

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. DESAIN PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental untuk mengetahui pengaruh pelarut purifikasi terhadap  $IC_{50}$  dengan metode FRAP dan DPPH.

#### **B. LOKASI PENELITIAN**

1. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik MIPA di Universitas Diponegoro Semarang
2. Pembuatan ekstrak jahe merah dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
3. Purifikasi ekstrak jahe merah dilakukan di Laboratorium Kimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
4. Uji aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah terpurifikasi dilakukan di Laboratorium Instrumen Universitas Ngudi Waluyo.

#### **C. SUBJEK PENELITIAN**

Subjek penelitian adalah rimpang jahe merah yang diperoleh dari petani di Dusun Clowok, Desa Polobogo, Kec. Getasan, Kab. Semarang

#### **D. DEFINISI OPERASIONAL**

**Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel**

Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Variabel bebas adalah variabel yang dapat mempengaruhi				
Ekstrak jahe merah	Diperoleh dari hasil maserasi menggunakan etanol 96% dilanjutkan penguapan dengan rotary evaporator dan waterbath hingga menjadi ekstrak kental	-	-	-
Ekstrak terpurifikasi n-heksan	Diperoleh dari hasil purifikasi metode cair-cair pada ekstrak jahe merah dengan pelarut n-heksan	-	-	-
Ekstrak terpurifikasi n-heksan: etil asetat	Diperoleh dari hasil purifikasi metode cair-cair pada ekstrak jahe merah dengan pelarut n-heksan dan dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Perbandingan 1:1	-	-	-
Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas				
IC <sub>50</sub>	Konsentrasi pada ekstrak yang dapat menghambat aktivitas oksidasi radikal sebanyak 50%	Kalkulator	Angka	Nominal
FRAP	Metode untuk menguji aktivitas antioksidan suatu	Kalkulator	Persen (%)	Rasio

---

	senyawa dalam mereduksi $\text{Fe}^{3+}$ menjadi $\text{Fe}^{2+}$			
DPPH	Metode untuk menguji aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam mereduksi radikal bebas 2,2-diphenylpicrylhydrazyl	Kalkulator	Persen (%)	Rasio
Variabel terkendali adalah variabel yang dibuat konstan atau sama				
Suhu proses waterbath	Merupakan besaran untuk menyatakan ukuran derajat panas atau dingin	Termometer	$^{\circ}\text{C}$	Interval

---

## E. PENGUMPULAN DATA

### 1. Alat

Alat yang dipakai dalam pembuatan ekstrak jahe merah : neraca analitik, rotary evaporator, waterbath, corong, pipet tetes, beaker glass, batang pengaduk, blender, mesh ukuran 40, labu takar, spatula, botol kaca.

Alat yang digunakan dalam purifikasi ekstrak jahe merah : corong pisah, rotary evaporator, water bath, corong, pipet tetes, pipet ukur, beaker glass, spatula, timbangan.

Alat yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan : kuvet, mikropipet, aluminium foil, botol kaca, gelas ukur, tabung reaksi, rak

tabung reaksi, pH meter, sentrifuge, tabung sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis, labu takar.

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jahe merah sebanyak 5 kg, etanol 96 %, Asam askorbat (Vitamin C), DPPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ), Asam trikloroasetat (TCA), Besi klorida ( $FeCl_3$ ), Buffer fosfat (0,2 M pH 6,6), Kalium ferrisianida 1 % ( $K_3Fe(CN)_6$ ), Aquades, n-heksan, etil asetat, etanol p.a.

## F. PROSEDUR PENELITIAN

### 1. Persiapan Sampel

Jahe merah yang dikumpulkan disortasi basah untuk memisahkan jahe dalam kondisi baik dengan jahe dalam kondisi buruk yang ditandai dengan adanya jamur atau pembusukan pada sebagian jahe. Kemudian jahe merah dibersihkan dari sisa-sisa tanah dengan dialiri menggunakan air mengalir hingga bersih, selanjutnya ditiriskan untuk mengurangi air pada jahe yang telah dibilas. Potong dengan ukuran 2-3 mm, kemudian pengeringan dipilih dengan diangin-anginkan dalam kurun waktu 10 hari. Pemilihan metode pengeringan berdasarkan penelitian (Almasyhuri *et al.*, 2012) yang menyatakan pengeringan dianginkan memperoleh kandungan fenol yang lebih besar, sedangkan pengeringan dengan oven dihasilkan fenol yang lebih kecil. Hal ini dipengaruhi oleh suhu pengeringan.

Proses selanjutnya yaitu sortasi kering, dengan memisahkan jahe merah yang sudah kering dari bahan asing atau kotoran yang tertinggal.

Selanjutnya simplisia jahe merah digiling menggunakan blender, dan diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh yang akan menghasilkan bubuk jahe merah fraksi kasar (Widyanti *et al.*, 2021). Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi jahe merah.

## 2. Pembuatan Ekstrak Jahe Merah

Ekstraksi dilakukan dengan cara, sebanyak 500 gram serbuk simplisia jahe merah dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 5 liter dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10. Pemilihan metode berdasarkan pada gingerol yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Gingerol mengalami perubahan bentuk pada suhu tinggi menjadi shogaol (Rahmadani, 2008) maka dipilih ekstraksi dingin dengan maserasi. Untuk pemilihan pelarut 96% berdasarkan prinsip kelarutan *like dissolve like*, yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang memiliki sifat yang sama, dalam hal ini flavonoid, gingerol dan shogaol bersifat polar maka dengan etanol 96% diharapkan akan lebih banyak menarik senyawa tersebut. Flavonoid merupakan senyawa polar, maka flavonoid akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain-lain (Arifin & Ibrahim, 2018).

Serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah kaca ditambahkan dengan 2500 mL pelarut etanol 96% didiamkan 24 jam. Pengadukan dilakukan setiap 1 jam sekali agar serbuk jahe merah melarut dengan sempurna. Sari yang dihasilkan dipindahkan, ampas yang tersisa ditempatkan dalam wadah kaca dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 2500 mL untuk

dimaserasi ulang dalam waktu 24. Hasil maserasi ditempatkan dalam satu wadah, sehingga menghasilkan maserat sebanyak 5000 mL. Wadah kaca dibiarkan 1 hari, kemudian dienaptuangkan (Rahmadani, 2008). Proses dilanjutkan dengan bantuan rotary evaporator pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm untuk memisahkan filtrat dengan pelarut. Penggunaan suhu tersebut untuk menjaga kandungan senyawa yang tidak tahan panas, yaitu gingerol dapat terdekomposisi menjadi shogaol. Kemudian dilanjutkan dengan waterbath sampai menjadi ekstrak kental.

### 3. Purifikasi Ekstrak Jahe Merah

Proses purifikasi merupakan rangkaian prosedur untuk menghasilkan komponen bahan alam dengan kemurnian yang tinggi dan terbebas dari komponen bahan yang tidak diperlukan (Malik *et al.*, 2013). Ekstrak kental jahe merah selanjutnya dipurifikasi menggunakan metode cair-cair dengan corong pisah dengan perbandingan 1:1. Pelarut yang digunakan untuk purifikasi ada dua, yaitu n-heksan dan n-heksan:etil asetat.

#### a. Purifikasi n-heksan

Purifikasi pertama dengan pelarut n-heksan untuk menarik komponen non polar seperti lemak, protein, resin, lilin dan senyawa nonpolar lainnya (Wulaisfan *et al.*, 2019). Prosedur dilakukan dengan menimbang ekstrak kental jahe merah sebanyak 10 gram, kemudian dilarutkan dengan air panas suhu 80°C, prosedur dilakukan secara bertahap dengan 2 gram ekstrak kental dilarutkan dengan 50 mL air panas dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan pelarut n-

heksan sebanyak 50 mL ke dalam corong pisah untuk satu kali proses pemisahan, gojok corong secara terus-menerus dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan, ambil bagian yang tidak larut n-heksan.

Purifikasi dilakukan hingga fase n-heksan yang dihasilkan berwarna jernih yang menunjukkan komponen non-polar pada ekstrak sudah terlarut semua pada pelarut n-heksan sehingga ekstrak terbebas dari komponen non-polar. Selanjutnya bagian yang telah terbebas dari komponen non polar disebut dengan ekstrak terpurifikasi n-heksan yang akan diuapkan kembali dengan waterbath suhu 60°C hingga terbentuk ekstrak kental.

b. Purifikasi n-heksan:etil asetat

Purifikasi kedua dengan pelarut n-heksan:etil asetat dilakukan secara bertahap, pertama menimbang sebanyak 10 gram ekstrak kental jahe merah dan larutkan dalam air panas suhu 80°C, prosedur dilakukan secara bertahap dengan 2 gram ekstrak kental dilarutkan dengan 50 mL air panas kemudian dimasukkan kedalam corong pisah. Tambahkan sebanyak 20 ml n-heksan untuk satu kali proses pemisahan, gojog dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan, bagian yang tidak larut dalam n-heksan ditampung dan dipurifikasi kembali. Purifikasi dilakukan hingga fase n-heksan yang dihasilkan berwarna jernih yang menunjukkan komponen non-polar pada ekstrak sudah terlarut semua pada pelarut n-heksan sehingga ekstrak terbebas dari komponen non-polar.

Prosedur dilanjutkan dengan 20 mL etil asetat dimasukkan kedalam corong pisah untuk satu kali proses pemisahan, lakukan prosedur yang sama seperti sebelumnya. Purifikasi dengan etil asetat untuk menarik komponen semipolar pada ekstrak agar hasil akhir purifikasi terbebas dari komponen pengotor. Purifikasi dilakukan hingga fase etil asetat yang dihasilkan berwarna jernih yang menunjukkan komponen semipolar pada ekstrak sudah terlarut semua pada pelarut etil asetat sehingga ekstrak terbebas dari komponen semipolar. Selanjutnya bagian yang tidak larut dalam etil asetat disebut dengan ekstrak terpurifikasi akan dilanjutkan dengan rotary evaporator dengan suhu 60°C dan waterbath sampai terbentuk ekstrak kental.

#### 4. Skrining Fitokimia

##### a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak jahe merah ditambahkan reagen Mayer, jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Palupi *et al.*, 2021). Jika direaksikan dengan reagen Baughardat menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat (Sulistyarini *et al.*, 2019).

##### b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak jahe merah ditambahkan serbuk Magnesium dan 5 tetes HCl pekat, hasil positif ditandai dengan terbentuk warna merah/kuning (Palupi *et al.*, 2021).



c. Identifikasi Tanin

Ekstrak jahe merah ditambahkan aquades dan  $\text{FeCl}_3$  1% (*Ibrahim et al.*, 2021). Terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Marjoni, 2016)..

d. Identifikasi Saponin

Ekstrak jahe merah ditambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan HCl 2 N, buih tidak hilang (Depkes RI, 1995).

5. Pengujian Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah Konsentrasi 1000 ppm

Ekstrak terpurifikasi jahe merah ditimbang sebanyak 50 mg, masukkan dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a dan dihomogenkan.

b. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Jahe Merah Konsentrasi 1000 ppm

Ekstrak jahe merah sebanyak 25 mg, dimasukkan dalam labu takar 25 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a dan dihomogenkan.

c. Metode FRAP

1) Pembuatan Air Bebas  $\text{CO}_2$

Menggunakan aquades 350 ml yang dididihkan selama 5 menit (terhitung dimulai saat air mendidih), kemudian ditutup dengan aluminium foil, dicegah hubungan dengan udara semaksimal

mungkin. Didinginkan tanpa membuka penutup dan segera digunakan (Farmakope Indonesia, edisi IV; Rahmawanty *et al*, 2015).

2) Larutan Dapar Fosfat 0,2 N pH 6,6

Sebanyak 2 gram NaOH dan dilarutkan dengan aquades bebas CO<sub>2</sub> hingga tepat 100 mL dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 gram KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> yang dilarutkan dengan aquades bebas CO<sub>2</sub> 100 mL dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4 mL NaOH dimasukkan dalam labu takar dan dicampurkan 50 mL KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dengan ditambah NaOH dan HCl pekat dan dicukupkan dengan aquades bebas CO<sub>2</sub> hingga 100 mL.

3) Larutan FeCl<sub>3</sub> 0,1 %

Sebanyak 0,1 gram FeCl<sub>3</sub> ditambahkan dalam aquades dalam labu takar 100 mL.

4) Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10 %

Sebanyak 10 gram TCA ditambahkan dalam aquades dalam labu takar 100 mL.

5) Larutan Asam Oksalat 1%

Sebanyak 1 gram asam oksalat ditambahkan dalam aquades bebas CO<sub>2</sub> dalam labu takar 100 mL

6) Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 1000 ppm

Sebanyak 25 mg vitamin C ditambahkan dengan etanol p.a pada labu ukur 25 ml.

7) Pembuatan Baku Perbandingan

Larutan stok vitamin C 1000 ppm diambil masing-masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mL ditempatkan dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan etanol p.a hingga 25 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ppm.

8) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar vitamin C pada konsentrasi 70 ppm. Sebanyak 1 mL larutan tersebut dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferrisianida 1 %, campuran diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Tambahkan 1 ml TCA 10% dan sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 ml, tambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl<sub>3</sub> 0,1%, cukupkan dengan asam oksalat hingga tanda batas, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 500-800 hingga diperoleh panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum 700,6 nm dengan absorbansi 0,686. Hasil ini tidak jauh berlainan dari penelitian (Septiana, 2021) dengan panjang gelombang maksimum 700 nm dan absorbansi 0,216.

#### 9) Penentuan Operating Time

Setelah pengujian panjang gelombang maksimal diteruskan dengan pengujian operating time yang dibaca dari menit ke-1 sampai menit ke-30. Penetapan operating time digunakan untuk memperoleh waktu optimum berlangsungnya reaksi antara reagen FRAP dengan sampel uji dan pembanding. Hasil stabil dipilih pada menit ke-18 dengan absorbansi 0,363. Stabil yang dimaksudkan disini yaitu data absorbansi yang dihasilkan sama untuk setiap menitnya, maka dipilih menit pada saat stabil pertamakali.

#### 10) Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Baku Pembanding

Larutan baku pembanding dalam hal ini vitamin C yang ditelaah dibuat dalam berbagai seri konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL ( $K_3Fe(CN)_6$  1% setelah itu diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Tambahkan 1 ml TCA 10%, di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, pindahkan ke labu takar 10 mL dan ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL  $FeCl_3$  0,1% , cukupkan dengan asam oksalat 1% hingga tanda batas. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 700,6 nm pada spektrofotometer UV-Vis.

#### 11) Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah dan Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah

Larutan induk konsentrasi 1000 ppm dipipet masing-masing 0,25 mL ; 0,5 mL ; 0,75 mL ; 1 mL dan 1,25 mL dari larutan stok kedalam labu takar 25 mL hingga konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm selanjutnya dipipet 1 mL dan ditambahkan masing-masing 1 ml dapar fosfat 0,2 N (pH 6,6) dan 1 ml  $K_3Fe(CN)_6$  1 %. Diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan TCA 10%, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, dan tambahkan 0,5 ml  $FeCl_3$  0,1 % kemudian add aquadest hingga tanda batas. Lalu diukur serapan dengan panjang gelombang maksimum 700,6 nm.

d. Metode DPPH

1) Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Serbuk DPPH 3,9 mg ditambahkan etanol p.a ke dalam labu takar 25 mL sehingga dihasilkan larutan DPPH konsentrasi 0,4 mM. Labu takar dibungkus dengan aluminium foil agar terhindar dari paparan cahaya (Danu, 2013).

2) Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 1000 ppm

Sebanyak 10 mg vitamin C ditambahkan dalam etanol p.a sebanyak 10 mL (Ikhrar *et al.*, 2019)

3) Pembuatan Baku Pembanding

Larutan stok vitamin C 1000 ppm dipipet sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mL dimasukkan dalam labu takar 25 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga sehingga dihasilkan konsentrasi larutan standar 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ppm.

#### 4) Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan DPPH sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 5 mL yang sudah dilapisi dengan alumunium foil (Nuraeni & Sembiring, 2018), ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 30 menit . Diamkan selama OT. Lalu dilakukan scanning panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400-600 nm (Danu, 2013). Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk memperoleh daerah serapan maksimum DPPH atau absorpsi maksimum untuk menghasilkan hasil lineritas dari pengukuran kurva baku (Danu, 2013). Panjang gelombang didapatkan hasil 516,2 nm dengan absorbansi 0,670. Hasil ini tidak jauh berlainan dari penelitian (Utami, 2020) dengan panjang gelombang 516 nm dan absorbansi 0,978.

#### 5) Penentuan Operating Time

Setelah pengujian panjang gelombang maksimal diteruskan dengan pengujian operating time. Hasil pembacaan operating time didapatkan stabil pada menit ke-4 dengan absorbansi 140,

yang menunjukkan waktu saat reagen DPPH bereaksi sempurna dengan sampel. Stabil yang dimaksudkan disini yaitu data absorbansi yang dihasilkan sama untuk setiap menitnya, maka dipilih menit pada saat stabil pertamakali.

6) Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH (kontrol)

Larutan DPPH dimasukkan sebanyak 1 mL dalam labu ukur 5 mL yang sudah dilapisi dengan alumunium foil dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Kemudian dibaca absorbansinya pada saat OT dan panjang gelombang maksimum. Larutan ini digunakan sebagai kontrol untuk menguji larutan pembanding dan larutan uji (Danu, 2013).

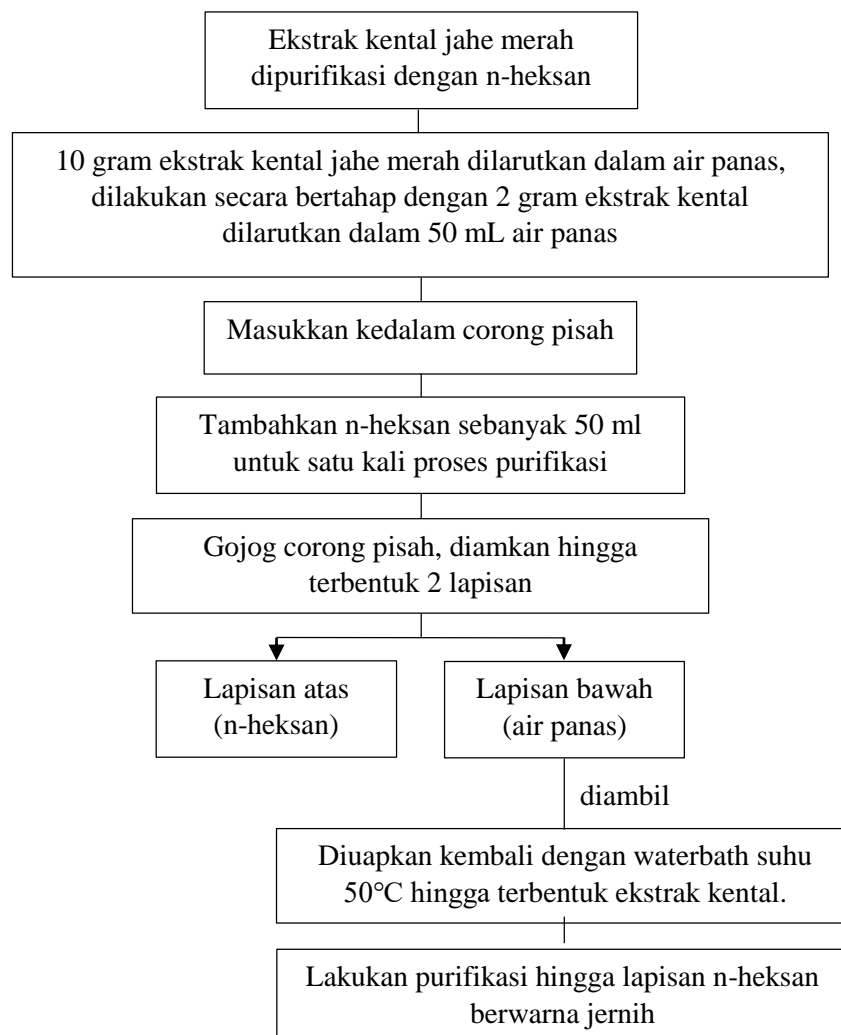
7) Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Baku Pembanding

Larutan DPPH sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL yang sudah dilapisi dengan alumunium foil kemudian ditambah dengan 1 mL larutan pembanding vitamin C pada berbagai seri konsentrasi yang telah dibuat. Selanjutnya, ditambah dengan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan didiamkan selama OT. Larutan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum hasil optimasi (Danu, 2013).

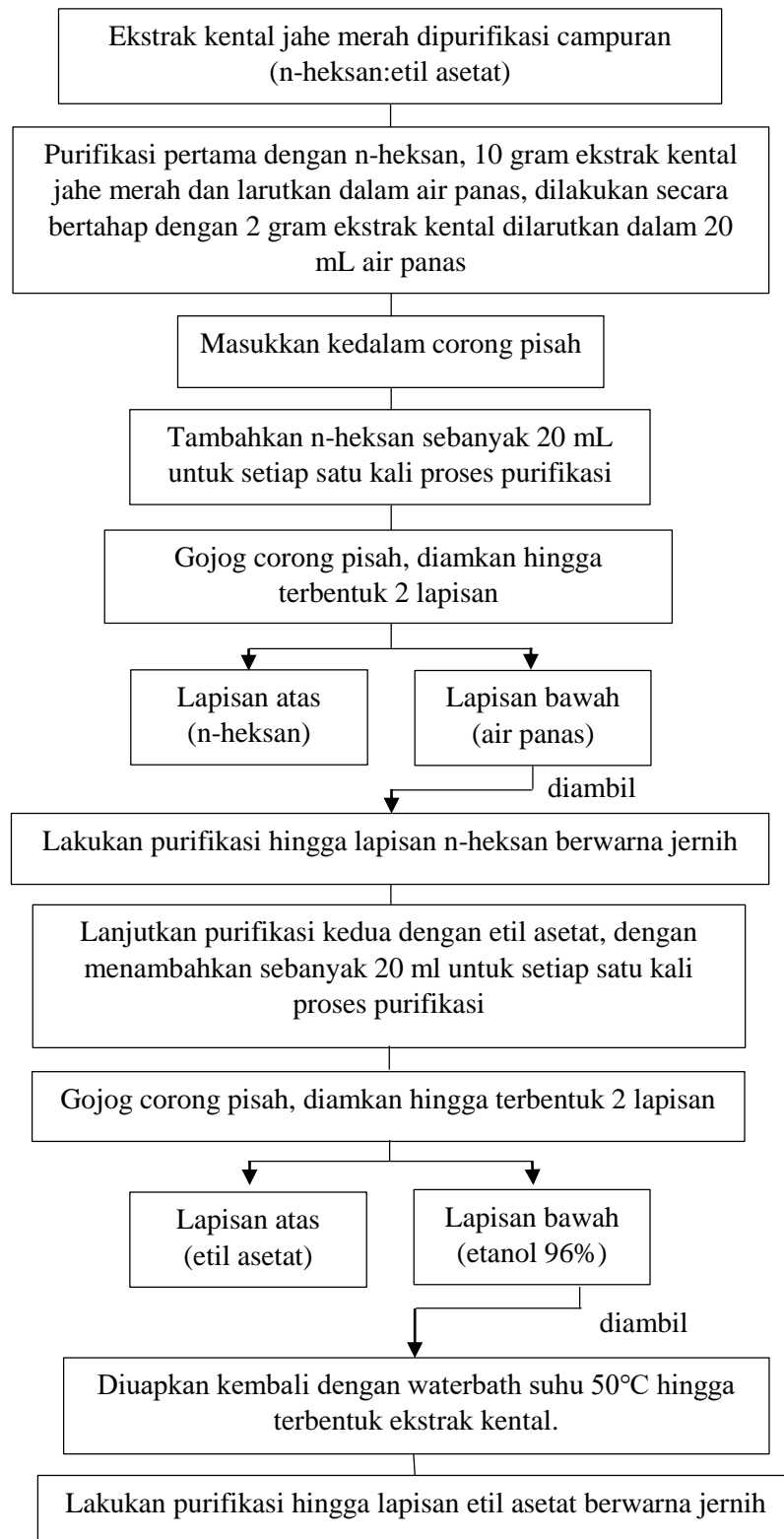
8) Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah dan Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah

Larutan induk konsentrasi 1000 ppm dipipet masing-masing 50  $\mu\text{l}$  , 100  $\mu\text{l}$  , 150  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , dan 250  $\mu\text{l}$  dari larutan stok kedalam labu ukur 5 ml yang sudah dilapisi dengan aluminium foil hingga konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm kemudian ditambah dengan 1 ml larutan DPPH. Selanjutnya, larutan tersebut ditambah dengan etanol hingga tanda batas. Kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dan didiamkan selama OT. Larutan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum hasil optimasi.

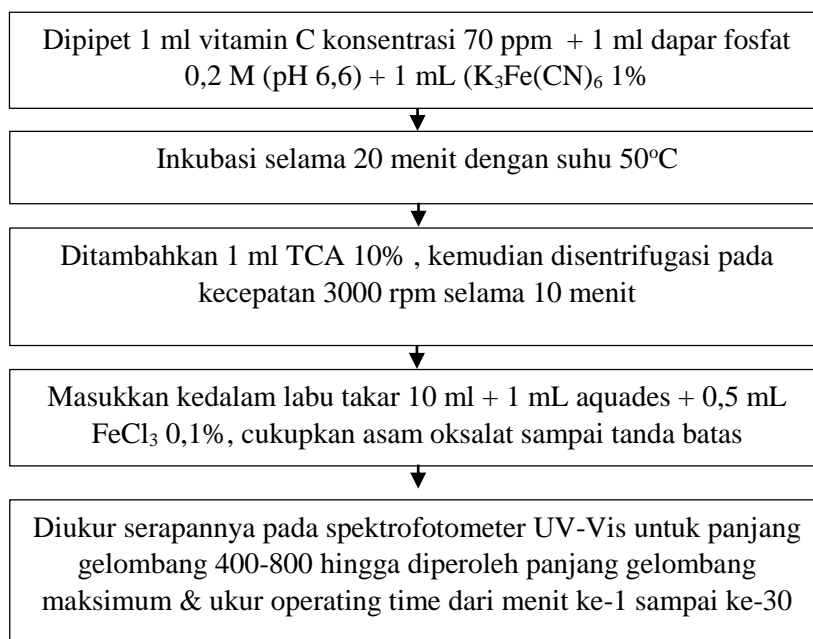




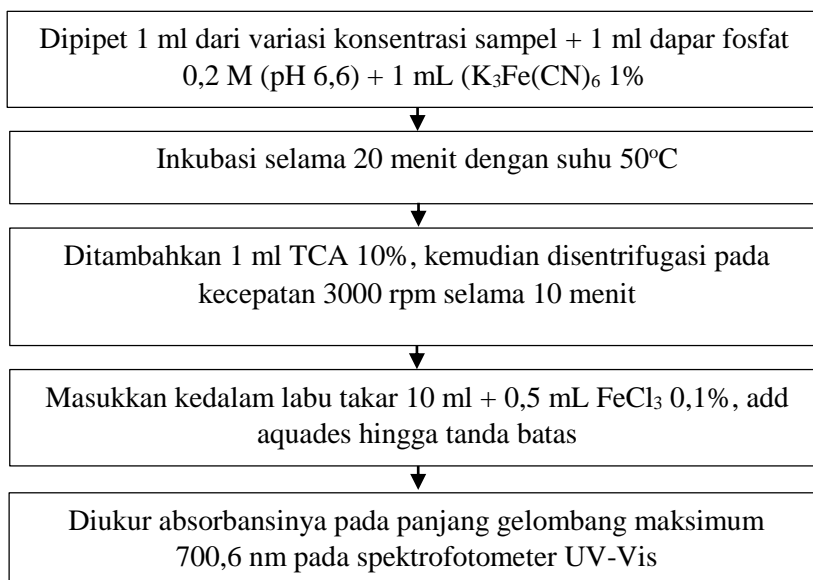
**Bagan 3.1 Skema Purifikasi Pelarut n-heksan**



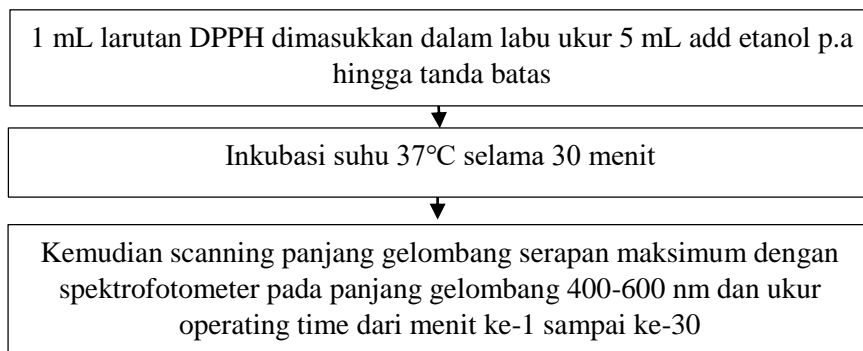
**Bagan 3.2 Skema Purifikasi Pelarut Campuran**



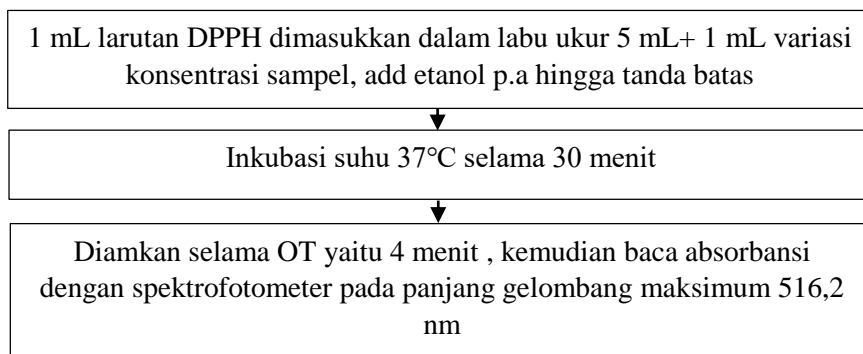
**Bagan 3.3 Skema Penentuan Panjang Gelombang dan Operating Time Metode FRAP**



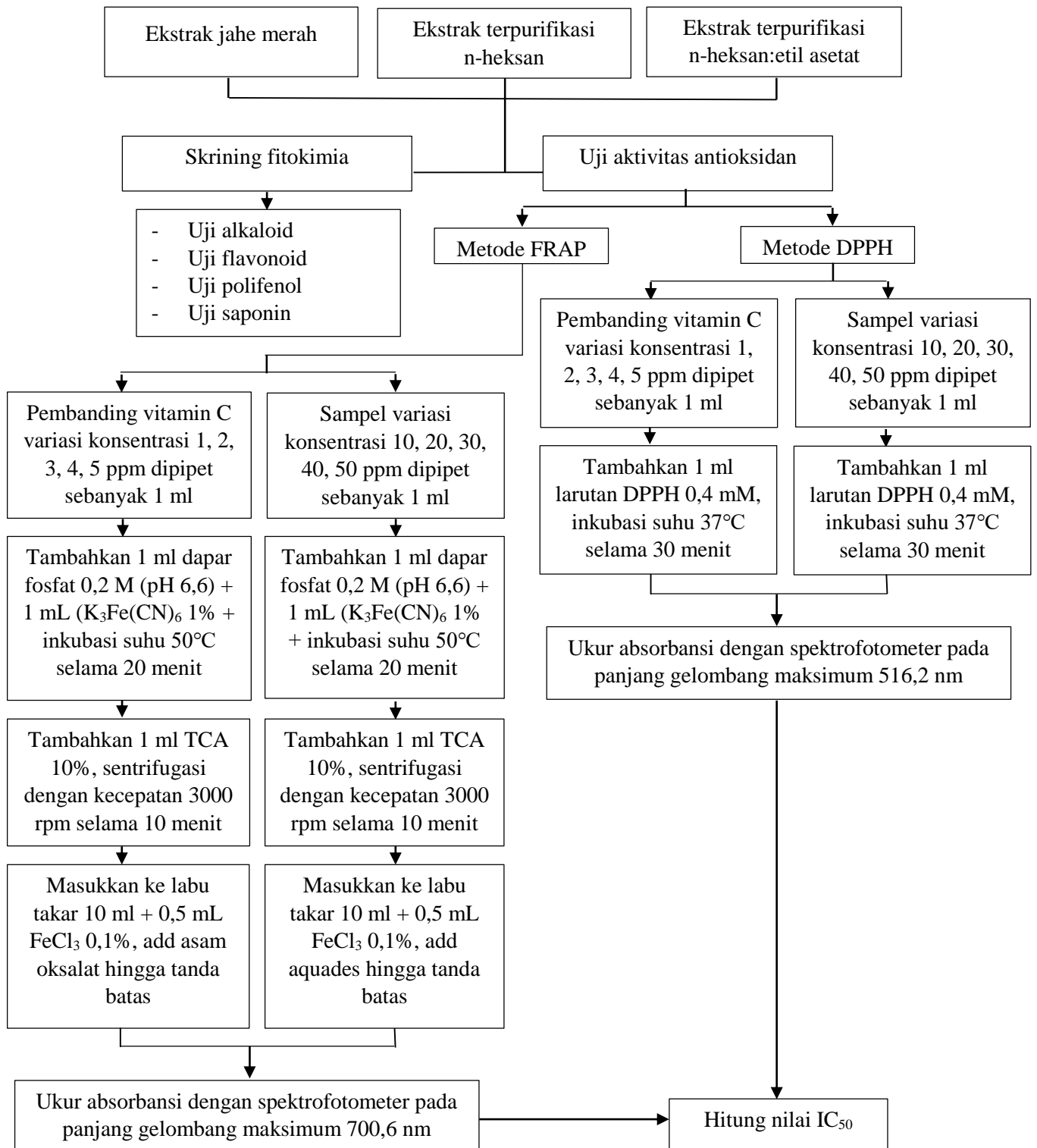
**Bagan 3.4 Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah dan Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah Metode FRAP**



**Bagan 3.5 Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum & Operating Time Metode DPPH**



**Bagan 3.6 Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah & Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah Metode DPPH**



**Bagan 3.7 Skema Penelitian**

## G. ANALISIS DATA

Analisis data dilakukan setelah mendapatkan data absorbansi pada pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode FRAP dan DPPH. Penentuan aktivitas antioksidan metode FRAP dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Reduksi } \text{Fe}^{3+} = 1 - \left( \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Rumus penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH yang diperoleh :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol: adalah absorbansi blangko (tidak mengandung senyawa uji/ekstrak)

Absorbansi sampel : adalah absorbansi sampel uji/senyawa pembanding

Setelah didapatkan nilai %reduksi dan %inhibisi, dimasukkan ke persamaan linear  $y = bx + a$  untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  dimana  $x$  sebagai konsentrasi (ppm) dan  $y$  sebagai presentase aktivitas (%). Antioksidan tergolong sangat kuat jika  $IC_{50} < 50$ ; kuat untuk  $IC_{50} 50-100$ , sedang untuk  $IC_{50} 100-150$ , serta lemah jika  $IC_{50} 151-200$  (Mardawati *et al.*, 2008 ).

Analisis data statistik menggunakan IBM SPSS Statistics 23 dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) One Way Anova digunakan untuk mengetahui pengaruh faktor perlakuan dari metode yang digunakan yaitu Metode FRAP dan DPPH.