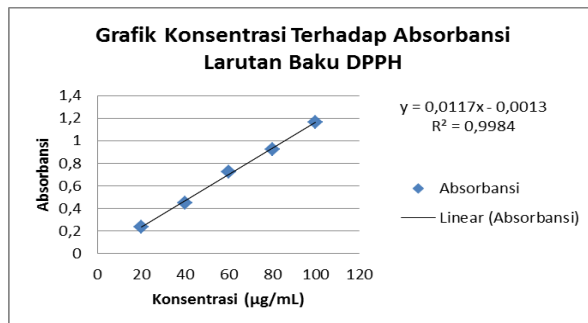
VI.7.1 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Tahap awal yang dilakukan adalah pengukuran panjang gelombang DPPH dan pembuatan kurva kalibrasi DPPH untuk menunjukkan hubungan linieritas antara respon absorbansi larutan dengan konsentrasi larutan DPPH yang terekam pada instrumen

spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil penetapan diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 516 nm. Berdasarkan literatur panjang gelombang yang dapat digunakan untuk pengukuran dengan metode DPPH yaitu 515 nm – 520 nm (Molyneux, 2004).

Tabel VI.5 Larutan Baku DPPH

C (µg/mL)	Absorbansi
20	0,233
40	0,452
60	0,723
80	0,923
100	1,165



Gambar VI. 5 Kurva kalibrasi larutan baku DPPH

Dari kurva kalibrasi larutan DPPH diatas, didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y=0,0117x -0,0013$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) yaitu 0,9984. Dari hasil pengujian, absorbansi larutan DPPH yang berada pada rentang 0,7-0,8 berada pada konsentrasi larutan DPPH 60µg/mL. Konsentrasi larutan DPPH tersebut selanjutnya digunakan dalam pembuatan larutan stok dan sebagai larutan kontrol DPPH.

Sampel pembanding dalam pengukuran aktivitas antioksidan ini adalah Vitamin C. Vitamin C digunakan sebagai pembanding dikarenakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Pada pengujian ini dibuat beberapa seri konsentrasi vitamin C dalam metanol p.a dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Dari hasil pengukuran, didapatkan % inhibisi untuk masing-masing konsentrasi vitamin C. Sehingga dapat dibuat kurva vitamin C (Lampiran 5).

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} . Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel rimpang *Zingiber ottensii* dilakukan terhadap beberapa seri konsentrasi, sehingga diperoleh absorbansi masing-masing konsentrasi yang selanjutnya dapat dihitung % inhibisinya. Nilai % inhibisi dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100\%$$

Keterangan:

A_k = Absorbansi DPPH

A_s = Absorbansi DPPH + sampel

Selanjutnya dibuat persamaan regresi linier konsentrasi terhadap nilai % inhibisi, sehingga diperoleh persamaan regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dengan memasukan angka 50 sebagai variabel “y” dan IC_{50} sebagai variabel “x”. Nilai IC_{50} ini digunakan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan dari sampel yang digunakan dalam pengujian. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode

peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada tabel berikut, perhitungan pada lampiran 3.

Tabel VI.6 Nilai IC₅₀ Rimpang *Zingiber ottensii*

Sampel	Nilai IC ₅₀ DPPH (µg/mL) ± SD
Ekstrak etanol 70%	1120,98 ± 2,76
Fraksi n-Heksana	3042,28 ± 15,01
Fraksi etil asetat	198,14 ± 0,31
Fraksi butanol	655,49 ± 3,22
Fraksi air	2243,01 ± 10,09

Dari tabel diatas, dapat dilihat bahwa hasil pengujian menunjukkan sampel rimpang *Zingiber ottensi* dengan metode peredaman radikal bebas DPPH memiliki aktivitas antioksidan yang lemah pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 198,14 µg/mL, sedangkan pada ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, fraksi butanol, dan fraksi air rimpang *Zingiber ottensii* tidak mampu meredam radikal bebas DPPH karena memiliki nilai IC₅₀ lebih dari 500 µg/mL. Dengan nilai IC₅₀ vitamin C yaitu 7,66 µg/mL.

VI.7.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC

Pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif selanjutnya dilakukan dengan metode CUPRAC (*Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity*).

Dalam penelitian ini, metode DPPH dan CUPRAC memberikan hasil yang berbeda. Hal ini diduga karena perbedaan sensitivitas metode. Metode DPPH ini mudah digunakan, cepat, cukup teliti, dan baik digunakan dalam pelarut organik, khususnya alkohol. Metode ini juga sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman. Akan tetapi, metode DPPH kurang sensitif untuk mengukur aktivitas antioksidan selain dari senyawa fenolat (Apak dkk., 2007).

Pada metode CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*), kompleks bisneokuproin-tembaga (II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan dalam ekstrak tumbuhan dan mengalami reduksi membentuk kompleks bisneokuproin-tembaga (I). Aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak ditentukan berdasarkan peningkatan absorbansi Cu (I)-*neocuproine* dengan menghitung persentase konsentrasi ekshibisi (Apak dkk., 2007).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap sampel rimpang *Zingiber ottensii* dan baku pembanding vitamin C. Sampel dan vitamin C dibuat beberapa konsentrasi dan diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil pengujian didapatkan nilai absorbansi, sehingga dapat dihitung % ekshibisinya dengan menggunakan rumus:

$$T = (1 - 10^{-a}) \times 100\%$$

$$\% E = 100 - t$$

Keterangan:

% E: persen peningkatan absorbansi CUPRAC

T: transmitan

a: (absorbansi sampel – absorbansi kontrol)

Selanjutnya nilai konsentrasi dan % ekshibisi diplotkan dengan menggunakan regresi linier. Persamaan regresi linier yang didapatkan kemudian digunakan untuk menghitung nilai % EC_{50} . Hasil pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari rimpang *Zingiber ottensii* dengan metode CUPRAC dapat dilihat pada tabel berikut, perhitungan pada lampiran 4.

Tabel VI.7 EC_{50} Rimpang *Zingiber ottensii*

Sampel	Nilai EC_{50} CUPRAC ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SD
Ekstrak etanol 70%	548,37 $\pm$ 1,65
Fraksi n-Heksana	446,93 $\pm$ 1,19
Fraksi etil asetat	97,90 $\pm$ 0,31
Fraksi butanol	426,28 $\pm$ 0,80
Fraksi air	835,27 $\pm$ 15,65

Hasil pengujian antioksidan dengan metode CUPRAC, menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, karena memiliki nilai EC_{50} sebesar 97,90 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi n-Heksana dan fraksi butanol memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, sedangkan ekstrak dan fraksi air tidak memiliki aktivitas antioksidan. Dengan EC_{50} vitamin C yaitu 9,825 $\mu\text{g/mL}$.