

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik ekstrak etanol batang marigold

Pada penelitian ini sampel batang marigold yang digunakan diperoleh dari perkebunan bunga marigold yang terletak di Desa Belok, Kecamatan Petang, Kabupaten Badung.

Pada penelitian ini batang marigold yang digunakan adalah batang yang diambil dari pangkal hingga pucuk batang yang tidak berlubang, batang yang segar, tidak terdapat hama yang menempel disekeliling batang, panjang batang yang digunakan adalah 30-40 cm, batang berumur 2 bulan (ditunjukkan pada gambar 6). Batang yang telah disortasi kemudian dicuci lalu dilakukan proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50⁰C selama dua hari (ditunjukkan pada gambar 7).



Gambar 6. Sampel Batang Marigold



Gambar 7. Simplisia Batang Marigold

Selanjutnya simplisia batang marigold dihaluskan dengan blender, setelah itu dilanjutkan dengan proses remaserasi yang dimodifikasi dari metode maserasi selama 7 hari menggunakan pelarut etanol 96%, setelah didapatkan ekstrak dari proses remaserasi, dilanjutkan dengan proses pengentalan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50⁰C hingga dihasilkan ekstrak kental.



Gambar 8. Ekstrak Kental Batang Marigold

Hasil rendemen ekstrak diperoleh dari proses pengentalan ekstrak etanol batang marigold. Hasil ekstrak kental yang didapatkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemen ekstraknya menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{22}{483} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 4,55\%$$

Hasil rendemen ekstrak etanol batang marigold yaitu sebanyak 4,55%

Pada penelitian ini menggunakan sampel segar dengan berat 2827 gram, kemudian menghasilkan berat kering 483 gram, berat ekstrak kental 22 gram dengan ekstrak kental berwarna hijau pekat. Berdasarkan perhitungan rendemen ekstrak maka didapatkan hasil sebesar 4,55%.

2. Skrining fitokimia

Hasil pengujian kandungan fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol batang marigold adalah sebagai berikut:

Tabel 4
Hasil Skrining Fitokimia

No	Senyawa	Hasil	Perubahan yang terjadi
1.	<i>Flavonoid</i>	(+)	Terjadi perubahan warna jingga
2.	<i>Tanin</i>	(+)	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
3.	<i>Alkaloid</i>	(-)	Tidak terjadi perubahan warna
4.	<i>Saponin</i>	(-)	Tidak terbentuk busa
5.	<i>Steroid</i>	(-)	Tidak terjadi perubahan warna

Pada hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol batang marigold diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang marigold mengandung senyawa fitokimia *flavonoid* dan *tanin*.

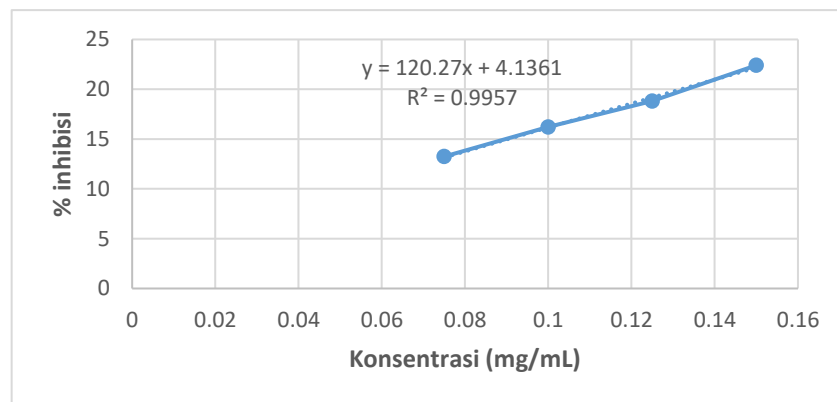
4. Aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang marigold ditunjukkan pada tabel 5 dan gambar 9.

Tabel 5
Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

No	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Absorbansi sampel (517 nm)	% Inhibisi
1.	75	0,1421	13,24%
2.	100	0,1372	16,20%
3.	125	0,1330	18,80%
4.	150	0,1271	22,40%

Berdasarkan tabel 5 maka didapatkan hasil persamaan kurva regresi linier yaitu hubungan antara % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak yang ditunjukkan pada gambar 9.



Gambar 9. Kurva Regresi Linier

Dari tabel dan kurva diatas maka didapatkan persamaan regresi linier sebesar $y =$

$$120,27x + 4,1361$$

$$y = bx + a$$

$$50 = 120,27x + 4,1361$$

$$x = \frac{50 - 4,1361}{120,27}$$

$$x = 0,381 \text{ mg/ml}$$

$$IC_{50} = 381 \text{ ppm}$$

Berdasarkan hasil persamaan regresi linier didapatkan nilai $x=0,381$ atau nilai

$$IC_{50} = 381 \text{ ppm}$$

Diketahui konsentrasi larutan DPPH adalah 40 ppm, maka hasil nilai AAI yaitu:

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{Nilai IC}_{50}}$$

$$\text{Nilai AAI} = \frac{40}{381}$$

$$\text{AAI} = 0,1 \text{ ppm}$$

B. Pembahasan

1. Ekstrak etanol batang marigold

Pada penelitian ini proses pengeringan menggunakan metode pengeringan dengan oven menggunakan suhu $<50^{\circ}\text{C}$. Menurut (Farmakope Herbal Indonesia edisi II tahun 2017) pengeringan dapat dilakukan menggunakan oven dengan suhu $<60^{\circ}\text{C}$. Sifat metabolit sekunder berbeda-beda terutama pada bagian tanaman yang digunakan apabila senyawa yang terkandung tidak tahan terhadap proses pemanasan maka mekanisme oksidasi yang terjadi akan mengakibatkan degradasi pada senyawa yang terkandung di dalam tanaman (Syafarina, 2017). Pengeringan menggunakan suhu tinggi dapat menyebabkan turunnya aktivitas antioksidan karena komponen-komponen penyusun antioksidan seperti *fenolik* dan *flavonoid* memiliki sifat mudah teroksidasi dan sensitif terhadap perlakuan panas.

Ekstraksi adalah langkah awal yang menuntun pada proses isolasi metabolit sekunder tanaman setelah proses preparasi sampel. Pada proses ekstraksi dengan

pelarut, ada dua hal yang penting yaitu waktu dan suhu. Idealnya, peningkatan waktu dan suhu meningkatkan kelarutan senyawa aktif dalam pelarutnya. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Penggunaan ekstraksi metode maserasi dikarenakan metode ini relatif lebih aman untuk senyawa kimia yang bersifat termolabil dimana proses ekstraksi tidak menggunakan panas, dengan proses dan alat yang sederhana serta biaya yang relatif lebih murah. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%, karena etanol 96% bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat. (Wendersteyt dkk., 2021)

Penelitian ini menggunakan metode remaserasi karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan ekstrak yang didapatkan lebih banyak. Remaserasi merupakan salah satu metode modifikasi dari maserasi, remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya, pelarut kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama dan seterusnya. Pada penelitian ini penyaringan maserat pertama dilakukan setelah 2 hari perendaman, penyaringan maserat kedua dilakukan setelah 2 hari perendaman, selanjutnya penyaringan maserat ketiga dilakukan setelah 3 hari perendaman ekstrak.

Pada penelitian ini rendemen ekstrak yang dihasilkan yaitu sebanyak 4,55%. Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat

simplisia sebagai bahan baku. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar (Nahor dkk., 2020). Hal ini berarti bahwa semakin besar nilai rendemen ekstrak maka semakin banyak juga zat-zat berkhasiat yang terkandung dalam ekstrak, namun hasil tersebut tidak dapat menentukan jenis senyawanya. Hasil rendemen ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain varietas tanaman, umur tanaman, proses pemeliharaan tanaman, faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman, juga proses panen serta proses pengolahan tanaman tersebut (Zuraida dkk., 2017).

2. Skrining Fitokimia

Hasil dari uji skrining fitokimia ekstrak etanol batang marigold menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang marigold mengandung senyawa fitokimia *flavonoid* dan *tanin*. Berdasarkan hasil uji kualitatif tersebut menunjukkan adanya senyawa positif, diduga senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri senyawa tersebut adalah *flavonoid* dan *tanin* (Jirna dkk., 2020). Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya terdapat persamaan kandungan metabolit sekunder antara bagian tumbuhan marigold lainnya yaitu berdasarkan hasil pada pengujian fitokimia bunga marigold yang dilakukan oleh (Paramitha dkk., 2018) positif mengandung *alkaloid*, *terpenoid*, *saponin*, *fenolik* dan *flavonoid*. Kemudian penelitian lain yang dilakukan oleh (Artini, 2021) skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi air daun marigold (*Tagetes erecta* Linn.) positif mengandung *flavonoid*, *alkaloid*, dan *tanin*. Adapun kandungan metabolit sekunder yang sama sama dimiliki oleh bagian bagian tanaman marigold adalah senyawa *flavonoid* dan *tanin*. Kandungan senyawa metabolit sekunder suatu tanaman tergantung pada spesiesnya dan kadar senyawanya tergantung pada lingkungan tempat tanaman tersebut hidup (Dewi

dkk., 2019). Senyawa metabolit sekunder umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit dan lingkungannya. Senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan diantaranya senyawa *flavonoid*, senyawa *fenol*, *tanin*, *steroid*, dan *triterpenoid* (Manongko dkk., 2020).

Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi, selain itu *flavonoid* berfungsi mengatur pertumbuhan, fotosintesis, antimikroba dan antivirus. *Flavonoid* mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid. *Flavonoid* bermanfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Ikalinus dkk., 2015). *Flavonoid* mempunyai banyak aktivitas farmakologi dengan masing-masing mekanisme aksi terutama sebagai anti oksidan dengan mekanisme pemecahan radikal bebas. Dengan dasar struktur *flavonoid* yang dapat melakukan donor hidrogen pada radikal bebas menjadikannya potensial sebagai antioksidan dibandingkan aktivitas farmakologi lain. Mekanisme pencegahan radikal bebas oleh *flavonoid* dapat dibagi menjadi tiga yaitu: memperlambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), memecah ROS dan meregulasi/proteksi dengan antioksidan. Kapasitas *flavonoid* sebagai antioksidan secara *in vitro* telah dibuktikan dengan banyak studi penunjang bertahun-tahun kebelakang dan dianggap potensial untuk dilakukan pengembangan pada industri obat maupun makanan (Alfaridz dan Amalia, 2018).

Selanjutnya pada ekstrak etanol batang marigold mengandung senyawa *tanin*, *tanin* adalah himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol lain karena kemampuannya mengendapkan protein, hal ini bisa dibuktikan apabila *tanin* direaksikan dengan gelatin akan terbentuk endapan, karena gelatin adalah salah satu jenis protein yang dapat diendapkan oleh *tanin*. Endapan tersebut disebabkan karena adanya ikatan hidrogen antara *tanin* dan protein pada gelatin (Ikalinus dkk., 2015). Senyawa *tanin* merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa *flavonoid*, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon, sifat fisika senyawa *tanin*, jika dilarutkan ke dalam air akan membentuk koloid dan memiliki rasa asam dan sepat (Hidjrawan Yusi, 2018). Fungsi *tanin* pada tanaman salah satunya untuk melindungi tanaman tersebut dari gangguan hewan lain. *Tanin* disebut juga zat antinutrisi, *tanin* terdiri dari dua jenis yaitu *tanin* terkondensasi dan *tanin* terhidrolisis. Kedua jenis *tanin* ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah *tanin* terkondensasi. *Tanin* terkondensasi terjadi karena reaksi polimerisasi (kondensasi) antar *flavonoid*, sedangkan *tanin* terhidrolisis terbentuk dari reaksi esterifikasi asam fenolat dan gula (glukosa). *Tanin* mudah teroksidasi, maka bergantung pada banyaknya zat itu terkena air panas atau udara, dengan mudah ia dapat berubah menjadi asam tanat. Asam tanat sebagai salah satu contoh *tanin* terhidrolisis (Hidjrawan Yusi, 2018). *Tanin* merupakan senyawa polifenol yang kaya akan manfaat dibidang kesehatan seperti sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan, *tanin* berfungsi sebagai antioksidan biologis karena gugus polihidroksi yang dimiliki *tanin* juga memiliki kemampuan sebagai pengkhelat logam sehingga mampu mereduksi suatu ion logam (Ikalinus dkk., 2015).

3. Aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak batang marigold dilakukan dengan metode pengujian menggunakan DPPH. Metode uji antioksidan menggunakan DPPH adalah salah satu metode uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas batang marigold sebagai antioksidan. Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan, selain itu pengerjaannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman menggunakan DPPH secara spektrofotometer (Bahriul dkk., 2014) Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm karena DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang tersebut (Damanis dkk., 2020). Metode DPPH diukur dengan alat spektrofotometri UV-Vis, pengukuran menggunakan instrumen ini dipilih karena dapat menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil dan hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital maupun grafik yang sudah diregresikan (Sari dan Hastuti, 2020).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol batang marigold, didapatkan hasil perhitungan % inhibisi pada ekstrak etanol batang marigold, dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan % inhibisi pada setiap peningkatan konsentrasi sampel. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan (Green, 2004) bahwa nilai tingkat inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar persen

inhibisi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Hanani dkk.,2005) yang menyatakan bahwa presentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi (Damanis dkk., 2020). Nilai R^2 yang diperoleh pada kurva hubungan konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi pada sampel uji ekstrak etanol batang marigold adalah 0,9957 menunjukkan bahwa kurva tersebut linier, kurva linier artinya apabila koefisien regresi semakin mendekati 1 maka kurva antara hubungan konsentrasi dengan % inhibisi tersebut semakin baik (Martiningsih dkk., 2016).

Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter IC_{50} (*inhibition concentration*) untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode uji menggunakan DPPH. IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (Bahriul dkk., 2014). Pada pengujian aktivitas antioksidan didapatkan nilai IC_{50} yang sebesar 381 ppm dimana nilai IC_{50} ini termasuk kedalam kategori lemah karena nilai IC_{50} ada pada rentang 250-500 ppm, setelah didapatkan nilai IC_{50} selanjutnya dihitung nilai AAI dan didapatkan nilai sebesar 0,1 ppm, dimana nilai ini masuk dalam kategori aktivitas antioksidan lemah. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang marigold menggunakan perhitungan nilai IC_{50} maupun AAI didapatkan hasil yang sama yaitu hasilnya termasuk dalam kategori lemah. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak etanol batang marigold termasuk dalam golongan kategori lemah. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara bagian tumbuhan marigold lainnya yaitu berdasarkan hasil pada pengujian antioksidan bunga marigold yang dilakukan oleh (Paramitha dkk., 2018) memiliki aktivitas

antioksidan yang tergolong sedang. Kemudian penelitian lain yang dilakukan oleh (Artini, 2021) uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi air daun marigold (*Tagetes erecta* Linn.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang. Perbedaan aktivitas antioksidan pada batang, daun dan bunga dapat disebabkan oleh kadar total senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tiap bagian tanaman. Penyebab perbedaan lainnya adalah pada batang marigold tidak terkandung senyawa metabolit sekunder, *alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik*. menurut Aljaber (2011) bahwa senyawa tersebut juga dapat berperan sebagai antioksidan alami dan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan (Zuraida dkk., 2017). Aktivitas antioksidan tidak selalu dikorelasikan dengan kadar *fenol* maupun *flavonoid*, Hal ini dapat disebabkan karena adanya beberapa faktor eksternal seperti suhu dan waktu pengeringan, metode pengeringan, metode analisis yang berbeda, perbedaan asal bahan baku, tempat tumbuh, iklim, kondisi lingkungan, dan cara budidaya yang berbeda sehingga standar bahan baku yang digunakan juga berbeda (Handayani dan Sriherfyna, 2016).