

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik ekstrak akuades, etanol 96% dan etil asetat

Pada penelitian ini sampel daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) yang digunakan diperoleh dari Desa Pupuan, Tabanan, Bali. Daun cengkeh yang digunakan ialah daun cengkeh yang berwarna hijau segar, tidak berlubang dan tidak berjamur. Berat daun cengkeh yang dipetik sebanyak 4,5 kg. Daun cengkeh yang telah diperoleh selanjutnya disortasi basah kemudian di cuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Kemudian, tersebut dicacah lalu dikeringkan dengan metode diangin-anginkan di tempat terbuka tanpa terpapar langsung sinar matahari selama ± 1 bulan dengan tujuan untuk mempertahankan senyawa bioaktif dan menghilangkan kadar air dalam daun cengkeh.

Setelah itu, sampel daun cengkeh yang telah kering dihaluskan dengan blender dan diayak untuk memperoleh serbuk simplisia dengan ukuran serbuk yang relatif sama. Salah satu faktor yang mempengaruhi efektivitas proses ekstraksi adalah ukuran partikel dari suatu bahan. Semakin kecil ukuran partikel suatu bahan, maka makin luas permukaannya akan semakin besar sehingga bagian sampel yang berinteraksi dengan pelarut akan semakin banyak.

Serbuk simplisia yang diperoleh selanjutnya dimaserasi dengan pelarut Akuades, Etanol 96% dan etil asetat, dengan perbandingan 1:5 Masing-masing selama 3x 24 jam dengan 3 kali remaserasi. Masng-masing yang diperoleh dari proses maserasi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental. Hasil rendemen

ekstrak akuades, etanol 96% dan etil asetat yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.

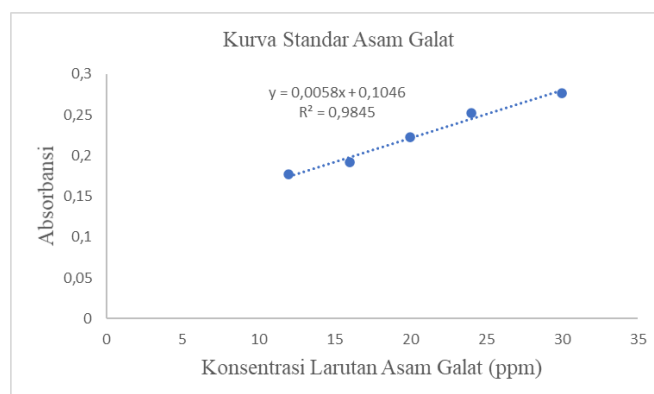
Dalam penelitian ini, ekstrak kental yang dihasilkan dari ekstrak daun cengkeh menggunakan berbagai jenis pelarut menunjukkan bahwa ekstrak akuades memiliki nilai tertinggi sebesar 88,62 gram, diikuti oleh etanol 96% sebesar 83,97 gram, dan etil asetat sebesar 60,59 gram. Kemudian dihitung Rendemen ekstrak berdasarkan hasil yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4
Hasil Rendemen Ekstrak Daun Cengkeh

Jenis Pelarut	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak Kental (g)	Hasil rendemen (%)	Warna
Ekstrak Akuades	400	88,62	22	Hijau kecoklatan
Ekstrak Etanol 96%	400	83,97	21	Hijau pekat
Ekstrak Etil Asetat	400	60,59	15,1	Hijau pekat

2. Kadar Total Fenol

Data hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi deret larutan standar asam galat pada konsentrasi 12,16,20,24,30 ppm diperoleh kurva standar asam galat yang disajikan pada Gambar 4.

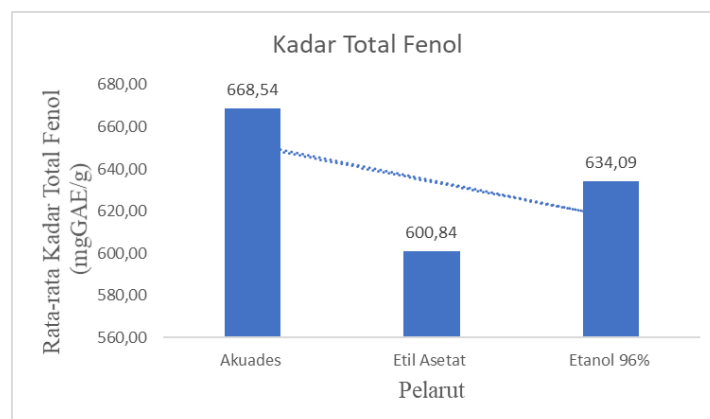


Gambar 4 Kurva Standar Asam Galat

Persamaan regresi linear yang diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat, yaitu $y = 0,0058x + 0,1046$ dengan nilai $R^2 = 0,9845$. Sumbu y merupakan nilai absorbansi dan sumbu x menunjukkan konsentrasi larutan standar asam galat. Persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standar asam galat pada gambar diatas kemudian digunakan untuk mengukur kadar total fenol dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh.

b. Hasil Pengukuran Kadar Total Fenol

Berdasarkan persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar asam galat, maka diperoleh nilai kadar total fenol pada Gambar 5.



Gambar 5 Kadar Total Fenol

Dari grafik yang disajikan, didapatkan hasil kadar total fenol dalam ekstrak akuades lebih tinggi daripada etanol 96% dan etil asetat, dengan nilai mencapai 571,38 mg/GAE/g. Sementara itu, etanol 96% memiliki kadar fenol sebesar 467,47 mg/GAE/g, dan etil asetat yang memiliki kadar fenol paling rendah, yakni 419,37 mg/GAE/g.

3. Aktivitas Antioksidan

a. Pengukuran Absorbansi

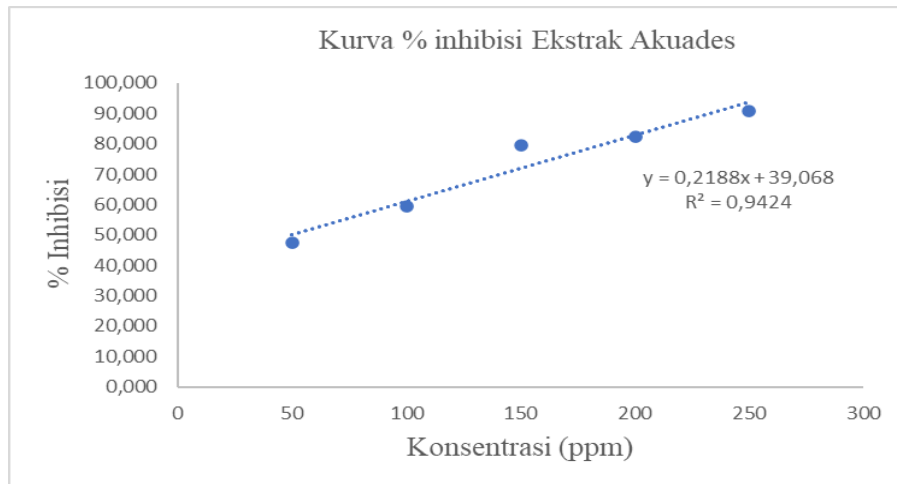
Nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 517 nm. Pengukuran absorbansi untuk setiap pelarut dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian, absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi sampel. Hasil absorbansi dan % inhibisi dari ketiga pelarut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5
Data Hasil Absorbansi Antioksidan dan % Inhibisi

Konsentrasi (ppm)	Perlakuan					
	Akuades		Etanol 96%		Etil Asetat	
	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi
50	0,353	47,457	0,386	42,558	0,373	44,416
100	0,271	59,584	0,309	53,989	0,287	57,224
150	0,139	79,367	0,266	60,374	0,207	69,103
200	0,119	82,189	0,164	75,517	0,143	78,766
250	0,062	90,859	0,083	87,599	0,071	89,398

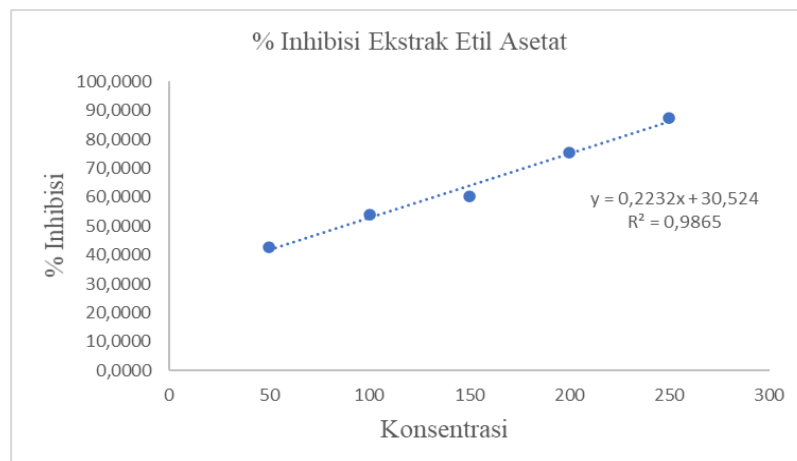
Berdasarkan pada Tabel 5 didapatkan kurva persamaan linear antara konsentrasi % inhibisi pada masing-masing ekstrak yang disajikan pada Gambar 6, 7 dan 8.

Persamaan linear akuades pada Gambar 6 menghasilkan $y = 0,2188x + 39,068$ dan nilai $R^2 = 0,9424$. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} dari sampel ekstrak akuades yaitu 49,96 $\mu\text{g/ml}$.



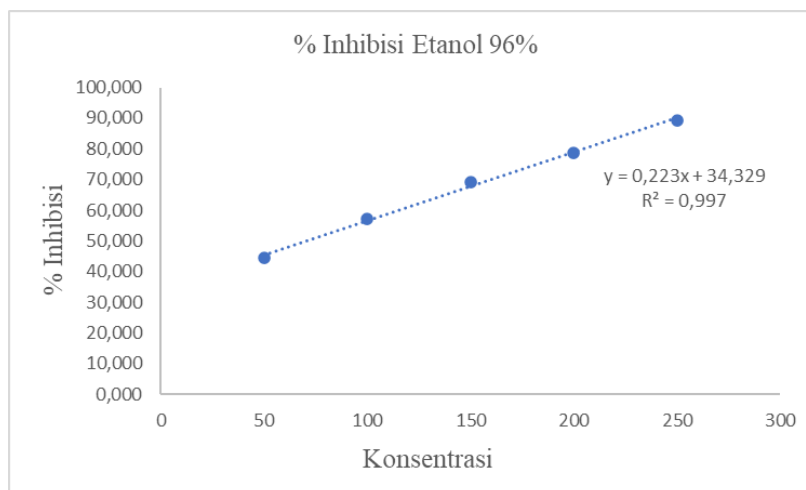
Gambar 6 % Inhibisi Ekstrak Akuades

Persamaan linear ekstrak etil asetat pada Gambar 7 menghasilkan $y = 0,2232x + 30,524$ dan nilai $R^2 = 0,9865$. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} dari sampel ekstrak etil asetat yaitu 87,25 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 7 % Inhibisi Ekstrak Etil Asetat

Persamaan linear ekstrak etanol 96% pada Gambar 8 menghasilkan $y = 0,223x + 34,329$ dan nilai $R^2 = 0,997$. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} dari sampel ekstrak etanol 96% yaitu 70,29 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 8 % Inhibisi Ekstrak Etanol 96%

Persamaan linear yang didapatkan dari kurva pada Gambar 6,7 dan 8 didapatkan nilai IC_{50} dan AAI (*Antioxidant Activity Index*) ekstrak akuades, etil asetat dan etanol 96% yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil nilai IC_{50} dan AAI

Sampel	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	AAI	Keterangan
Ekstrak Akuades	49,96	0,80	Antioksidan kuat
Ekstrak Etil Asetat	87,25	0,45	Antioksidan sedang
Ekstrak Etanol 96%	70,29	0,57	Antioksidan kuat

4. Analisis Data

a. Kadar Total Fenol

1) Uji Deskriptif

Uji deskriptif dilakukan menggunakan tiga pelarut berbeda pada ekstrak daun cengkeh yang melibatkan analisis statistik dan visualisasi data untuk memahami perbedaan dalam karakteristik kuantitatif dari masing-masing ekstrak.

Tabel 7

Uji Deskriptif Kadar Total Fenol

Variabel	r	Rata-rata (mg/GAE/g)	Std. Deviation
Akuades	3	668,54	267,53
Etil Asetat	3	600,84	347,58
Etanol 96%	3	634,09	271,58

Hasil analisis deskriptif pada Tabel 7 menunjukkan bahwa rata-rata kadar absorbansi pada kelompok pelarut akuades sebesar 668,54 dengan SD 267,53 pada kelompok pelarut etil asetat sebesar 600,84 dengan SD 347,58 dan pada kelompok pelarut etanol 96% sebesar 634,09 dengan SD 271,58. Standar Deviasi (SD) yang lebih kecil dari mean menunjukkan bahwa data cenderung tersebar mendekati rata-rata. Ini menandakan bahwa variasi antar nilai-nilai data relatif kecil, sehingga data-data tersebut tidak jauh dari nilai rata-rata atau pusat distribusi data.

2) Uji Normalitas

Normalitas diuji dengan metode uji *Saphiro-Wilk* khususnya untuk sampel yang berjumlah kurang dari 30. Hasil uji normalitas masing-masing kelompok dipaparkan pada Tabel 8.

Tabel 8
Uji Normalitas Kadar Total Fenol

Variabel	r	Rata-rata	p	Keterangan
Akuades	3	671,45	0,648	Normal
	3	667,97		
	3	666,19		
Etil Asetat	3	604,36	0,960	Normal
	3	600,76		
	3	597,41		
Etanol 96%	3	637,05	0,649	Normal
	3	633,52		
	3	631,71		

Berdasarkan pada tabel 8 dengan sig. $p > 0,05$ sehingga data kelompok kadar total fenol akuades, etil, dan etanol dinyatakan berdistribusi normal. Karena data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji One Way Anova untuk melihat apakah ada perbedaan antara tiga kelompok pelarut tersebut

3) Uji Homogenitas Data

Uji keseragaman bertujuan untuk mengetahui apakah variasi data merata di semua kelompok perlakuan sebelum melakukan analisis statistik lebih lanjut. Uji Levene digunakan untuk mengevaluasi kesamaan variasi antara variabel akuades, etil asetat dan etanol 96%. Hasil uji keseragaman tersebut akan disajikan dalam Tabel 9.

Tabel 9

Uji Homogenitas Data Kadar Total Fenol

Variabel	<i>p</i>	Keterangan
Kadar Total Fenol (TPC)	0,937	Homogen

Tabel 9 menunjukkan hasil uji homogenitas variabel akuades, etil asetat dan etanol 96% bahwa nilai *p-value* > 0,05 yang mengindikasikan bahwa data dikatakan homogen dalam variabilitas antara kelompok kadar total fenol

4) Uji One Way ANOVA

Uji One Way ANOVA merupakan teknik statistik yang membandingkan rata-rata dari tiga kelompok atau lebih yang independen secara signifikan. Tujuannya adalah untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara setidaknya satu pasang kelompok rata-rata.

Tabel 10

Uji One Way ANOVA Kadar Total Fenol

Variabel	<i>r</i>	TPC (mg GAE/g)	<i>p</i>
Akuades	3	671,45	0,000
		667,97	
		666,19	
Etil Asetat	3	604,36	0,000
		600,76	
		597,41	
Etanol 96%	3	637,05	0,000
		633,52	
		631,71	

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan menggunakan uji parametrik One Way Anova yang disajikan pada tabel 10 didapatkan nilai signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Karena signifikansi data < 0,05 maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan akuades, etil asetat dan etanol 96%.

5) Post Hoc Tests

Setelah dilakukan analisis menggunakan ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji Post-Hoc Tukey antar kelompok perlakuan karena terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$.

Tabel 11

Post Hoc Tests Kadar Total Fenol

Variabel	Akuades	Etanol 96%	Etil Asetat
Akuades	1,000	0,000	0,000
Etanol 96%	0,000	1,000	0,000
Etil Asetat	0,000	0,000	1,000

Berdasarkan pada tabel 11, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara pelarut akuades etanol 96% dan etil asetat dengan Sig. 0,000 yang berarti nilai $p < 0,05$.

b. Aktivitas Antioksidan

1) Uji Deskriptif

Uji deskriptif dilakukan menggunakan tiga pelarut berbeda pada ekstrak daun cengkeh yang melibatkan analisis statistik dan visualisasi data untuk memahami perbedaan dalam karakteristik kuantitatif dari masing-masing ekstrak.

Tabel 12

Uji Deskriptif Aktivitas Antioksidan

Aktivitas Antioksidan	Rata-Rata AAI	Std Deviation
Akuades	0,800	0,004
Etil Asetat	0,458	0,002
Etanol 96%	0,568	0,001

Berdasarkan Tabel 12, nilai rata-rata AAI didapatkan hasil uji deskriptif rata-rata kelompok pelarut yaitu pada akuades sebesar 0,80, Etil Asetat 0,46 dan etil asetat 0,57 dengan SD sebesar 0.151

2) Uji Normalitas

Normalitas diuji dengan metode uji *Saphiro-Wilk* khususnya untuk sampel yang berjumlah kurang dari 30. Hasil uji normalitas masing-masing kelompok dipaparkan pada Tabel 13.

Tabel 13

Uji Normalitas Aktivitas Antioksidan

Variabel	<i>p</i>	Keterangan
Akuades	0,220	Normal
Etil Asetat	0,463	Normal
Etanol 96%	0,000	Tidak Normal

Berdasarkan pada tabel 13 dengan salah satu sig. $p < 0,05$ pada etanol 96% sehingga data kelompok dinyatakan tidak berdistribusi normal. Karena data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik Kruskal wallis untuk melihat apakah terdapat perbedaan antara tiga kelompok pelarut tersebut

3) Uji Homogen

Uji keseragaman bertujuan untuk mengetahui apakah variasi data merata di semua kelompok perlakuan sebelum melakukan analisis statistik lebih lanjut. Uji Levene digunakan untuk mengevaluasi kesamaan variasi antara variabel akuades, etil asetat dan etanol 96%. Hasil uji keseragaman tersebut akan disajikan dalam Tabel 14

Tabel 14

Uji Homogen Aktivitas Antioksidan

Variabel	<i>p</i>	Keterangan
Aktivitas Antioksidan	0,034	Tidak Homogen

Tabel 14 menunjukkan hasil uji homogenitas variabel akuades, etil asetat dan etanol 96% bahwa nilai $p\text{-value} < 0,05$ yang mengindikasikan bahwa tidak homogen dalam variabilitas antara kelompok.

4) Uji Non Parametrik Kruskal Wallis

Uji one-way ANOVA adalah metode statistik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok yang independen secara signifikan. Metode ini digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan signifikan antara setidaknya dua kelompok dalam satu variabel dependen

Tabel 15

Uji Non Parametrik Kruskal Wallis

Aktivitas AntioksidanVariabel	<i>p</i>	Keterangan
Aktivitas Antioksidan	0,027	Terdapat Perbedaan Signifikan

Dari hasil analisis menggunakan uji non parametrik Kruskal Wallis, diperoleh nilai signifikansi sebesar ($p < 0,05$) antara setiap konsentrasi perlakuan. Karena nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan akuades, etil asetat, dan etanol 96% dengan aktivitas antioksidan

c. Korelasi antara Kadar Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

Tabel 16

Korelasi antara Kadar Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

	KadarTotal Fenol		Aktivitas Antioksidan	
	Pearson Correlation (r)	Sig.	Pearson Correlation (r)	Sig.
Kadar Total Fenol	1	-	-999	0,021

Aktivitas Antioksidan	-999	0,021	1	-
-----------------------	------	-------	---	---

Hasil analisis data statistic korelasi pearson pada Tabel 16 menunjukkan nilai koefisien korelasi Pearson yang negatif (-0,999) dengan nilai signifikansi 0,012 ($p < 0,05$).

B. Pembahasan

1) Ekstrak Daun Cengkeh

Dalam penelitian ini, proses ekstraksi serbuk simplisia daun cengkeh dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena merupakan teknik yang paling sederhana dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Metode ini mudah dilakukan, membutuhkan peralatan yang sederhana, lebih efisien secara biaya, dan tidak memerlukan pemanasan yang berlebihan, sehingga sampel tidak rentan terhadap degradasi atau kerusakan. Oleh karena itu, metode maserasi sangat cocok untuk digunakan dalam penelitian ini (Susanty dan Bachmid, 2016).

Dalam penelitian, dilakukan remaserasi sebanyak tiga kali selama 3x24 jam dengan menggunakan pelarut baru. Tujuannya adalah untuk meningkatkan proses pengambilan senyawa kimia yang mungkin masih tertinggal dalam sampel daun cengkeh setelah proses maserasi pertama. Ekstraksi kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C. Tujuannya adalah untuk memisahkan pelarut dari ekstrak yang dihasilkan, sehingga mendapatkan ekstrak yang lebih pekat. Hasil ekstrak pekat yang didapatkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemen ekstrak. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Besarnya rendemen ekstrak dari

suatu pelarut dipengaruhi juga oleh sifat kepolaran dari pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi serta tingkat kepolaran dari jumlah bahan yang di ekstrak yang memiliki polaritas yang sama.

Pada penelitian ini didapatkan hasil rendemen tertinggi ialah ekstrak akuades sebesar 22% diikuti dengan etanol 96% sebesar 21% sedangkan ekstrak yang paling rendah yaitu etil asetat sebesar 15,1%. Hal ini menunjukkan bahwa sampel daun cengkeh mengandung senyawa polar yang lebih besar karena kandungan lebih banyak terlarut dengan pelarut bersifat polar dibandingkan dengan pelarut semi polar. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rahmi dkk., 2021) yang menyatakan bahwa pelarut akuades menghasilkan rendemen tertinggi dan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen terendah. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Oleh karena itu rendemen ekstrak kental pada masing-masing ekstrak yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil rendemen memenuhi syarat $> 10\%$.

2) Kadar Total Fenol (TPC)

Pada penelitian ini pengukuran kadar fenolik total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu dengan 3 kali replikasi untuk mendapatkan hasil yang optimal. Pengukuran kadar total fenol menggunakan reagen Folin-Ciocalteu didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Reagen Folin-Ciocalteu mengandung asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat yang akan mengalami reduksi oleh polifenol menjadi molybdenum-tungsten. Sampel yang diuji mengalami oksidasi oleh molibdatungstate yang merupakan bagian dari reagen Folin-Ciocalteu,

sehingga menyebabkan perubahan warna dari kuning menjadi biru (Ardila, 2020).

Sebelum dilakukan penentuan kadar total fenol dengan metode Folin-Ciocalteu, terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang serapan maksimum. Hal ini dilakukan untuk menentukan panjang gelombang berapa asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu memberikan serapan maksimum yang paling tinggi. Pada penentuan panjang gelombang serapan maksimum digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 30 µg/ml. Dari hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis didapatkan panjang gelombang maksimum 768 nm.

Dalam pegujian kadar total fenol dibutuhkan asam galat dan pembuatan kurva kalibrasi standar. Asam galat digunakan sebagai larutan standar, karena asam galat merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Dari kurva kalibrasi larutan standar asam galat diperoleh hasil persamaan garis linear $Y = 0,0058x + 0,1046$. Dan koefisien korelasi (r^2) = 0,9845 hasil tersebut menunjukkan terdapat hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi. Nilai (r) yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear.

Kadar total fenol diperoleh dari perhitungan nilai absorbansi sampel yang sudah di rata-rata. Hasil rata-rata sampel dianalisis dengan persamaan garis linear asam galat (%) dan rumus TPC (GAE/mg). Berdasarkan hasil penelitian penetapan kadar total fenol ekstrak akuades, etil asetat dan etanol 96% didapatkan hasil kadar total fenol tertinggi pada ekstrak akuades sebesar 668,54 mg GAE/g diikuti dengan etanol 96% sebesar 634,09 mg/GAE/g, dan etil asetat yang memiliki kadar fenol paling rendah, yakni 600,84 mg/GAE/g.

3) Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Aktivitas antioksidan sampel diukur pada panjang gelombang terbesar, yaitu 517 nm, karena DPPH menunjukkan penyerapan yang signifikan pada panjang gelombang tersebut. Pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang tertentu dilakukan untuk mencapai sensitivitas maksimal dan mengurangi kesalahan pengukuran, karena perubahan penyerapan pada panjang gelombang tersebut paling signifikan untuk setiap perubahan konsentrasi.

Hasil pada tabel 5 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin rendah nilai absorbansinya. Penurunan ini disebabkan oleh interaksi antara antioksidan dan radikal bebas DPPH, yang mengakibatkan absorbansi rata-rata menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi, karena nilai tersebut merupakan sisa radikal bebas. Sedangkan pada %inhibisi semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi juga % inhibisi, dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang menghambat radikal bebas.

Kurva % inhibisi dibuat dengan mengukur absorbansi pada setiap sampel dengan berbagai konsentrasi, seperti 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm, setelah ditambahkan volume tetap larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Waktu inkubasi ini penting karena merupakan waktu di mana larutan uji dapat menetralkan radikal bebas DPPH, mencapai titik optimal dalam reaksi. Penggunaan larutan kontrol DPPH 0,1 mM dalam pengukuran aktivitas antioksidan menjadi sangat penting, karena berperan sebagai patokan untuk menilai aktivitas antioksidan pada sampel yang diuji. Berdasarkan hasil pengukuran diketahui bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka semakin

semakin besar pula kemampuan penghambatan sampel terhadap radikal DPPH. Kemampuan penghambatan sampel terhadap radikal DPPH dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dari % kurva inhibisi yang disajikan pada gambar 6-8. Hal ini ditunjukkan dengan semakin menurunnya intensitas warna larutan DPPH seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH menunjukkan adanya reaksi antara atom hydrogen dilepaskan sampel dengan molekul radikal yang terkandung dalam DPPH sehingga dapat menghasilkan senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning dan lebih stabil (Habibah *et al.*, 2023).

Dari nilai kurva % inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*). Setelah diperoleh nilai IC_{50} kemudian dihitung nilai AAI (*Antioxidant activity index*) dari masing-masing ekstrak untuk menggolongkan sifat antioksidan. Nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*) diperoleh dari persamaan regresi linier sedangkan AAI (*Antioxidant activity index*) ditentukan dengan membandingkan antara konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji (ppm) dengan nilai IC_{50} yang diperoleh (ppm) dari masing-masing ekstrak. Jika nilai $AAI < 0,5$ antioksidan bersifat lemah, $AAI > 0,5-1$ antioksidan bersifat sedang, $AAI > 1-2$ antioksidan bersifat kuat, dan $AAI > 2$ antioksidan sangat kuat (Firdaus, 2013).

Hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak berdasarkan nilai IC_{50} pada uji statistik non parametrik Kruskal Wallis terdapat perbedaan signifikan dengan $p < 0,05$. Hasil ekstrak akuades sebesar 49,96 memiliki antioksidan sangat aktif karena memiliki nilai > 50 ppm, diikuti dengan ekstrak

etanol 96% dan etil asetat diperoleh nilai sebesar 70,29 dan 87,25 memiliki antioksidan kategori aktif karena memiliki nilai berkisar 50-100. Setelah menggunakan nilai IC_{50} , hasil aktivitas antioksidan juga dapat dievaluasi menggunakan metode AAI (*Antioxidant activity index*). AAI memberikan gambaran holistik tentang potensi antioksidan sampel dalam menggunakan IC_{50} dan AAI dapat memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai antioksidan suatu sampel. Hasil AAI pada ekstrak akuades sebesar 0,80 dan ekstrak etanol 0,57 memiliki kategori antioksidan sedang. Sedangkan, pada ekstrak etil asetat memiliki kategori antioksidan lemah karena memiliki nilai $AAI < 0,5$ yaitu sebesar 0,45.

4) Perbedaan jenis pelarut terhadap Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan

Efektifitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama (Prayoga dkk., 2019). Hasil penelitian kadar total fenol berdasarkan uji statistik oneway ANOVA dan uji non parametrik Kruskal Wallis pada aktivitas antioksidan terdapat perbedaan yang signifikan antara kepolaran pelarut dengan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan dengan $p < 0,05$.

Kandungan total fenol dan antioksidan dalam ekstrak akuades lebih tinggi daripada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat dari daun cengkeh. Hal ini disebabkan oleh sifat polar dari sebagian besar senyawa aktif fenolik yang terdapat dalam daun cengkeh. Kepolaran suatu molekul diketahui dari harga momen dipolnya. Semakin besar harga momen dipol, semakin polar senyawa

yang bersangkutan, Oleh karena itu, ekstrak akuades, memiliki momen dipol yang tinggi sebesar 1,85 sebagai senyawa yang paling polar dibandingkan dengan pelarut polar lainnya, dapat mengekstraksi lebih banyak senyawa fenol, termasuk senyawa kompleks fenol yang terdapat dalam daun cengkeh. Selain itu, banyak senyawa fenolik cenderung larut dalam air karena ikatannya dengan senyawa lain seperti gula (Habibah and Ratih, 2023). Sebaliknya, dalam ekstrak etanol 96% dengan momen dipol sebesar 1,8 memiliki kepolaran lebih rendah dengan dibandingkan dengan akuades, terdapat kandungan fenol yang lebih sedikit. Hal ini karena kemampuan selektivitasnya yang lebih rendah dalam mengekstraksi senyawa fenol (Hartanti, Ashari dan Warsidah, 2021). Penelitian ini sejalan dengan (Febryanto G, Suryanto dan Irma M, 2015) dan (Dewantara, Ananto dan Andayani, 2021) mengatakan bahwa kandungan total fenolik ekstrak empelur sagu batang baruk menggunakan akuades sebagai pelarut lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut etanol. Sementara itu, pelarut etil asetat dengan momen dipol sebesar 1,78 merupakan pelarut yang bersifat semi polar, sehingga kemampuan untuk mengekstrak senyawa aktif fenolik yang bersifat polar cenderung kurang optimal.

5) Korelasi antara Kadar Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

Senyawa fenolik dikenal sebagai zat antioksidan yang efektif. Senyawa tersebut memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada karbon dalam cincin tersebut. Gugus hidroksil ini secara langsung berperan dalam aktivitas antioksidan dan berkontribusi dalam menangkap radikal bebas, karena gugus hidroksil dapat menyumbangkan atom hidrogen yang membantu menstabilkan senyawa radikal bebas.

Pada penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akuades memiliki kandungan total fenol paling besar yaitu 668,54 mgGAE/g dan IC_{50} paling rendah yaitu 49.96 $\mu\text{g/ml}$, diikuti dengan total fenol ekstrak etanol 96% sebesar 634,09 mgGAE/g dan IC_{50} sebesar 70.29 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan etil asetat memiliki kandungan total fenol paling rendah yaitu 600,84 mgGAE/g dan nilai IC_{50} yang paling tinggi 87.25 $\mu\text{g/ml}$

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan, selanjutnya dilakukan uji korelasi Pearson untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fenol. Hasil analisis data statistik menunjukkan nilai koefisien korelasi Pearson yang negatif (-0,999) dengan nilai signifikansi 0,012 ($p < 0,05$) berdasarkan uji korelasi antara kandungan total fenol dengan aktivitas antioksidan. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara nilai total fenolik dan aktivitas antioksidan sampel, karena nilai koefisien mendekati -1. Hubungan ini ditandai dengan nilai korelasi yang negatif, menunjukkan adanya hubungan terbalik antara aktivitas antioksidan dengan total fenol.

Hasil analisis data dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi kandungan total fenolik, semakin rendah nilai IC_{50} pada sampel ekstrak akuades, etil asetat, dan etanol 96%. Artinya, semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan. Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Sylvia, Putri Anggraeni dan Pratiwi, 2020) yang menyatakan bahwa semakin meningkatnya total fenol maka nilai antioksidan IC_{50} akan semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai total fenol maka semakin kuat aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Berdasarkan analisis korelasi

dapat diasumsikan bahwa terdapat hubungan erat antara kandungan total fenol dan nilai IC_{50} metode DPPH penelitiannya ini sejalan dengan (Nurhadi dkk., 2020) mengatakan bahwa senyawa golongan fenol memiliki aktivitas antioksidan yang penting, semakin besar kandungan senyawa total fenol maka semakin besar juga aktivitas antioksidannya.