

## **BAB V**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Lokasi penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Denpasar yang beralamat di Jl. Sanitasi No. 1, Sidakarya, Denpasar Selatan, Kota Denpasar, Bali. Laboratorium Kimia Dasar dan Terapan merupakan salah satu laboratorium di jurusan Teknologi Laboratorium Medis dimana laboratorium ini sering digunakan untuk melakukan beberapa pengujian lab seperti ekstraksi bahan alam, uji aktivitas antiinflamasi, uji aktivitas antioksidan, analisis kadar air, analisa makanan dan minuman, dll.

##### **2. Karakteristik sampel**

Karakteristik sampel pada penelitian ini yaitu kencur yang berwarna dengan warna coklat tua, tidak mengkerut dan bau khas kencur kuat dengan panjang 4-6 cm. Pada penelitian ini kencur yang telah disortasi kemudian di potong tipis-tipis lalu dikeringkan dengan oven suhu 40°C selama 1 hari hingga kering lalu dihaluskan. Kencur yang telah dihaluskan kemudian direndam dengan pelarut etanol 70% dan 96% selama 7 hari di ruang gelap. Setelah 7 hari filtrat kemudian di saring dan diuapkan dengan evaporator untuk mendapatkan ekstrak kentalnya. Masing-masing ekstrak yang diperoleh yaitu ekstrak etanol 70% kencur dan ekstrak etanol 96% kencur kemudian dibuat dalam 5 konsentrasi yaitu 50, 100, 200, 400, 500 ppm dengan 3 kali pengulangan.

**Tabel 3**  
**Hasil Pembuatan Simplisia**

| Berat awal (gr) | Berat setelah dikeringkan (gr) | Berat serbuk (gr) | Berat ekstrak (gr) |            | Rendemen   |            |
|-----------------|--------------------------------|-------------------|--------------------|------------|------------|------------|
|                 |                                |                   | Ekstrak            | Ekstrak    | Ekstrak    | Ekstrak    |
|                 |                                |                   | Etanol 70%         | Etanol 96% | Etanol 70% | Etanol 96% |
| 4.220           | 402 gr                         | 397 gr            | 14,15              | 17,35      | 7,0%       | 8,6%       |

### 3. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi

#### a. Hasil skrining fitokimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan selanjutnya disajikan dalam tabel 4 dan tabel 5.

**Tabel 4**  
**Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Kencur**

| Senyawa   |            | Hasil   | Keterangan                                                    |
|-----------|------------|---------|---------------------------------------------------------------|
| Alkaloid  | Mayer      | Negatif | Tidak ada endapan kuning                                      |
|           | Wagner     | Negatif | Tidak ada endapan kuning                                      |
|           | Dragendorf | Negatif | Tidak terjadi endapan berwarna jingga sampai merah kecoklatan |
| Flavonoid |            | Negatif | Tidak terbentuk endapan berwarna kuning                       |
| Tannin    |            | Negatif | Tidak terjadi perubahan warna biru kehitaman                  |

|           |         |                                   |
|-----------|---------|-----------------------------------|
| Terpenoid | Positif | Terbentuk endapan berwarna jingga |
| Saponin   | Negatif | Tidak terbentuk busa              |

Berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak kencur etanol 70% kencur mendapatkan hasil positif terpenoid dan mendapatkan hasil negatif untuk alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin.

**Tabel 5**  
**Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Kencur**

| Senyawa   |            | Hasil   | Keterangan                                               |
|-----------|------------|---------|----------------------------------------------------------|
| Alkaloid  | Mayer      | Positif | Terdapat endapan kuning                                  |
|           | Wagner     | Positif | Terdapat endapan kuning                                  |
|           | Dragendorf | Positif | Terdapat endapan berwarna jingga sampai merah kecoklatan |
| Flavonoid |            | Positif | Terbentuk endapan berwarna kuning                        |
| Tannin    |            | Negatif | Tidak terjadi perubahan warna biru kehitaman             |
| Terpenoid |            | Positif | Terbentuk endapan berwarna jingga                        |
| Saponin   |            | Negatif | Tidak terdapat busa                                      |

Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak kencur etanol 96% kencur mendapatkan hasil positif alkaloid, flavonoid, dan terpenoid dan mendapatkan hasil negatif untuk tannin dan saponin.

b. Aktivitas Antiinflamasi

**Tabel 6**  
**Absorbansi Ekstrak Etanol 70% Kencur**

| <b>Konsentrasi</b> | <b>Abs larutan uji<br/>1</b> | <b>Abs larutan<br/>uji 2</b> | <b>Abs larutan uji<br/>3</b> | <b>Rata-rata</b> | <b>Std</b> |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|------------|
| 500 ppm            | 1.1875                       | 1.1899                       | 1.1923                       | 1.1899           | 0.0024     |
| 400 ppm            | 1.9373                       | 1.9387                       | 1.9396                       | 1.938533         | 0.001159   |
| 200 ppm            | 1.0813                       | 1.0817                       | 1.0825                       | 1.081833         | 0.00611    |
| 100 ppm            | 0.8609                       | 0.8612                       | 0.8616                       | 0.861233         | 0.0003512  |
| 50 ppm             | 1.0576                       | 1.0581                       | 1.0589                       | 1.0582           | 0.0006557  |

**Tabel 7**  
**Absorbansi Ekstrak Etanol 96% Kencur**

| <b>Konsentrasi</b> | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 1</b> | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 2</b> | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 3</b> | <b>Rata-rata</b> | <b>Std</b> |
|--------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------|------------|
| 500 ppm            | 0.9852                              | 0.9845                              | 0.9843                              | 0.984667         | 0.0004726  |
| 400 ppm            | 1.0387                              | 1.0387                              | 1.0388                              | 1.038733         | 0.0000577  |
| 200 ppm            | 1.1318                              | 1.1314                              | 1.1311                              | 1.131433         | 0.0003512  |
| 100 ppm            | 1.3026                              | 1.3025                              | 1.3022                              | 1.302433         | 0.0002082  |
| 50 ppm             | 1.0358                              | 1.0359                              | 1.0359                              | 1.035867         | 0.0000577  |

**Tabel 8**  
**Absorbansi Natrium Diklofenak**

|                  | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 1</b> | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 2</b> | <b>Absorbansi<br/>larutan uji 3</b> | <b>Rata-rata</b> | <b>Std</b> |
|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------|------------|
| Na<br>Diklofenak | 1.3505                              | 1.3430                              | 1.3417                              | 1.345067         | 0.0047501  |

**Tabel 9**  
**Inhibisi Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Kencur**

| <b>Konsentrasi</b> | <b>Replikasi 1</b> | <b>Replikasi 2</b> | <b>Replikasi 3</b> | <b>Rata-rata</b> | <b>Std</b> |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------|
| 500 ppm            | 98.95              | 98.94              | 98.94              | 98.94            | 0.00577    |
| 400 ppm            | 98.17              | 98.16              | 98.16              | 98.16            | 0.00577    |
| 200 ppm            | 98.92              | 98.92              | 98.93              | 98.92            | 0.00577    |
| 100 ppm            | 99.15              | 99.14              | 99.15              | 99.14            | 0.00577    |
| 50 ppm             | 98.95              | 98.94              | 98.94              | 98.94            | 0.00577    |

Berdasarkan tabel 9 rata-rata inhibisi aktivitas antiinflamasi ekstrak kencur etanol 70% secara berturut-turut yaitu 500 ppm ;  $98.84 \pm 0.00577$ , 400 ppm ;  $98.16 \pm 0.00577$ , 200 ppm ;  $98.92 \pm 0.00577$ , 100 ppm ;  $99.14 \pm 0.00577$ , 50 ppm ;  $98.94 \pm 0.00577$ . Inhibisi aktivitas antiinflamasi tertinggi terdapat pada konsentrasi 100 ppm sebesar  $99.14 \pm 0.00577$ . Data ini menunjukkan semakin kecil konsentrasi maka semakin besar inhibisi yang didapat.

**Tabel 10**  
**Inhibisi Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 96% Kencur**

| Konsentrasi | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata | Std     |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|---------|
| 500 ppm     | 99.01       | 99.01       | 99.02       | 99.01     | 0.00577 |
| 400 ppm     | 98.65       | 98.66       | 98.96       | 98.75     | 0.17616 |
| 200 ppm     | 98.89       | 98.89       | 98.90       | 98.89     | 0.00577 |
| 100 ppm     | 98.69       | 98.69       | 98.70       | 98.69     | 0.00577 |
| 50 ppm      | 98.97       | 98.96       | 98.96       | 98.96     | 0.00577 |

Berdasarkan tabel 10 rata-rata inhibisi aktivitas antiinflamasi ekstrak kencur etanol 96% secara berturut-turut yaitu 500 ppm ;  $99.01 \pm 0.00577$ , 400 ppm ;  $98.75 \pm 0.17616$ , 200 ppm ;  $98.90 \pm 0.00577$ , 100 ppm ;  $98.70 \pm 0.00577$ , 50 ppm ;  $98.96 \pm 0.00577$ . Inhibisi aktivitas antiinflamasi tertinggi terdapat pada konsentrasi 500 ppm sebesar  $99.03 \pm 0.00577$ . Data ini menunjukkan semakin besar konsentrasi maka semakin besar yang didapat.

**Tabel 11**  
**Inhibisi Natrium Diklofenak**

|            | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata | Std     |
|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|---------|
| Na         | 98.65       | 98.65       | 98.66       | 98.65     | 0.00577 |
| Diklofenak |             |             |             |           |         |

Berdasarkan tabel 11 rata-rata inhibisi aktivitas antiinflamasi Natrium diklofenak sebesar  $98.65 \pm 0.00577$ .

**Tabel 12**  
**Uji Saphiro-Wilk**

| <b>Kelompok ekstrak</b>   | <b>N</b> | <b>Sig</b> | <b>Keterangan</b>               |
|---------------------------|----------|------------|---------------------------------|
| Ekstrak etanol 70% kencur | 35       | 0.000      | Data tidak terdistribusi normal |
| Ekstrak etanol 96% kencur | 35       | 0.003      | Data tidak terdistribusi normal |

Syarat pengambilan keputusan :

$P > 0.05$  = data terdistribusi normal

$P < 0.05$  = data tidak terdistribusi normal

Berdasarkan tabel 12 hasil uji normalitas data dengan menggunakan uji saphiro wilk untuk ekstrak etanol 70% kencur mendapatkan Signifikansi sebesar 0.000 dan untuk ekstrak etanol 96% kencur mendapatkan hasil signifikansi sebesar 0.003 maka dapat disimpulkan data tidak terdistribusi normal ( $P < 0.05$ ).

**Tabel 13**  
**Uji Mann-Whitney**

|          | <b>Kelompok ekstrak</b> | <b>N</b> | <b>Sig</b> | <b>Keterangan</b>  |
|----------|-------------------------|----------|------------|--------------------|
| Inhibisi | EEK 70%                 | 30       | .870       | Tidak ada pengaruh |
|          | EEK 96%                 |          |            |                    |

Syarat pengambilan keputusan :

$P < 0.05$  = Ada pengaruh

$P > 0.05$  = Tidak ada pengaruh

Berdasarkan tabel 13 hasil pengaruh dengan menggunakan uji *Mann-whitney* untuk ekstrak etanol 70% kencur dan ekstrak etanol 96% kencur mendapatkan hasil

signifikansi sebesar 0.870, maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh dari penggunaan pelarut etanol 70% dan 96% ( $P > 0.05$ ).

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstrak Etanol 70% Kencur dan Ekstrak Etanol 96% Kencur**

Ekstraksi menghasilkan ekstrak kental dari bahan alami. Ekstraksi adalah metode pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutan dua cairan yang tidak dapat bercampur, biasanya air dan pelarut organik. Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi. Pada metode perendaman, serbuk tanaman direndam dengan pelarut yang sesuai dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Namun cara ini mempunyai kelemahan yaitu memerlukan waktu yang lama, jumlah pelarut yang banyak, dan kemungkinan kehilangan beberapa senyawa. Beberapa senyawa sulit diekstraksi bahkan pada suhu kamar. Namun, perendaman mencegah kerusakan senyawa yang tidak tahan panas (Tetti, 2014 ; Badaring *et al.*, 2020).

Pada saat terendam, perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel menyebabkan dinding dan membran sel tanaman pecah sehingga menyebabkan metabolit sekunder di sitoplasma larut dalam pelarut organik (Lenny, 2006; Badaring *et al.*, 2020). Setelah dimaserasi, diperoleh ekstrak kental dengan cara penguapan dengan evaporator. Rendemen atau hasil akhir ekstrak dihitung untuk menentukan efisiensi proses. Rendemen yang baik harus lebih dari 10% (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Dalam penelitian ini, rendemen menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan 7,0%, sedangkan dengan etanol 96% menghasilkan 8,6%. Ini menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% lebih efektif dibandingkan dengan 70%.



Ada beberapa faktor yang mempengaruhi nilai rendemen antara lain metode ekstraksi yang digunakan, perbandingan volume sampel terhadap pelarut, dan jenis pelarut yang mempunyai polaritas yang sesuai untuk berbagai komponen kencur (Shary dan Mahfur, 2023). Pelarut etanol 96% mempunyai kemampuan lebih besar dalam menembus dinding sel sampel dibandingkan dengan pelarut etanol konsentrasi rendah, sehingga dapat menghasilkan ekstrak yang lebih kental dan pekat. Sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yunita (2020) menunjukkan bahwa rendemen daun asam jawa mencapai tingkat tinggi ketika diekstraksi dengan etanol 96%. Lalu penelitian oleh Aji (2023) juga menemukan bahwa ekstrak bangle memberikan hasil rendemen tertinggi ketika menggunakan pelarut etanol 96%.

## **2. Skrining Fitokimia**

Uji skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak berdasarkan konsentrasi pelarut yang telah digunakan. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak kencur telah disajikan dalam tabel 4 dan 5. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak dengan konsentrasi berbeda yaitu etanol 70% dan 96%. Golongan senyawa yang diuji dilihat reaksi positifnya dimana terjadinya perubahan warna yang menandakan reaksi positif.

Hasil pengujian dengan menggunakan 2 konsentrasi pelarut yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda, dimana pada ekstrak etanol 70% hanya senyawa terpenoid yang teridentifikasi sedangkan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin tidak teridentifikasi. Pada ekstrak etanol 96% senyawa yang teridentifikasi seperti senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan senyawa tannin

dan saponin tidak teridentifikasi. Penelitian yang dilakukan oleh Shary & Mahfur (2023) mendapatkan senyawa flavonoid, tannin, fenol, terpenoid. Senyawa alkaloid dan saponin tidak teridentifikasi pada ekstrak kunyit. Penelitian yang dilakukan oleh Nastiti (2020) terhadap lengkuas, hasil skrining fitokimia senyawa yang didapat steroid, tanin, fenolik, terpanoid, alkaloid, saponin, dan flavanoid. Penelitian yang telah dilakukan oleh Megawati & Yuliana (2019) pada rimpang temulawak hasil skrining fitokimia positif terhadap alkaloid, flavonoid dan triterpenoid. Berdasarkan hasil pengujian yang telah diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol 96% lebih banyak menarik metabolit sekunder yang terdapat dalam kencur sehingga banyak metabolit sekunder yang dapat teridentifikasi.

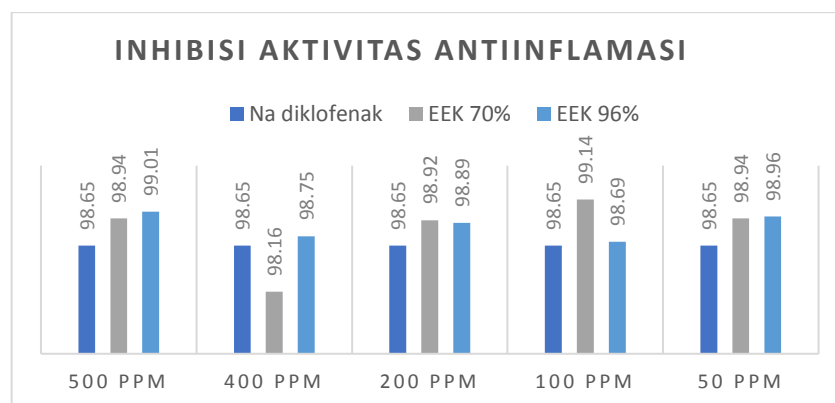
### **3. Uji Aktivitas Antiinflamasi**

Aktivitas antiinflamasi dapat diukur menggunakan metode stabilisasi membran, yang dikenal sebagai metode sel darah merah *Red Blood Cells* (RBC). Metode ini digunakan untuk menilai potensi antiinflamasi dari suatu sampel. Membran eritrosit dianggap analog dengan membran lisosom. Stabilitas lisosom berperan penting dalam mengurangi respon inflamasi dengan mencegah pelepasan komponen lisosom dari neutrofil yang teraktivasi, yang dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan lebih lanjut pada peradangan akut dan kronis.. (Leelaprakash & Dass, 2011).

Kerusakan pada membran lisosom dapat memicu pelepasan fosfolipase A2, yaitu enzim yang mengubah fosfolipid menjadi asam arakidonat. Enzim Cyclooxygenase (COX) mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. COX terdiri dari dua jenis yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 diekspresikan di hampir

semua jaringan, termasuk pembuluh darah, ginjal dan lambung, untuk menjaga fungsi fisiologis dan homeostatis jaringan. Pada saat yang sama, COX-2 diekspresikan dalam kondisi patologis dan diinduksi oleh agen proinflamasi. Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) menghambat aktivitas enzim COX atau melindungi membran lisosom dari kerusakan. Ini memberikan efek anti-inflamasi dari obat anti-inflamasi nonsteroid (Nurtamin *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini, aktivitas antiinflamasi sampel ditunjukkan oleh kemampuannya untuk mencegah terjadinya hemolysis eritrosit yang diinduksi dengan larutan hipotonik. Hemolysis dalam tes ini disebabkan karena adanya peristiwa osmosis pada sel darah merah dimana larutan hipotonik (konsentrasi rendah) akan bergerak ke sel darah merah yang memiliki konsentrasi lebih tinggi. Perpindahan yang terjadi terus menerus akan mengakibatkan pecahnya membran sel darah merah. Penurunan penyerapan larutan uji menunjukkan pencegahan hemolisis. Semakin rendah serapan yang diamati dalam larutan uji, semakin stabil membran eritrosit dan tidak hancur atau lisis. Aktivitas antiinflamasi tidak hanya dilihat melalui nilai absorbansi namun juga harus dilanjutkan menggunakan perhitungan inhibisi (%).



Gambar 3. Uji aktivitas antiinflamasi

Persentase inhibisi hemolisis adalah ukuran kemampuan suatu sampel untuk mengurangi atau mencegah kerusakan pada membran sel darah merah yang menyebabkan hemolisis (Wiranto et al., 2016 ; Wasiaturrahmah & Amalia 2023). Hemolisis pada penelitian ini diinduksi dengan pemanasan. Persentase inhibisi hemolisis tertinggi dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif dengan inhibisi sebesar 98.65% adalah pada ekstrak kencur etanol 70% konsentrasi 100 ppm sebesar 99.14% dan ekstrak kencur etanol 96% konsentrasi 500 ppm sebesar 99.01%. Persentase stabilitas membran yang mendekati atau melebihi nilai kontrol positif menunjukkan potensi, karena aktivitas anti inflamasi sama atau lebih besar dari kontrol positif (Burhannuddin & Karta, 2023).

Ekstrak kencur dapat meningkatkan stabilitas membran karena mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Senyawa tersebut mempunyai efek farmakologis sebagai antiinflamasi dan berperan dalam stabilisasi sel darah merah. Alkaloid berperan sebagai obat anti inflamasi dengan cara menghambat pelepasan histamin dari sel mast, menurunkan sekresi interleukin-1 (IL-1) dari monosit, dan menghambat *platelet-activating factor* (PAF) (Luliana et al., 2017). Flavonoid berperan sebagai antiinflamasi melalui beberapa mekanisme antara lain penghambatan aktivitas siklooksigenase (COX) dan lipoksigenase, penurunan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi neutrofil, dan penghambatan pelepasan histamin (Audina et al., 2018). Pada saat yang sama, terpenoid dapat mengurangi peradangan dengan menghambat ekspresi enzim COX-2 dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). Mekanisme lain yang digunakan terpenoid sebagai agen antiinflamasi adalah dengan mengurangi produksi prostaglandin E2 (PGE2) yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) dan

menghambat produksi leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) dan tromboksan B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) (Parawansah *et al.*, 2022).

#### **4. Kelemahan Penelitian**

Kelemahan dari penelitian ini adalah, uji aktivitas antiinflamasi secara *in vitro* hanya dapat memberikan gambaran berupa angka yaitu inhibisi dari aktivitas antiinflamasi namun tidak dapat memberikan informasi tentang enzim yang mengaktifasi aktivitas antiinflamasi tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian secara *in vivo*.