#### **BAB V**

#### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

## A. Hasil Penelitian

# 1. Ekstrak etanol biji buah salju

Pada penelitian ini biji buah salju (*Inga edulis*) diperoleh dari Desa Candi Kuning, Dusun Bukit Catu, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan. Biji buah yang digunakan adalah biji yang berwarna hitam, tidak layu dan tidak berlubang (ditunjukkan pada gambar 5). Biji yang telah disortasi kemudian dicuci lalu dilakukan proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu tidak lebih dari 50°C selama 3 hari (ditunjukkan pada Gambar 6).



Sumber: Dokumentasi pribadi

Gambar 5. Sampel Biji Buah Salju



Sumber: Dokumentasi pribadi

Gambar 6. Simplisia Biji Buah Salju

Selanjutnya simplisia yang sudah kering, kemudian dilanjutkan dengan dihaluskan menggunakan blender, lalu dilanjutkan dengan proses maserasi menggunakan etanol 96% selama 7 hari. Setelah didapatkan ekstrak dari proses remaserasi, selanjutnya dilakukan proses pengentalan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50°C sehingga menghasilkan ekstrak kental.



Sumber: Dokumentasi pribadi

Gambar 7. Ekstrak Kental Biji Buah Salju

Hasil ekstrak kental yang didapat pada proses maserasi ditimbang dan dihitung rendemen ekstraknya dengan rumus:

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

$$Rendemen = \frac{80 \ gr}{1101 \ gr} \ x \ 100\%$$

Pada penelitian ini menggunakan sampel biji buah salju (*Inga edulis*) segar dengan berat 2.132 gram, yang menghasilkan berat kering 1101 gram kemudian menghasilkan ekstrak kental 80 gram. Berdasarkan perhitungan rendemen ekstrak didapatkan hasil sebesar 7,26% dengan warna hijau kecoklatan.

## 2. Skrining Fitokimia

Hasil pengujian kualitatif fitokimia ekstrak etanol biji buah salju (*Inga edulis*) adalah sebagai berikuit :

Tabel 4
Hasil Uji Skrining Fitokimia

No	Senyawa	Hasil	Perubahan yang Terjadi
1.	Flavonoid	Positif(+)	Terjadi Perubahan Warna Jingga
2.	Tanin	Positif (+)	Terjadi Perubahan Warna Hijau
3.	Saponin	Positif (+)	Terjadi Perubahan Timbulnya Busa
4.	Steroid	Negatif (-)	Tidak Terjadi Perubahan Warna Merah
5.	Alkaloid	Negatif (-)	Tidak Terjadi Perubahan Warna Jingga
		Negatif (-)	Tidak Terjadi Perubahan Warna Kuning
		Negatif (-)	Tidak Terjadi Perubahan Warna Kuning

Berdasarkan uji skrining fitokimia biji buah salju (*Inga edulis*) yang telah dilakukan menunjukan bahwa ekstrak etanol biji buah salju positif mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Pengujian alkaloid, flavonoid dan steroid menunjukan hasil negatif.

## 6. Uji Aktivitas Antioksidan

Pada pengujian aktivitas antioksidan dari biji buah salju (*Inga edulis*) adalah sebagai berikut:

$$\% Aktivitas \ antioksidan = \frac{absorbansi \ kontrol - absorbansi \ sampel}{absorbansi \ kontrol} \times 100\%$$

Contoh:

$$=\frac{0,3192-0,0569}{0,3192}x\ 100$$

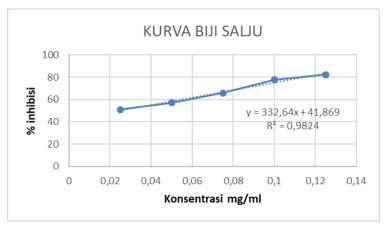
$$=\frac{0,2623}{0,3192}x\ 100$$

=82,17419

Tabel 5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Absorbansi Sampel Rata-Rata (517 nm)	Absorbansi kontrol	% Inhibisi
25	0,0569	0,3192	82,17%
50	0,0706	0,3192	77,88%
75	0,1088	0,3192	65,91%
100	0,13675	0,3192	57,15%
124	0,15655	0,3192	50,95%

Berdasarkan tabel tersebut, uji aktivitas antioksidan dilanjutkan dengan membuat kurva regresi linier sebagai berikut:



Gambar 8. Kurva Regresi Linier

Dari tabel diatas didapatkan persamaan regresi linier sebesar y= 332,6x + 41,86

y = 
$$bx + a$$
  
y =  $332,6x + 41,86$   
50 =  $332,6x + 41,86$   
x =  $\frac{50-41,86}{332,6}$   
x =  $0,024$ 

Berdasarkan hasil persamaan regresi linier didapatkan hasil x=0,024 atau nilai  $IC_{50}=24,44~\mu g/mL.$ 

Diketahui konsentrasi DPPH adalah 40 ppm dengan menimbang 4 g serbuk DPPH dan dilarutkan dengan metanol 100ml. Maka hasil AAI yaitu:

Nilai AAI = 
$$\frac{40}{24.44}$$

$$= 1,63 \text{ ppm}$$

Dengan demikian hasil dari uji aktivitas antioksidan adalah 1,63 ppm (1,0-2,0) yaitu dari ekstrak etanol biji buah salju dalam kriteria kuat.

#### B. Pembahasan

## 1. Ekstraksi etanol biji buah salju

Sebelum dilakukannya ekstraksi, sampel biji buah salju dikeringkan terlebih dahulu menggunakan oven dengan suhu 50°. Menurut Indah yulia (2016) bahan simplisia umumnya dapat dikeringkan pada suhu ≤ 60° C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif mudah menguap dan tidak tahan panas (termolabil) sebaiknya dikeringkan pada suhu rendah, yaitu 30-40° C selama waktu tertentu. Pada proses ekstraksi biji buah salju, metode yang digunakan yaitu maserasi. Menurut Nurhasnawati dan samarindha (2015) proses penyarian menggunakan metode maserasi tergolong sederhana dan cepat tetapi sudah menyari zat aktif simplisia dengan maksimal. Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya (Maria, 2019). Proses maserasi dari sampel biji buah salju dilakukan selama 7 hari dengan penggantian pelarut sebanyak 3 kali. Pada penelitian Ratih dan Habibah (2022) dikatakan bahwa Pelarut akan menarik metabolit sekunder dengan kelarutan serupa di sitoplasma dan membawanya keluar. Macam pelarut dan tingkat

kepolaran pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi proporsi senyawa-senyawa kandungan yang tersari, yang mungkin akan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak didapat (Mega, 2013). Pada penelitian ini pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Menurut Nhunu (2012), etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorbansinya 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 kosentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat.

# 2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia pada hakikatnya adalah analisis secara kualitatif dari kandungan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti saponin, steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid. Pada skrining fitokimia biji buah salju (Inga edulis) didapatkan hasil positif yaitu pada flavonoid, tanin, dan saponin. Menurut Dewi dkk (2018), aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang ada dalam ekstrak seperti flavonoid karena flavonoid akan mendonorkan hidrogen atau elektronnya kepada radikal bebas untuk menstabilkan senyawa radikal, sehingga semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak, aktivitas antioksidannya juga akan semakin tinggi. Menurut rachmi dkk (2021) flovanoid berperan sebagai antimikroba, antibakteri, antivirus, dan menghambat pendarahan.

Uji *flavonoid* biji buah salju (*Inga edulis*) dilakukan dengan menambahkan sampel dengan serbuk Mg dan HCl 2% lalu terjadi perubahan warna filtrat menjadi jingga hingga merah dan muncul sedikit busa. Menurut Iman Soeharto (2000) flavonoid merupakan antioksidan yang potensial dan terdapat pada buah, sayur dan tumbuhan. Tujuan penambahan logammagnesium dan HCl untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah. Penambahan HCl mengakibatkan terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara logam Mg sebagai pereduksi engan senyawa flovanoid (Haeria dkk, 2016).

Uji tanin biji buah salju (Inga edulis), Menurut Jirna dan Ratih (2021) Selain flavonoid, tanin juga merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuhan. Uji tanin dilakukan dengan menambahkan sampel dengan beberapa tetes FeCL<sub>3</sub> 5%. Hasil yang didapatkan pada ekstrak biji buah salju terbentuk warna larutan yaitu hijau kehitaman. Uji fitokimia dengan menggunakan FeCL3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan FeCL<sub>3</sub> (Ergina dkk, 2014). Tanin merupakan senyawa yang mengandung gugus hidroksi yang larut dalam air, kelarutan tanin terjadi pada suhu tingi sehingga lebih dulu dilakukan pemanasan. Penambahan FeCL<sub>3</sub> menyebabkan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman, karena pembentukan senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Penambahan FeCL<sub>3</sub> pada uji tanin menunjukan hasil positif, hal ini mungkin terjadi reaksi ini diperkirakan terjadi karena FeCL<sub>3</sub> bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin akan menyebabkan perubahan warna menjadi hijau

kehitaman, hiau coklat, atau biru tua setelah penambahan FeCL<sub>3</sub> (Sri wahjuni dkk, 2022).

Uji *saponin* biji buah salju (*Inga edulis*) dilakukan dengan menambahkan sampel dengan dengan menambahkan air panas dan HCl 2N. Penambahan HCl 2N pada sampel biji buah salju membentuk busa, hal ini menunjukan bahwa sampel baiji buah salju mengandung senyawa *saponin*. *Saponin* adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan dan bersifat kompleks yang memiliki karakteristik berupa buih (Hendra, 2018). Menurut Lia fikayuniar (2022), reaksi pengenalan saponin didasarkan pada sifatnya yang mampu memberikan busa pada pengocokan dan persisten pada penambahan sedikit asam atau pendiaman.

Skrining fitokimia tumbuhan dijadikan informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat didalam suatu tumbuhan. dari penelitian sebelumnya dikatakan bahwa buah salju sebagai obat diare dikarenakan kandungan senyawa yang terdapat dalam buah salju yaitu flovanoid saponin dan tanin. Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa tanaman yang mengandung senyawa kimia tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid berperan sebagai antidiare dari beberapa tanaman obat (Labu dkk, 2015).

Dalam percobaaan ini, skrining fitokimia dilakukan dengan menggunkan pereaksi-pereaksi tertentu sehingga dapat dapat diketahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan tersebut (Riza, 2022).

## 3. Uji aktivitas antioksidan

Setelah dilakukan proses ektraksi pada sampel biji buah salju selanjutnya dilakukan proses uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylldralzil). Metode ini menggunakan IC<sub>50</sub> (inhibition concentration). Menurut Purwanto dkk (2017) IC<sub>50</sub> (inhibition concentration) yaitu bilangan yang menunjukan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50% dan menurut Kang Sing Lung (2017), IC<sub>50</sub> (inhibition concentration) sebagai parameter untuk menentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% oksidasi. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji buah salju didapatkan nilai IC50 sebesar 24,44 μg/mL. Hal ini menunjukan bahwa pada konsentrasi 24,44 μg/mL sampel biji buah salju dapat menghambat 50% dariradikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylldralzil). Berdasarkan pada nilai AAI (Antioxidant Activity Index) menunjukan bahwa ektrak etanol biji buah salju sebesar 1,63 ppm yang menunjukan bahwa aktivitas antioksidan yang tergolong kuat (1,0-2,0). Pada Penelitian yang dilakukan oleh Tauchen dkk (2016), ujiaktivitas antioksidan pada biji buah salju didapatkan hasil IC50 yang kecil, itu berarti aktivitas antioksidan yang terkandung pada daun buah salju yaitu kuat. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya kesamaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di daun dan biji buah salju yaitu kandungan senyawa tanin dan flavonoid.