

Penetapan Kadar Total Fenolik Dan Uji Aktivitas antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidazil (DPPH)

Oktariani Pramiastuti^{1*}, Dinar Anggia Zen², Bayu Aji Prastiyo³

^{1,2,3} Program Studi S1 Farmasi STIKes Bhamada Slawi

*Korespondensi: oktariani.pram@gmail.com 085640253017

ABSTRAK

Daun kecombrang (*Etlingera elatior*), adalah tanaman obat tradisional yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu memperlambat, menunda dan mencegah proses oksidasi lipid oleh radikal bebas. Ekstraksi daun kecombrang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% daun kecombrang. Penetapan kadar total fenolik dengan standar asam galat menggunakan reagen folin- Ciocalteu. Prinsip uji ini terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru pada panjang gelombang 755,5 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,369. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode perendaman DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl Hidrazil) diukur serapan pada panjang gelombang 516 nm. Seri kadar ekstrak etanol 96% daun kecombrang yang digunakan adalah 20,40, 60, 80 dan 100 ppm, sedangkan pembanding asam galat dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 ppm Hasil kadar total fenolik yang diperoleh yaitu sebesar 48,223 mgGAE/g. Hasil IC₅₀ dari ekstrak daun kecombrang adalah 4,7645 ppm dan asam galat sebagai pembanding adalah 3,3698 ppm, ekstrak daun kecombrang dan asam galat termasuk dalam antioksidan sangat kuat. Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dengan uji normalitas dan *Independent T-Test*, hasil dari uji normalitas berdasarkan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa terdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$, sedangkan pada uji *Independent T-Test* diperoleh nilai signifikansi $0,152 > 0,05$ sehingga tidak ada perbedaan bermakna antara asam galat dengan ekstrak etanol 96% daun kecombrang.

Kata Kunci: *Kecombrang (Etlingera elatior), Total Fenolik, Antioksidan, IC₅₀, Independent T-Test*

PENDAHULUAN

Kerusakan pada sel dan jaringan yang merupakan akar dari sebagian besar penyakit disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas reaktif sangat berbahaya karena akan mengikat elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid dan juga DNA. DNA adalah senyawa yang ada dalam inti sel, apabila mengalami kerusakan akan menyebabkan berbagai macam penyakit seperti katarak, kanker dan penyakit degeneratif (Kumalaningsih, 2006).

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar, termasuk diantaranya adalah atom hidrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil karena kehilangan elektronnya (Holistic, 2011).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menunda dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Antioksidan ini mampu mengubah sel-sel tubuh menjadi pengaman untuk melawan radikal bebas sebagai penyebab berbagai penyakit (Pokorny *et al.*, 2001).

Alternatif tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah tanaman kecombrang. Penelitian tentang tanaman kecombrang dalam bentuk ekstrak telah banyak dilakukan. Komponen kimia dari bunga kecombrang terdiri dari alkaloid, flavonoid, polifenol, minyak atsiri, saponin dan steroid. Senyawa golongan fenol diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Kiessoun *et al.*, 2010).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, botol maserasi, batang pengaduk, *rotary evaporator*, tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung reaksi, *waterbath*, silika gel, penjepit (pinset), bejana kromatografi (*Chamber*), Lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm, pipa kapiler, pensil dan penggaris, oven, cawan porselen, botol timbang, eksikator, *Moisture Analyzer*, kurs dan *Chamber Furnace*, kertas saring, penangas api, *micropipet*, Spektrofotometri UV-Vis mini-1240 Shimadzu.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Tanaman Kecombrang (*Etlingera elatior*), n-heksan, etil asetat, etanol, aseton p, serbuk halus asam borat p, serbuk halus asam oksalat p, eter p, aquades, FeCl_3 2,5%, air hangat, asam klorida 2N, larutan Besi (III) klorida 10%, metanol, pereaksi *dragendorff*, butanol, asam asetat glasial, uap amonia, kloroform, asam formiat, pereaksi anisaldehyd, asam galat, pereaksi folin ciocalteu, Na_2CO_3 7,5%, serbuk DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 50 gram serbuk daun kecombrang dalam bejana dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 750 mL selama 3 hari dan diaduk selama sesekali. Kemudian disaring ampasnya menggunakan kain flannel dan kertas saring. Ekstrak cair dikentalkan dengan *rotary evaporator* sehingga akan diperoleh ekstrak kental (Syarif et al., 2016).

2. Uji Pendahuluan

Standardisasi ekstrak dalam penelitian ini meliputi identitas, organoleptis, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam dan susut pengeringan. Skrining Fitokimia dalam

penelitian ini meliputi flavonoid, alkaloid, fenol, saponin, dan tanin sedangkan pada uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dilakukan identifikasi pada flavonoid, fenol, alkaloid, triterpenoid/steroid.

3. Penetapan kadar total fenolik

a. Pembuatan Reagen

1) Pembuatan larutan induk asam galat (200 ppm)

Sebanyak 2 mg asam galat dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a kemudian diencerkan dengan air suling sampai volume 10 mL (Alfian, 2012).

2) Pembuatan larutan Na_2CO_3 7,5%

Sebanyak 7,5 gram Na_2CO_3 ditambah 80 mL air suling, kemudian dididihkan sampai serbuk Na_2CO_3 larut sempurna. Setelah itu diamkan selama 24 jam, disaring dan diencerkan dengan air suling sampai volume 100 mL (Alfian, 2012).

b. Tahapan penentuan kadar total fenolik

1) Penentuan *Operating time*

Sebanyak 0,2 mL larutan asam galat konsentrasi 40 ppm ditambah 0,2 mL reagen folin-ciocalteu, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Kedalam larutan tersebut ditambah 2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, digojog homogen, dan diukur absorbansinya

dalam rentang waktu 0-60 menit pada panjang gelombang 755,5 nm (Amanah, 2015).

2) Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum

Larutan asam galat konsentrasi 40 µg/mL ditambah 0,2 mL reagen folin-ciocalteu, kemudian digojog dan diidamkan selama 3 menit. Ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%, dan aquadest sebanyak 2,6 mL digojog kembali dan diidamkan pada suhu kamar pada *range operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600-850 nm (Amanah, 2015).

3) Pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen folin-ciocalteu

Larutan asam galat konsentrasi 25, 30, 35, 40, dan 45 ppm masing-masing dipipet sebanyak 0,2 mL dimasukkan dalam tabung, masing-masing, kemudian ditambah 0,2 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan digojog. Setelah diidamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% dan ditambah 2,6 mL aquadest digojog homogen, dan diidamkan pada *range operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi

hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi (Amanah, 2015).

4) Penetapan kadar total fenolik

Sebanyak 0,2 mL Larutan ekstrak 100 ppm dan ditambah 0,2 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan digojog. Didiamkan selama 3 menit, ditambah 2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%, dan 2,6 mL aquades didiamkan lagi pada *range operating time* pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum (Amanah, 2015).

4. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas penangkapan radikal DPPH dilakukan mengikuti metode yang telah umum digunakan. Secara garis besar ekstrak dibuat dalam berbagai larutan dalam metanol pro analisis. Ekstrak etanol (20, 40, 60, 80, 100 ppm) lalu asam galat (4, 6, 8, 10, dan 12 ppm) dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan metanol hingga 0,2 mL dan ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH dihomogenkan menggunakan vortex. Larutan ini dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit. Selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 516 nm (Khairunnisa, 2015).

Persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi DPPH} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Sampel}} \times 100\%$$

Sedangkan nilai IC₅₀ ditentukan dari persamaan linear, $y = a + bx$, yang terbentuk dari data persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi. Dalam persamaan tersebut, nilai x adalah konsentrasi zat yang diukur, sedangkan nilai y merupakan nilai 50 yang menunjukkan 50% inhibisi yang diberikan oleh sampel yang diuji (Khairunnisa, 2015).

5. Analisis Data

1) Analisis Data Total Fenolik

Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linier $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar (Murtijaya dan Lim, 2007).

2) Analisis Data Aktivitas

Antioksidan

Data hasil absorbansi dihitung pesen penghambatan dengan SPSS dimana pesen penghambatan akan didapat nilai IC₅₀. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji- t untuk melihat hubungan antara kandungan asam galat dengan ekstrak daun kecombrang terhadap aktivitas antioksidan. Nilai $P <$

0.05 menunjukkan hubungan yang signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi pada daun kecombrang Hasil ekstraksi daun kecombrang (*Etligeria elatior*) diperoleh sebesar 13,03 gram dari bobot serbuk kering sebanyak 50 mg. Sedangkan persen rendemen dari ekstrak etanol daun kecombrang (*Etligeria elatior*) sebesar 26,06%.

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia yang digunakan Depkes RI, (2000). Semakin tinggi rendemen, semakin besar pula ekstrak yang dapat dihasilkan dari suatu serbuk simplisia. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut, namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa Ukiyanna, (2012).

Standardisasi ekstrak etanol daun kecombrang dilakukan untuk mengendalikan mutu dan keamanan dari ekstrak sebagai bahan baku obat tradisional. Penetapan standar mutu ekstrak meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Uji Organoleptik ekstrak bertujuan sebagai

pengenalan awal yang sederhana menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau dan rasa (Anonim, 2000). Hasil

pengujian parameter spesifik ekstrak daun kecombrang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Parameter Spesifik Ekstrak Daun Kecombrang

Parameter	Ekstrak kental Etanol 96% Daun Kecombrang
Identitas	Nama latin: Etlingera elatior Bagian tumbuhan: Daun Nama Indonesia:Kecombrang
Organoleptis	Bentuk:Ekstrak kering Warna:Hitam Kehijauan Bau : Berbau khas Rasa : Pahit

Tabel 2. Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik Ekstrak Daun Kecombrang

Parameter	Persyaratan	Ekstrak kental Etanol 96% Daun Kecombrang
Kadar air	Tidak lebih dari 10%	9,68%
Kadar abu	Tidak lebih dari 16%	12%
Kadar abu tidak larut asam	Kurang dari 2,83%	-28%
Susut Pengerinan	Kurang dari 10%	0,78%

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kecombrang

Golongan senyawa aktif	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Berfluoresensi kuning
Alkaloid	-	Tidak terjadi perubahan warna
Fenol	+	Warna hijau kehitaman
Saponin	+	Tidak ada busa atau gelembung
Tanin	+	Warna biru tua

Keterangan: (+) Memberikan hasil positif, (-) Memberikan hasil negatif

Tabel 4 Hasil Kromatografi lapis tipis (*Etlingera elatior*)

No.	Senyawa	Eluen	Rf ekstrak	Literatur
1	Flavonoid	n-heksan : etil asetat (1:4)	0,97	0,9 (Ahmad, 2015)
2	Fenol	N-butanol : asam asetat : air (4:1:5)	0,1	0,19 (Susanti, et, al.,2017)
3	Alkaloid	Etil asetat : metanol : air (6:4:2)	0,81	0,9 (Marliana et, al., 2005)
4	Triterpenoid/steroid	n-heksan : etil asetat (4:1)	0,18	0,16 (Marliana, 2007)

Pemeriksaan parameter non spesifik yang dilakukan adalah penentuan kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, dan susut pengeringan. Hasil pengujian parameter non spesifik ekstrak daun pepaya dan ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel 2.

Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongan dan sebagai informasi awal dalam mengetahui senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman (Tyler, 1888). Identifikasi perlu dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etlingera elatior*). Hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.

Kromatografi lapis tipis (KLT)

dilakukan untuk lebih memastikan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Prinsip dari KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip absorbs dan partisi, yang ditemukan oleh fasa diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Stahl, 1985).

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etlingera elatior*). Uji yang dilakukan diantaranya flavonoid, fenol, alkaloid,

triterpenoid/steroid. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) yang dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.

Uji kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara mengaktivasi fase diam terlebih dahulu yaitu memanaskan silika gel dengan oven yang suhunya 100°C selama 30 menit bertujuan agar kadar air dan pelarut pengganggu menguap sehingga fase diam atau silika gel murni dari zat pengganggu. Selanjutnya dilakukan penjenuhan chamber, dijenuhkan dengan cara menutup rapat chamber yang telah dimasukkan kertas saring. Eluen yang digunakan pada uji flavonoid yaitu n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (1:4). Tujuan dari penjenuhan adalah agar partikel eluen dapat terdistribusi merata pada seluruh bagian chamber dan fase diam, sehingga kemungkinan terjadinya *tailing* akan semakin kecil. Setelah penjenuhan eluen tahap selanjutnya adalah penotolan ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) pada fase diam yang telah diaktivasi lalu dimasukkan kedalam chamber yang telah jenuh dan ditunggu sampai rambatan mencapai batas atas plat silika gel lalu diamati dibawah sinar UV 366 nm dan dengan penyemprotan

$AlCl_3$ yang menunjukkan warna kuning-kehijauan. Dari hasil pengamatan diperoleh bercak dengan nilai R_f 0,97 dan berwarna kuning pada sinar UV 366 nm. Pada penelitian Ahmad, (2015) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang dilakukan memperoleh nilai R_f 0,9 ini sesuai dengan salah satu bercak pada identifikasi kromatografi lapis tipis pada senyawa flavonoid.

Identifikasi senyawa golongan fenol yang dilakukan menggunakan uji kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan (4:1:5) dan diamati pada sinar UV 366 nm, penampak bercak yang digunakan yaitu $FeCl_3$ hasil positif berwarna ungu. Hasil yang diperoleh dari ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etlingera elatior*) menunjukkan nilai R_f 0,1 dan berwarna ungu pada sinar UV 366 nm ini sesuai dengan penelitian Susanti *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa nilai R_f 0,19 menunjukkan hasil yang positif terhadap fenol.

Identifikasi senyawa golongan alkaloid yang dilakukan menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : air dengan perbandingan (6:4:2) dengan pemampang bercak yang digunakan yaitu pereaksi *Dragendorff* dan dilihat pada sinar UV 366 nm. Dimana hasil

yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa nilai *Rf* yang diperoleh pada ekstrak daun kecombrang (*Etlintera elatior*) yaitu sebesar 0,81 dan berwarna jingga pada sinar UV 366 nm sedangkan menurut penelitian Marlina *et al.*, (2005) menyatakan bahwa nilai *Rf* yang terkandung yaitu 0,9. Menurut Soeharsono, (1989) komponen terpisah baik jika nilai *Rf* berbeda minimal 0,1 karena setiap komponen mempunyai nilai *Rf* yang khas artinya, pada sampel ekstrak etanol 96% daun kecombrang memiliki nilai *Rf* yang berbeda dengan penelitian Marlina *et al.*, (2005) namun perbedaannya 0,1 maka dapat dikatakan bahwa pada sampel daun kecombrang memiliki senyawa golongan alkaloid.

Hasil identifikasi senyawa golongan triterpenoid/steroid menggunakan fase gerak n- heksan : etil asetat dengan perbandingan (4:1) memberikan hasil yang positif mengandung triterpenoid/steroid dengan nilai *Rf* 0,18 dan pada penampang sinar uv 366 nm memberikan warna ungu kemerahan, ini sesuai dengan penelitian (Marlina, 2007) yang menyatakan bahwa *Rf* triterpenoid/steroid yaitu sebesar 0,16 dengan timbulnya noda berwarna ungu

kemerahan.

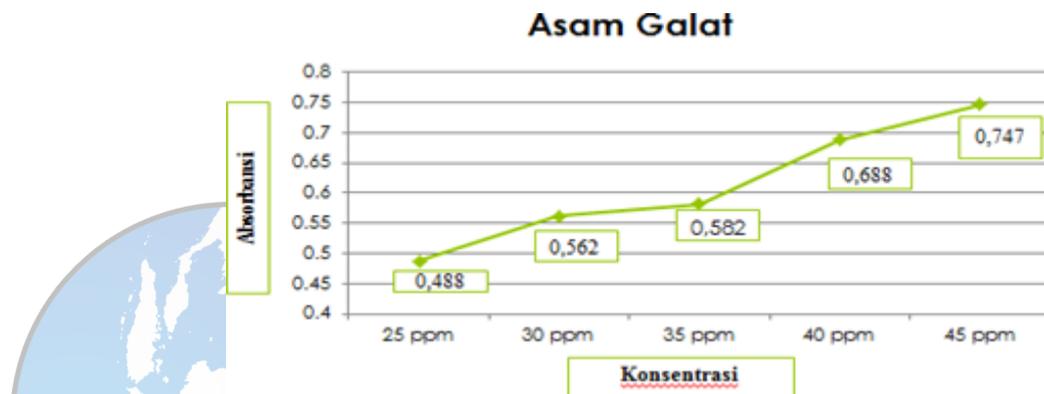
Kecombrang (*Etlintera elatior*) merupakan salah satu jenis tanaman rempah-rempah asli Indonesia yang termasuk dalam familia *Zingiberaceae*. Kandungan kimia yang paling banyak ditemukan pada tanaman adalah fenolik, dimana senyawa golongan fenolik diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Syarif, 2016).

Kandungan total fenolik ditentukan dengan spektrofotometri dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini berdasarkan kemampuan reagen

Folin-Ciocalteu mengoksidasi gugus hidroksil (OH-) dari senyawa golongan fenol. Reaksi yang terjadi antara Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol dan membentuk kompleks Molybdenum yang berwarna biru (Herdiana *et al.*, 2012).

Larutan asam galat digunakan sebagai larutan standar karena merupakan salah satu fenol alami dan stabil, serta relatif murah dibanding lainnya. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Asam galat menjadi

pilihan sebagai standar ketersediaan substansi yang stabil dan murni (Viranda, 2009).



Gambar 1. Hubungan antara kandungan asam galat dan absorbansinya

Hasil menunjukkan hubungan antara kandungan asam galat dan absorbansinya dinyatakan sebagai persamaan $y = 0,0128x + 0,1626$ dengan nilai $r = 0,9848$. Nilai r yang mendekati 1 membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier.

Hasil analisis kadar total fenolik ekstrak etanol 96% daun kecombrang dapat ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi dengan cara mengukur absorbansi sampel, kemudian untuk menghitung kadar total fenolik menggunakan persamaan regresi linier. Kadar total fenol dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Kadar total fenol pada ekstrak etanol 96% daun kecombrang 48,223 mgGAE/g.

Pengujian aktivitas antioksidan

pada ekstrak etanol 96% daun kecombrang menggunakan metode DPPH. Prinsip dari metode ini adalah Ketika seluruh DPPH telah berikatan dengan senyawa antioksidan dalam ekstrak yang dapat memberikan atom hidrogen, maka larutan akan kehilangan warna ungu dan berubah menjadi warna kuning terang (Nur, 2013). Dalam penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etlingera eltior*) dilakukan penentuan panjang gelombang, penentuan *operating time* dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH.

Hasil penelitian diperoleh panjang gelombang 516 nm dengan absorbansi 0,343. Ini sesuai dengan range absorbansi yaitu 0,2 sampai 0,8 (Nugraheni, 2007). Pada hasil penentuan panjang gelombang ini

sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hermadi dan Sudarsono (2014) yang diperoleh panjang gelombang yaitu 516 nm.

Operating time digunakan untuk mengetahui waktu pengukuran paling stabil sehingga kesalahan pengukuran dapat dikurangi. Selain itu, pengukuran pada *operating time* yang sesuai akan diperoleh keterulangan yang tinggi. Pada penentuan *operating time* dilakukan pengamatan 5 menit dalam interval waktu 60 menit, hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu pada menit ke 15, menit ke 20 dan menit ke 25 dan memperoleh waktu rata-rata yaitu selama 20 menit.

Pembanding yang digunakan dalam penelitian ini berupa asam galat

(senyawa fenolik) yang telah banyak digunakan dalam penelitian-penelitian sebelumnya.

Pembanding menggunakan beberapa konsentrasi yaitu 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan, 12 ppm. Ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan, 100 ppm. Pada tiap-tiap konsentrasi ditambahkan dengan 3,8 mL larutan DPPH 0,05 mM campuran diinkubasi selama *operating time* yaitu 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan 3 kali replikasi baik pada sampel ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) dan pembanding asam galat.



Gambar 2. Perbandingan Nilai IC₅₀ Asam Galat dengan Ekstrak Etanol 96% Daun Kecombrang

Setelah diperoleh persamaan regresi linear dihitung nilai IC₅₀ dengan perhitungan secara regresi linear

dimana x adalah konsentrasi dan y adalah % inhibisi. Nilai IC₅₀ adalah kemampuan suatu bahan dalam

menghambat 50% dari 100% radikal DPPH (Suratmo, 2009). Nilai IC_{50} yang didapat menunjukkan aktivitas masing-masing ekstrak sebagai antioksidan.

Berdasarkan diagram di atas dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan yang diperoleh pada ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) yaitu sebesar 4,7645 ppm, sedangkan pada pembandingan asam galat diperoleh nilai IC_{50} sebesar 3,3698 ppm. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kecombrang (*Etlingera elatior*) dan asam galat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Dapat dilihat pada gambar 2.

Berdasarkan hasil perolehan nilai IC_{50} tersebut, dianalisis menggunakan SPSS versi 21.0 yaitu uji dengan *Independent T-Test*. Hal ini bertujuan untuk memperkuat penelitian sehingga menjadi lebih akurat. Sebelum dilakukan uji *Independent T-Test*, dilakukan uji normalitas, Hasil dari uji normalitas berdasarkan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$). Untuk melihat perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak daun kecombrang dengan asam galat maka dilakukan uji *Independent T-Test* dan diperoleh nilai signifikansi $0,152 > 0,05$ sehingga

dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara asam galat dengan ekstrak etanol 96% daun kecombrang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa

1. Ekstrak Etanol 96% Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) memiliki kandungan total fenolik sebesar 48,223 mg GAE/gram.
2. Ekstrak Etanol 96% Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat yaitu sebesar 4,7645 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Aktsar Roskiana. Juwita. Siti Afrianty Daniya Ratulangi. Amdul Malik. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior*) (R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol.2(1).
- Alfian, Riza. 2012. Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara

- Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol.2(1).
- Amanah, Isnaini Dan Nurfina Aznam. Penentuan Kadar Total Fenol Dan Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens* Merr. & L.M. Perry) Dan Ekstrak Kencur (*Kaempferia Galanga* Linn.) Dengan Metode *B-Carotene Bleaching*. Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, 1, 3, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hermadi, Anjar Saputro. Sudarsono. 2014. Potensi Penangkapan Radikal 2,2- Diphenyl-1-picryl Hidrazil (DPPH) oleh Buah Pisang Susu (Mas prdisic L "Susu") dan Pisang Ambon (Mus prdisic L "Ambon"). *Traditional Medicine Journal*, 19(1)
- Holistic Health Solution (2011). *Khasiat Fantastis Kulit Buah Manggis*. Jakarta: Penerbit PT. Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Khaerunisa, 2015. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etil Asetat, Etanolik, dan Air Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (park.) Fosberg) Serta Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Totalnya. Skripsi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Kiessoun K., Souza A., Meda N.T.R., Coulibaly A.Y., Kiendrebeogo M., Lamien Meda A., Lamidi M., Millogo - Rasolodimby J., Nacoulma O.G., 2010, Polyphenol Contents, Antioxidant and Anti - Inflammatory Activities of Six Malvaceae Species Traditionally used to Treat Hepatitis B in Burkina Faso, *European Journal of Scientific Research*, Vol.44(4).
- Kumalaningsih, Sri., 2006, *Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara penyediaan an pengolahan*, Trubus Agrisarana, Surabaya
- Marliana, Eva, 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. Jurusan kimia FMIPA Universitas Mulawarman. Vol.1(1).
- Marliana, Soerya Dewi. Venty Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. Universitas

- Sebelas Maret (UNS): Surakarta.
- Murtijaya, J., dan Lim Y.Y., 2007. Antioxidant Properties of *Phyllanthus amarus* Extract as Affected by Different Drying Methods, *LWT-Food Sci. Technol*, Vol.40.
- Nugraheni, M. 2007. Pengaruh Ekstrak Kecambah Kacang Hijau Sebagai Sumber Nitrogen pada pemanfaatan Limbah Tahu terhadap Karakteristik Nata De Soya Mentah Dan Limbahnya. *Jurnal Teknologi Dan Kejuruan* , 30 (2)
- Nur Md A, Bristi NJ, and Rafiquzzaman Md. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* 21
- Pokorny, J., N. Yanishleva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food*. Woodhead Publishing Ltd. England.
- Soeharsono, M. 1989. Mikro Analisis Kualitatif Campuran Ion-ion Logam dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Suratmo, 2009. Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Antioksidan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Syarif, Rezki Amriati. Firdha Sari. Aktsar Rosiana Ahmad. 2016. Rimpang Kecombrang (*Etilingera elatior* (jack)). Universitas Muslim Indonesia: Makasar.
- Syarif, Rezki Amriati. Firdha Sari. Aktsar Rosiana Ahmad. 2016. Rimpang Kecombrang (*Etilingera elatior* (jack)). Universitas Muslim Indonesia: Makasar.
- Tyler, V.E., 1888, *Pharmacognosy*, 9th ed., Lea & Febriger, Philadelphia
- Ukheyanna, Elsha. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Pereromia pellucida* L. Kunth). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Viranda P.M. 2009. Pengujian kandungan senyawa yang terdapat dalam tomat. Jurnal P. Universitas Indonesia