

BAB V

PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini digunakan bahan berupa daging ubi jalar ungu. Ubi jalar ungu yang digunakan untuk penelitian di peroleh dari pasar Bandarjo Ungaran. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dengan jelas tanaman yang digunakan pada penelitian. Pada hasil determinasi menyatakan bahan yang digunakan benar merupakan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* Lamk) (Hasil Determinasi Lampiran 1.)

B. Pembuatan Ekstrak Daging Ubi Jalar Ungu

Pembuatan ekstrak daging ubi jalar ungu dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Langkah awal adalah melakukan sortasi basah sampel kemudian sampel di potong setebal 0,5 cm untuk mempercepat proses pengeringan. Sampel ubi jalar ungu digunakan daging ubi jalar ungu sebanyak 1 kg. Proses pengeringan memakan waktu selama 2 minggu dengan cara diangin-anginkan dan ditutup kain hitam. Penggunaan kain hitam dilakukan untuk mencegah metabolit sekunder yang tidak tahan sinar matahari menjadi rusak. Simplisia yang telah kering kemudian dilakukan sortasi kering dan diubah bentuk menjadi serbuk untuk meningkatkan penetrasi pelarut kedalam sel sampel. Didapatkan serbuk simplisia sebanyak 374,38 g dengan susut pengeringan sebesar 62,56% artinya air yang menguap pada proses

pengeringan sebesar 62,56%. Metode maserasi digunakan karena bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu flavonoid dan antosianin tidak tahan pada suhu tinggi. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Ekstraksi digunakan pelarut berupa etanol 96% karena sifatnya yang polar dan dapat mengekstraksi senyawa polar maupun non-polar. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifat etanol yang mampu menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, absorbansinya baik, tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, sifatnya yang mampu menghambat kerja enzim dan sangat efektif dalam menghasilkan ekstrak yang optimal. Proses ekstraksi digunakan metode maserasi dan remaserasi dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 100g serbuk simplisia di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml selama 5 hari dengan pengadukan 1 kali sehari selama 5 menit. Kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan simplisia sisa pada proses maserasi si tambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 250 ml dan di rendam selama 2 hari dan diaduk 1 kali sehari selama 5 menit. Remaserasi dilakukan untuk memaksimalkan proses ekstraksi yang telah dilakukan pada tahap maserasi. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan menggunakan chamber gelap bertujuan untuk mengurangi resiko terjadinya reaksi antara bahan di dalam chamber dengan sinar matahari. Hasil ekstraksi kemudian di lakukan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dikarenakan antosianin tidak tahan dengan suhu diatas 50°C. Selanjutnya ekstrak dikentalkan dengan menggunakan *water bath* dengan suhu 50°C.

Didapatkan hasil ekstrak kental sebanyak 17,11 g dengan rendemen sebesar 17,11%. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Oleh karena itu rendemen ekstrak kasar yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil rendemen >10%.

C. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi

Pembuatan ekstrak terpurifikasi dilakukan untuk menghilangkan senyawa non-polar pada ekstrak yang dapat mengganggu analisis antioksidan. Metode purifikasi dengan menggunakan corong pisah dipilih karena sederhana yaitu terdapat dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan untuk menarik senyawa nonpolar seperti lemak dan minyak dipilih menggunakan n-heksan karena sifat n-heksan sendiri merupakan pelarut non-polar.

Ekstrak kasar sebanyak 10 g dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 50 ml kemudian di masukan ke dalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan n-heksan sebanyak 100 ml kedalam corong pisah untuk menarik senyawa non-polar seperti minyak dan lemak. Dilakukan penggojokan sampai mendapatkan fase n-heksan menjadi bening dan terbentuk pemisahan antara fase n-heksan dengan fase etanol (Lampiran 3.). Ambil fase bawah yang merupakan fase etanol karena berat jenis etanol lebih besar dibanding dengan berat jenis n-heksan. Etanol memiliki berat jenis sebesar 0,789 g/ml sedangkan n-heksan memiliki berat jenis sebesar 0,655 g/ml. Kemudian hasil

dari purifikasi dikentalkan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 50°C. Didapatkan hasil ekstrak terpurifikasi sebanyak 4,21 g dengan rendemen sebesar 42,1%. Maka rendemen ekstrak terpurifikasi yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil rendemen >10%.

D. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui apakah di dalam ekstrak masih terkandung etanol atau tidak yang padat mengganggu proses analisis dan merupakan salah satu kriteria standarisasi ekstrak. Ekstrak yang baik adalah ekstrak yang terbebas dari pelarut pembawanya. Pada penelitian ekstrak di tambahkan dengan 2 tetes asam sulfat pekat dan 2 tetes asam asetat kemudian di panaskan tidak menimbulkan bau ester sehingga dipastikan bahwa ekstrak telah terbebas dari etanol.

E. Uji Fitokimia Antosianin

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak terkandung metabolit antosianin atau tidak. Di timbang 0,5 g ekstrak di tambahkan dengan asam klorida 2M kemudian di panaskan selama 5 menit menimbulkan warna merah kecoklatan (Lampiran 5.), sehingga dipastikan ekstrak terkandung antosianin. Penambahan asam klorida 2N pada sampel bertujuan untuk reaksi oksidasi agar ikatan glikosida dengan flavonoid terputus kemudian akan menghasilkan warna coklat sedangkan warna merah terbentuk pada flavonoid disebabkan karena terbentuknya garan flavinium (Lampiran. 6) (Latifah, 2015).

F. Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan melihat panjang gelombang arutan DPPH 0,004%. DPPH di larutkan dengan menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol digunakan karena tidak mempengaruhi reaksi antara antara sampel dengan DPPH (Molyneux, 2004). Panjang gelombang di cari dalam rentang 450- 600nm. Campurkan 2 ml larutan DPPH dengan 2 ml etanol pa kemudian ukur panjang gelombangnya. Didapatkan panjang gelombang maksimum pada 516,2 (Lampiran8.) dengan nilai absorbansi sebesar 0,764. Pada penelitian sebelumnya di dapatkan panajang gelombang sebesar 517 nm sedangkan panjang gelombang pada penelitian sebesar 516,2. Hal ini dapat terjadi akibat kemurnian dari larutan balngko yang berbeda sehingga didapatkan panjang gelombang yang berbeda pula. Penentuan panjang gelombang digunakan untuk mengetahui pengukuran kepekaan maksimum DPPH.

G. Penentuan Operating Time

Operating time pada penelitian bertujuan untuk mengetahui waktu stabil larutan atau sampel yang diujikan karena dengan mengetahui waktu stabil sampel maka intensitas warna yang dihasilkan sapar maksimal sehingga pengukuran absorbansi yang didapatkan optimal. Aktifitas antioksidan di ukur dengan melihat perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna tersebut terjadi karena bereaksinya molekul Difenil Pikril Hidrazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa Difenil Pikril hidrazine (Molyneux, 2004). Operating time

pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan DPPH dalam bereaksi dengan sampel sampai di dapatkan senyawa produk yang stabil. Pada penelitian di dapatkan operating time untuk DPPH pada menit ke 19 (Lampiran 10.) dan untuk operating time vitamin E pada menit ke 8 (Lampiran 11.).

H. Penentuan Nilai IC_{50} Vitamin E

Pada penelitian ini di lakukan pengukuran serapan dengan cara mencampurkan larutan DPPH 0,004% sebanyak 2 ml dengan larutan vitamin E sebanyak 2 ml kemulidan di inkubasi pada tempat gelap selama 8 menit sesuai dengan OT. % inhibisi merupakan banyaknya DPPH yang dapat di redam setelah di tambahkan dengan antioksidan. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH (Blouis, 1958). Berdasarkan nilai IC_{50} vitamin E di dapatkan rata-rata sebesar 2,7 lebih kecil dari 50 yang artinya vitamin E memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat. Mekanisme vitamin E sebagai antioksidan adalah dengan menyumbangkan hidrogen yang mampu merubah radikal bebas peroksil, menjadi radikal tokoferol yang tidak reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak (Fitriyah, 2013).

I. Penentuan Nilai IC_{50} Ekstrak Ubi Jalar Ungu Terpurifikasi

Pada penelitian ini di lakukan pengukuran serapan dengan cara mencampurkan larutan DPPH 0,004% sebanyak 2 ml dengan larutan ekstrak purifikasi sebanyak 2 ml kemulidan di inkubasi pada tempat gelap selama 8 menit sesuai dengan OT. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang

mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH (Blouis, 1958). Berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak purifikasi di dapatkan rata-rata sebesar 13,7 lebih kecil dari 50 yang artinya ekstrak purifikasi ubi jalar ungu memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat. Proses purifikasi terbukti sangat mempengaruhi aktifitas antioksidan ubi jalar ungu. Ubi jalar ungu mempunyai aktifitas antioksidan kuat saat dalam bentuk ekstrak kasar dengan IC_{50} sebesar 59,25 ppm (Husna *et al*,2013) dan setelah dilakukan purifikasi memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} 13,7 ppm. Adanya susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada antosianin mampu menghancurkan dan menangkal radikal bebas. Proses penghambatan ini terjadi melalui mekanisme pemutusan rantai propagasi dari radikal bebas dimana semua gugus hidroksil pada cincin B dapat menyumbangkan atau berperan sebagai donor elektron sehingga terjadi pembersihan atau pencegahan terhadap radikal bebas (Priska, 2018).

J. Perbandingan Ratio IC_{50} Vitamin E dengan IC_{50} ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi

Didapatkan nilai rata-rata IC_{50} vitamin E sebesar 2,7 dan nilai rata-rata IC_{50} ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi sebesar 13,7. Maka dinyatakan ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi memiliki aktifitas antioksidan 5 kali lebih lemah di bandingkan dengan Vitamin E dan sama sama memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat.

K. Analisis Data

Nilai IC_{50} dari Vitamin E dan Ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi kemudian di analisis dengan menggunakan SPSS 16 menggunakan uji T-Test,

Independent sampels test. Didapatkan nilai rata rata IC₅₀ vitamin E sebesar 2,7 dan IC₅₀ ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi sebesar 13,7. Berdasarkan hasil analisis T-Test di dapatkan nilai t hitung sebesar 10,809 dan t tabel sebesar 2,13185. Nilai t hitung lebih besar daripada t tabel yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara aktifitas antioksidan vitamin E dengan aktifitas antioksidan ekstrak ubi jalar ungu terpurifikasi. Berdasarkan penelitian proses purifikasi mempengaruhi aktifitas antioksidan ubi jalar ungu. Pada ekstrak kasar menurut Husna *et al* didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 59, 25 ppm yang masuk dalam kategori kuat sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan didapatkan IC₅₀ sebesar 13,7 ppm yang masuk dalam kategori sangat kuat.