

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT FLAVONOID
FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
HASIL KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA AYU SILVIANA
NIM. 19630054**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT FLAVONOID
FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
HASIL KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA AYU SILVIANA
NIM. 19630054**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT FLAVONOID
FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
HASIL KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA AYU SILVIANA
NIM. 19630054**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 13 Juni 2023**

Pembimbing I



**Dr. Suci Amalia, M.Sc
NIP. 19821104 200901 2 007**

Pembimbing II



**Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia**



**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT FLAVONOID
FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
HASIL KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA AYU SILVIANA
NIM. 19630054**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Juni 2023**

**Ketua Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Anggota Penguji I : Rif'atul Mahmudah, M.Si
NIDT. 19830125 20160801 2 068**

**Anggota Penguji II : Dr. Suci Amalia, M.Sc
NIP. 19821104 200901 2 007**

**Anggota Penguji III : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**

(.....
Ghanaim Fasya
.....)

(.....
Rif'atul Mahmudah
.....)

(.....
Dr. Suci Amalia
.....)

(.....
Ahmad Hanapi
.....)

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia**


**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200301 2 010**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aprilia Ayu Silviana

NIM : 19630054

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Flavonoid
Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
Hasil Kromatografi Kolom

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali yang mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 Mei 2023
Yang membuat pernyataan,



Aprilia Ayu Silviana
NIM. 19630054

MOTTO

“Jangan menunggu! Tak ada waktu yang tepat untuk memulai. Mulailah dari titik dimana Anda berdiri dan kemampuan yang Andaa miliki. Kemampuan yang lebih baik akan muncul dalam perjalanan” – Napoleon Hill

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT berkat kasih sayang dan ridha-Nya mengizinkan saya melewati satu tahap yang sangat berharga dan berarti buat saya. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua saya, Ibu Indayani dan Bapak Suharto yang setiap hari selalu memanjatkan doa terbaik untuk saya, memberikan semangat, mengingatkan makan dan istirahat serta dukungan yang luar biasa baik material maupun non material, sehingga penelitian dan skripsi saya ini dapat terselesaikan dengan baik. Ibu, bapak terima kasih banyak atas usaha yang telah kau usahakan untuk anakmu ini, semoga selalu diberikan kesehatan dan umur panjang agar selalu bisa menemani perjalananku sampai sukses. Ibu bapak semoga anakmu ini secepatnya bisa membahagiakan kalian. Amiin.

Kepada nenek saya Sakinah dan seluruh keluarga besar saya yang selalu mendoakan dan memberikan semangat selama saya kuliah.

Bapak dan Ibu dosen dan seluruh laboran di Program Studi Kimia yang telah memberikan ilmu, wawasan, dan pengetahuan selama saya studi. Khususnya ibu Dr. Suci Amalia, M.Sc, Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si, Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si, Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc. Saya ucapkan terima kasih sudah memberikan banyak masukan dan saran dalam penulisan skripsi dan penelitian ini. Terima kasih juga kepada Bapak Abi yang sudah membantu saya dalam penelitian.

Diri sendiri yang telah berjuang sampai tahap ini, terima kasih sudah mampu berada di tahap ini, melewati dan menaklukkan semua struggle yang terjadi hingga bisa menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Terima kasih juga untuk laptop saya yang sudah selalu mau diajak kompromi sehingga dapat membantu saya dalam mengerjakan skripsi.

Selanjutnya saya ucapkan terima kasih juga untuk orang-orang baik dan tulus yang sudah dikirimkan untuk menemani perjalanan saya. Kepada sahabat saya Elfa dan Maiko yang selalu mensupport saya dalam segala hal. Teman kecil saya Dhila dan Krisna yang sudah sangat peduli dan caring dengan pengerjaan skripsi

saya. Lili dan Ninit membantu saya dalam penelitian ini. Genk KOLIS (Kost Elis)

(Fifi, Ratna, Rahma, Lely, Navida) yang sudah menjadi supporter terbaik.

Kepada semua teman-teman yang melakukan penelitian di Lab Organik yang sudah mau membantu, meminjamkan barang, menghibur dan banyak hal. Terima

kasih juga untuk teman-teman Angkatan'19 dan kakak tingkat. Saya ucapkan

terima kasih semoga kalian selalu dalam lindungan Allah SWT, diberikan

kesehatan, panjang umur, dan kesuksesan. Amiin

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT FLAVONOID FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.) HASIL KROMATOGRAFI KOLOM”**. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang diridhai Allah SWT. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini, penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua tercinta yang telah memberikan kasih sayang, nasihat, doa, dan dukungan baik secara moril maupun materil.
2. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ilam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Dr. Suci Amalia, M.Sc selaku pembimbing kimia yang memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat dalam penulisan skripsi ini.
6. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku pembimbing agama yang memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat dalam penulisan skripsi ini.

7. Seluruh pihak yang ikut membantu, memberikan doa, motivasi, dukungan, dan semangat kepada penulis.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. penulis sangat menerima kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi dapat bermanfaat bagi semua pembaca, Amin.

Malang, 26 Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tumbuhan Jeringau (<i>Acorus calamus L.</i>)	7
2.2 Senyawa Flavonoid	10
2.3 Metode Ekstraksi Sonikasi	12
2.4 Hidrolisis dan Partisi	15
2.5 Kromatografi Kolom	18
2.6 Monitoring Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	19
2.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer FTIR	21
2.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	23
2.9 Antioksidan	23
2.10 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	25
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.2.1 Alat	27
3.2.2 Bahan.....	27
3.3 Rancangan Penelitian	28
3.4 Tahapan Penelitian	28
3.5 Cara Kerja	29
3.5.1 Preparasi Sampel Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus L.</i>).....	29

3.5.2	Penentuan Kadar Air secara Thermogravimetri	29
3.5.3	Ekstraksi Ultrasonik Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	29
3.5.4	Hidrolisis dan Partisi.....	30
3.5.6	Uji Fitokimia pada Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	32
3.5.6.1	Uji Flavonoid.....	32
3.5.6.2	Uji Tanin.....	32
3.5.6.3	Uji Alkaloid.....	33
3.5.6.4	Uji Saponin	33
3.5.6.5	Uji Steroid dan Terpenoid	33
3.6	Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer FTIR.....	34
3.7	Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	34
3.8	Uji Aktivitas Antiksidan dengan Metode DPPH.....	34
3.8.1	Pembuatan Larutan Kontrol.....	34
3.8.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		36
4.1	Preparasi dan Penentuan Kadar Air Sampel Rimpang Jeringau	36
4.2	Ekstraksi Menggunakan Metode Sonikasi Rimpang Jeringau	37
4.3	Hidrolisis dan Partisi Rimpang Jeringau	38
4.4	Kromatografi Kolom	40
4.5	Uji Fitokimia Rimpang Jeringau	42
4.5.1	Uji Flavonoid	42
4.5.2	Uji Alkaloid.....	44
4.5.3	Uji Tanin	46
4.5.4	Uji Saponin	48
4.5.5	Uji Steroid dan Terpenoid.....	49
4.6	Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Kolom dengan FTIR.....	51
4.7	Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Kolom dengan UV-Vis.....	54
4.8	Uji Aktivitas Antioksidan.....	57
4.8.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	57
4.8.2	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Isolat Hasil Kolom.....	58
4.9	Pemanfaatan Rimpang Jeringau dalam Perspektif Islam	59
BAB V PENUTUP		63
5.1	Kesimpulan.....	63
5.2	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA		64
LAMPIRAN.....		78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	8
Gambar 2. 2 Struktur dasar senyawa flavonoid	10
Gambar 2. 3 Reaksi senyawa flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg	12
Gambar 2. 4 Reaksi hidrolisis glikosida	16
Gambar 2. 5 Spektra IR senyawa flavonoid dari rimpang Jeringau	22
Gambar 2. 6 Spektrum UV-Vis isolat flavonoid dari rimpang Jeringau.....	23
Gambar 2. 7 Reaksi Reduksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan.....	25
Gambar 4. 1 Rimpang Jeringau.....	36
Gambar 4. 2 Ekstrak pekat etanol rimpang Jeringau	38
Gambar 4. 3 Terbentuknya Gas CO ₂ pada proses hidrolisis.....	39
Gambar 4. 4 Hasil monitoring KLTA isolat kolom dibawah sinar UV 366 nm...	42
Gambar 4. 5 Hasil uji fitokimia flavonoid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom.....	44
Gambar 4. 6 Hasil uji fitokimia alkaloid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom.....	45
Gambar 4. 7 Gambar reaksi dugaan senyawa alkaloid dengan (a) reagen Mayer (b) reagen Dragendroff dan (c) reagen Wagner	46
Gambar 4. 8 Reaksi antara senyawa tanin dengan FeCl ₃	47
Gambar 4. 9 Hasil uji fitokimia tanin (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom.....	48
Gambar 4. 10 Dugaan reaksi uji senyawa saponin	49
Gambar 4. 11 Hasil uji fitokimia saponin pada (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom	49
Gambar 4. 12 Reaksi senyawa steroid dan terpenoid	50
Gambar 4. 13 Hasil uji fitokimia steroid dan terpenoid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom	51
Gambar 4. 14 Serapan panjang gelombang ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom.....	52
Gambar 4. 15 Hasil Spektra UV-Vis ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom.....	55
Gambar 4. 16 Panjang gelombang maksimum DPPH	58

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Aktivitas Farmakologis Rimpang Jeringau.....	9
Tabel 2. 2	Ciri khas dari klasifikasi flavonoid	11
Tabel 2. 3	Penggunaan metode sonikasi dalam ekstraksi senyawa flavonoid	13
Tabel 2. 4	Hasil rendemen dari ekstraksi rimpang Jeringau tim penelitian	14
Tabel 2. 5	Hasil rendemen fraksinasi rimpang Jeringau tim penelitian	17
Tabel 2. 6	Golongan senyawa flavonoid berdasarkan bercak noda pada KLT	20
Tabel 2. 7	Ketentuan Kekuatan Antioksidan	26
Tabel 2. 8	Interpretasi hasil FTIR isolat flavonoid rimpang Jeringau.	22
Tabel 4. 2	Hasil monitoring KLTA isolat kolom fraksi etil asetat.....	41
Tabel 4. 3	Hasil uji fitokimia rimpang Jeringau	42
Tabel 4. 4	Hasil serapan panjang gelombang pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat kolom	51
Tabel 4. 5	Data spektra UV-Vis	54
Tabel 4. 6	Hasil nilai IC ₅₀ isolat hasil kromatografi kolom	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	78
Lampiran 2 Diagram Alir.....	79
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Larutan.....	87
Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	91
Lampiran 5 Hasil Instrumentasi FTIR	98
Lampiran 6 Data Hasil Instrumen UV-Vis	100
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian.....	102

ABSTRAK

Silviana, A. A. 2022. **Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Flavonoid Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Hasil Kromatografi Kolom**. *Proposal Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Suci Amalia, M.Sc; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Si

Kata Kunci: *Acorus calamus L.*, Flavonoid, Sonikasi, Kromatografi Kolom, Antioksidan

Acorus calamus L. dikenal dengan “*sweet flag*” merupakan anggota famili *Acoracea* yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) memiliki kandungan metabolit sekunder, salah satunya yaitu senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas farmakologi yang dilakukan untuk pengujian antioksidan. Penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan yang terkandung dalam fraksi etil asetat rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*).

Isolasi senyawa flavonoid dalam rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) dilakukan dengan ekstraksi sonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 47 kHz menggunakan pelarut etanol 70%, selanjutnya dihidrolisis dengan HCl 2 N selama 60 menit pada suhu ruang dan dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Kemudian, dilakukan pengujian senyawa flavonoid. Selanjutnya, dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana:etil asetat 7:3 dan dimonitoring menggunakan KLTA. Hasil pemisahan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan UV-Vis serta di lakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan konsentrasi 10,20,30,40,50 ppm.

Ekstraksi dan partisi menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 12,12% dan 17,09%. Uji fitokimia ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid. Isolat hasil kromatografi kolom diduga positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya noda berwarna ungu dan R_f 0,45. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari isolat hasil kromatografi kolom sebesar 28,891 ppm (sangat kuat). Hasil analisis UV-Vis menunjukkan serapan hasil kromatografi kolom pada daerah 342 nm (pita I) dan 256 nm (pita II) dan hasil FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=C aromatik, C-H aromatik, C=O ulur karbonil, C-H alifatik, C-O alkohol sekunder, C=O alkil keton, dan C-O-C *stretching*.

ABSTRACT

Silviana, A. A. **Isolation and Antioxidant Activity Test of Flavonoid Isolate Ethyl Acetate Fraction of Jeringau Rhizome (*Acorus Calamus* L.) Column Chromatography Results.** *Thesis Proposal*. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: Dr. Suci Amalia, M.Sc; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Si

Keyword: *Acorus calamus* L., Flavonoids, Sonication, Column Chromatography, Antioxidant

Acorus calamus L. known as "sweet flag" is a member of the Acoraceae family which is widely used as traditional medicine. Jeringau rhizome (*Acorus calamus* L.) contains secondary metabolites, one of which is flavonoid compounds. Flavonoid compounds have pharmacological activity which is carried out for antioxidant testing. This study was conducted to determine the content of flavonoid compounds and to test the antioxidant activity contained in the ethyl acetate fraction of Jeringau rhizome (*Acorus calamus* L.).

Isolation of flavonoid compounds from Jeringau (*Acorus calamus* L.) rhizome was carried out by sonication extraction for 30 minutes at a frequency of 47 kHz using 70% ethanol, then hydrolyzed with 2 N HCl for 60 minutes at room temperature and partitioned using acetylate solvent. Then tested the flavonoid compounds. Then separated using column chromatography with n-hexane:ethyl acetate 7:3 and monitored using KLTA. The combined results were assisted by using FTIR and UV-Vis spectrophotometers and carrying out antioxidant activity tests using the DPPH method with concentrations of 10, 20, 30, 40, 50 ppm.

Extraction and partitioning produce yields of 12,12% and 17,09%, respectively. Phytochemical test of 70% ethanol extract and ethyl acetate fraction contained flavonoids. Column chromatography isolates were suspected to be positive for flavonoid compounds with purple stains and Rf 0,45. The antioxidant activity resulting from column chromatography isolates was 28,891 ppm (very strong). The results of UV-Vis analysis showed the absorption of column chromatography results in the region of 342 nm (band I) and 256 nm (band II) and the FTIR results showed the presence of functional groups O-H, C=C aromatic, C-H aromatic, C=O carbonyl, C-H aliphatic, C-O secondary alcohol, C=O alkyl ketone and C-O-C stretching.

مستخلص البحث

سيلفيانا، أ. أ. ٢٠٢٢. الاعزل و اختبار عزل ونشاط مضادة الأكسدة للفلافونويد المعزول جزء من أسيتات الإيثيل من جذمور الوج (*Acorus calamus L.*) نتيجة كروماتوغرافيا العمود. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. سوجي أماليا، الماجستير. المشرف الثاني: أحمد حنفي، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: وج، مركب الفلافونويد، الصوتنة، كروماتوغرافيا العمود، مضادة الأكسدة.

يعرف الوج باسم "القصب العطري" هو عضو في عائلة *Acoraceae* التي تستخدم على نطاق واسع كطب تقليدي. جذمور الوج (*Acorus calamus L.*) يحتوي على مستقلبات ثانوية، أحدها مركب الفلافونويد. مركب الفلافونويد له نشاط دوائي يتم إجراؤه لاختبار مضادة الأكسدة. كان هذا البحث لمعرفة محتوى مركب الفلافونويد واختبار نشاط مضادة الأكسدة الموجود في جزء من أسيتات الإيثيل من جذمور الوج.

تم عزل مركب الفلافونويد في جذمور الوج (*Acorus calamus L.*) عن طريق استخراج صوتنة لمدة ٣٠ دقيقة بتردد ٤٧ كيلو هرتز باستخدام مذيب إيثانول ٧٠٪، وتحلل مائيا باستخدام HCl2N لمدة ٦٠ دقيقة في درجة حرارة الغرفة وتقسيمها باستخدام مذيب أسيتات الإيثيل. ثم، تم إجراء اختبار مركب الفلافونويد. علاوة على ذلك، تم فصله باستخدام كروماتوغرافيا العمود مع المقارنة ن-هكسان : أسيتات الإيثيل بقيمة ٧ : ٣ ومراقبته باستخدام KLTA. تم تحديد نتائج الفصل باستخدام مقاييس الطيف الضوئي FTIR و UV-Vis وتم إجراء اختبار نشاط مضادة الأكسدة باستخدام طريقة DPPH بتركيزات ١٠، ٢٠، ٣٠، ٤٠، ٥٠ جزء في المليون.

أسفر الاستخراج والتقسيم عن عوائد بنسبة ١٢,١٢% و ١٧,٠٩% على التوالي. يحتوي الاختبار الكيميائي النباتي لمستخرجة الإيثانول بنسبة ٧٠% وجزء أسيتات الإيثيل على مركب الفلافونويد. يشتهر في أن العزلات من كروماتوغرافيا العمود إيجابية لمركب الفلافونويد ذات البقع الأرجوانية وقيمة Rf ٠,٤٥. بلغ نشاط مضادة الأكسدة الناتج عن عزلات كروماتوغرافيا العمود ٢٨,١٨٠١ جزء في المليون (قوي جدا). أظهرت نتائج تحليل الأشعة المرئية وفوق البنفسجية امتصاص نتائج كروماتوغرافيا العمود في مناطق ٣٤٢ نانومتر (النطاق الأول) و ٢٥٦ نانومتر (النطاق الثاني) وأظهرت نتائج FTIR وجود مجموعات وظيفية O-H و C = O عطرية و C-H عطرية و C = O تمتد الكربونيل و C-H أليفاتيك و C-O كحول ثانوي و C = O ألكيل كيتون و C-O-C تمتد.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Megabiodiversitas merupakan salah satu julukan untuk negara Indonesia, karena keanekaragaman hayatinya yang tersebar dari Sabang sampai Merauke. Keanekaragaman hayati di Indonesia menempati posisi tertinggi kedua dengan 30.000 jenis tanaman (Salim dan Munadi, 2017). Sekitar 9.600 spesies tanaman tersebut diketahui berkhasiat sebagai obat dan 300 spesies lainnya sudah dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan obat tradisional (Larasati *et al.*, 2019). Sebagaimana pada firman Allah SWT dalam Surat asy-Syua'ara ayat 7:

وَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. asy-Syua'ara: 7).

Berdasarkan potongan ayat di atas, dapat dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan semuanya memiliki manfaat masing-masing termasuk tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Berdasarkan penafsiran dari M. Quraish Shihab dalam kitab *Tafsir Al-Misbah* زَوْجٌ memiliki arti pasangan. Pasangan yang dimaksud merupakan pasangan tumbuh-tumbuhan yang mana tumbuhan memiliki benang sari dan putik untuk pertumbuhan dan perkembangannya dan كَرِيمٍ memiliki arti baik. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Salah satu manfaat tumbuhan yang bisa digunakan adalah sebagai pengobatan.

Tumbuhan yang diciptakan Allah dengan berbagai manfaat yang diberikan, salah satunya yaitu Jeringau. Jeringau atau dikenal dengan “*sweet flag*” merupakan

anggota famili *Acoraceae* yang habitat awalnya dari negara India, Cina, dan Amerika (Loying *et al.*, 2019). Jeringau termasuk tumbuhan rempah-rempah yang banyak digunakan oleh masyarakat luas sebagai bahan obat tradisional, seperti obat diare, disentri, serta cacingan (Gholkar, 2013). Jeringau juga dapat digunakan sebagai pengobatan bronkitis, depresi, penyakit kulit, batuk, demam, tumor, diabetes, dan sebagai penangkal beberapa racun (Loying *et al.*, 2019). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa rimpang Jeringau memiliki aktivitas farmakologi sebagai antibakteri (Mughtaromah *et al.*, 2019), antioksidan (Devi & Ganjewala, 2011), antidiabetes (Chakraborty *et al.*, 2020), antiinflamasi (Safrina, 2018), dan antimikroba (Rita *et al.*, 2019).

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L) antara lain glikosida, polifenol (Chandra & Prasad, 2017), alkaloid, terpenoid (Sofyan *et al.*, 2017), steroid (Mughtaromah *et al.*, 2019), *acorin*, *calamin*, *calameneol*, *cholin*, dan *sesquiterpen* (Hendrajaya, 2013). Selain itu, pada bagian daun dan rimpangnya terdapat kandungan senyawa saponin, flavonoid, tanin, kalsium oksalat, protein, dan minyak atsiri (Ali *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian Anisah *et al.* (2014) ekstrak etanol dan air rimpang Jeringau positif alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Mamta & Jyoti (2012) menjelaskan bahwa ekstrak metanol rimpang jeringau positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, dan triterpenoid.

Babar *et al.* (2020) menyatakan bahwa rimpang Jeringau memiliki kadar flavonoid paling tinggi. Senyawa flavonoid merupakan kelompok polifenol yang terbesar, yang dapat ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan, seperti akar, daun, serbuk sari, nektar, bunga, buah dan biji (Jumiati *et al.*, 2022). Kandungan senyawa

flavonoid dari rimpang jeringau tersebut memiliki aktivitas farmakologi yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Saman (2013) melakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol senyawa flavonoid rimpang Jeringau yang menghasilkan IC_{50} sebesar 28,393 ppm yang membuktikan bahwa dapat digunakan sebagai pengobatan atau antioksidan alami.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mengikat radikal bebas serta molekul yang efektif dan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi (Malangngi *et al.*, 2012). Radikal bebas yang terlalu banyak dalam sistem tubuh dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, DNA, dan mengakibatkan penyakit degeneratif (Dwimayasanti, 2018). Oleh karena itu, diperlukan keseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan yang dibutuhkan tubuh supaya tetap sehat (Sen *et al.*, 2010). Senyawa flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan menangkap radikal bebas secara langsung melalui penangkapan superoksida, sehingga dapat mengurangi kerusakan sel yang disebabkan oleh peningkatan radikal bebas. Selain itu, senyawa flavonoid juga dapat mencegah oksidasi asam lemak dan LDL dalam darah (Yunarto *et al.*, 2019). Sofyan *et al* (2017) melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada rimpang Jeringau menghasilkan kadar flavonoid sebesar 33,76% b/b dengan nilai IC_{50} sebesar 0,22 mg/mL. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi kadar senyawa flavonoid nilai IC_{50} semakin rendah dan aktivitas antioksidannya semakin besar.

Senyawa flavonoid dari rimpang Jeringau didapatkan melalui metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode sonikasi. Metode sonikasi merupakan metode yang digunakan dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik (Anugraini *et al.*, 2018). Kelebihan dari metode sonikasi yaitu waktu

ekstraksi cepat, jumlah rendemen yang dihasilkan lebih besar, pelarut yang digunakan lebih sedikit (H. Handayani et al., 2016). Hikmawanti *et al* (2021) melakukan pengujian kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun katuk dengan metode ekstraksi maserasi, soxhletasi, dan sonikasi diperoleh hasil metode sonikasi paling tinggi sebesar 12,05 mgQE/g.

Hasil ekstraksi simplisia dilanjutkan dengan hidrolisis dan partisi. Hidrolisis berfungsi untuk memecah ikatan glikosida sehingga dapat diperoleh hasil yang lebih spesifik. Sedangkan partisi berfungsi untuk mengikat metabolit sekunder yang memiliki kesamaan kepolaran pelarut (Fasya *et al.*, 2016). Partisi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat karena beberapa jenis flavonoid seperti flavon, flavonols, flavonon, dan flavanol bersifat semi polar sehingga akan lebih larut dalam pelarut yang bersifat semi polar (Ardiningsih & Nofiani, 2012; Panche *et al.*, 2016). Yumni *et al* (2022) melakukan penelitian partisi ekstrak etanol 70% menggunakan pelarut etil asetat dan air. Hasilnya menunjukkan bahwa positif flavonoid pada fraksi etil asetat dengan kadar total $47 \pm 3,026$ mgQE/gram ekstrak.

Senyawa flavonoid pada rimpang Jeringau diisolasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom untuk mendapatkan hasil yang lebih murni. Selanjutnya, isolat dimonitoring dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) untuk mengetahui tingkat kemurnian yang didapat. Muhridja (2016) melakukan isolasi dengan kromatografi kolom dan dimonitoring menggunakan KLT memperoleh isolat yang positif senyawa flavonoid.

Isolat hasil kromatografi kolom diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung dalam isolat rimpang Jeringau. Kemudian, dilakukan uji aktivitas

antioksidan pada isolat menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena metode analisisnya bersifat mudah, cepat, sensitifitasnya tinggi, serta sampel yang dibutuhkan sedikit (Wulansari, 2018).

Berdasarkan uraian di atas penelitian ini menggunakan sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang diekstraksi dengan metode sonikasi. Ekstrak yang dihasilkan dihidrolisis dan dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Hasil partisi kemudian diisolasi menggunakan kromatografi kolom dan dimonitoring menggunakan KLTA. Setelah itu, isolat diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan UV-Vis serta dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Ditinjau dari uji aktivitasnya kebanyakan peneliti melakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar rimpang Jeringau, sehingga dalam penelitian digunakan isolat hasil kromatografi kolom sebagai pembaharuan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil pemisahan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan kromatografi kolom?
2. Bagaimana hasil identifikasi isolat flavonoid fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan Spektrofotometer FTIR dan UV-Vis?
3. Bagaimana hasil uji aktivitas antioksidan isolat flavonoid fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan kromatografi kolom.

2. Untuk mengetahui hasil identifikasi isolat flavonoid fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan instrumen FTIR dan UV-Vis.
3. Untuk mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan isolat flavonoid fraksi etil asetat rimpang Jeringau dengan menggunakan metode DPPH.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) berasal dari Semarang Jawa tengah.
2. Ekstraksi menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol 70%.
3. Uji Fitokimia rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dilakukan pada senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid.
4. Pemisahan senyawa menggunakan kromatografi kolom dengan eluen n-heksana : etil asetat 7:3 serta dimonitoring KLTA.
5. Identifikasi isolat flavonoid menggunakan instrumen FTIR dan UV-Vis.
6. Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai kandungan senyawa flavonoid yang terkandung dalam rimpang Jeringau, memberikan informasi mengenai hasil isolat flavonoid menggunakan kromatografi kolom, serta mengenai potensi antioksidan isolat flavonoid yang dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) merupakan anggota famili *Acoraceae* dan terkenal sebagai tanaman obat (Loying *et al.*, 2019). Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki nama lain yaitu *A. Terretris Spreng* dan *Var Verus*. Menurut Loying *et al* (2019) tumbuhan Jeringau berasal dari Cina, India, dan Amerika. Seiring perkembangan zaman Jeringau tersebar ke berbagai negara melalui jalur perdagangan rempah-rempah. Setiap daerah memiliki nama masing-masing untuk tanaman Jeringau seperti dlingo (Jawa), jerango (Batak-Karo), jariango (Banjar), jeureunge (Aceh), jerango (Gayo), serango (Nias), areango (Bugis), jharingo (Kangean), jharongo (Madura), kareango (Makassar), jangu (Bali), kaliraga (Flores), daring (Ambon), bila (Buru), dan layambung (Minahasa) (Achmad, 2010).

Jeringau merupakan tumbuhan separa berair dan herba menahun dengan tinggi sekitar 75 cm. Jeringau mempunyai rimpang dengan bau yang khas, berbentuk silinder dan diameternya antara 19 sampai 25 mm. Tumbuhan ini mempunyai ciri batang basah, pendek, dan membentuk rimpang. Rimpang dari Jeringau memiliki kulit berwarna cokelat muda dan putih dibagian dalamnya (Sukmawati, 2012). Jeringau memiliki daun tunggal dan tebal dengan ujung runcing, bentuknya lanset, tepi rata dengan panjang 60 cm dan lebar 5 cm. Terdapat bunga yang berbentuk silinder dengan panjang 3 – 8 cm yang terletak di ketiak daun

berwarna coklat kehijauan dan ditutupi oleh banyak duri. Adapun klasifikasi tanaman Jeringau sebagai berikut (Umamaheshwari & Rekha, 2018).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Acorales
Famili : Acoraceae
Genus : Acorus L.
Spesies : *calamus*



Gambar 2. 1 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) (Sharma *et al.*, 2020).

Tanaman Jeringau memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, terutama bagian Rimpang dari Jeringau dimanfaatkan sebagai obat bronkitis, penyakit kulit, batuk, wasir, peradangan, diabetes, penangkal beberapa racun (Loying *et al.*, 2019), sakit perut, dispepsia, disentri pada anak-anak (Joshi *et al.*, 2012). Etnis Batak Simalungun dan Batak Karo memanfaatkan Jeringau sebagai obat demam (Silalahi, 2018). Menurut Silalahi (2018) sejak zaman dahulu rimpang Jeringau sudah dimanfaatkan dalam pengobatan Ayurveda dan Siddha. Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan tersebut erat kaitannya dengan kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalamnya (Aida *et al.*, 2011).

Tabel 2. 1 Aktivitas Farmakologis Rimpang Jeringau

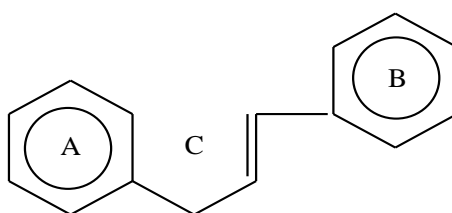
Aktivitas Farmakologis	Hasil Penelitian	Referensi
Antibakteri	Ekstrak etanol rimpang Jeringau terdapat kandungan alkaloid, flavonoid, dan saponin memiliki aktivitas zona hambat pada <i>Escherichia coli</i> sebesar 31,21 mm dan zona hambat pada <i>Staphylococcus aureus</i> sebesar 33,16 mm.	Viogenta <i>et al.</i> , 2018
Antiinflamasi	Ekstrak etanol rimpang Jeringau merah terdapat kandungan flavonoid, fenol alkaloid, minyak atsiri, saponin, dan tanin memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap radang kaki tikus dengan dosis ekstrak 450 mg/kgBB dan daya inflamasi sebesar 34,20%.	Safrina & Susanti, 2018
Antioksidan	Ekstrak metanol rimpang Jeringau merah dan rimpang jeringau putih terdapat kandungan flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan, IC rimpang jeringau merah lebih besar daripada IC rimpang jeringau putih yaitu sebesar 0,22 mg/mL.	Sofyan <i>et al.</i> , 2017
Antikanker	Ekstrak metanol rimpang Jeringau mampu menghambat garis sel kanker makrofag murine dan garis limfoma sel B	Rajput <i>et al.</i> , 2014

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam Jeringau cukup banyak. Bagian daun Jeringau mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Bagian rimpangnya mengandung tanin dan minyak atsiri. Muthulakshmi *et al* (2015) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etil asetat rimpang Jeringau dan diperoleh hasil positif alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan terpenoid. Barua *et al* (2014) menjelaskan bahwa pada ekstrak etanol rimpang Jeringau tingkatan paling tinggi terdapat kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan senyawa fenolik.

Pada tingkatan sedang terdapat senyawa tanin dan alkaloid, pada tingkatan paling rendah terdapat senyawa steroid. Nanda (2014) melakukan uji ekstrak rimpang Jeringau diperoleh kadar senyawa aktif tanin 2,5 mg GAE, flavonoid

dengan kadar 32,6 mg GAE, dan kadar fenolik 23,6 mg GAE. Devi & Ganjewala (2011) melakukan ekstrak metanol rimpang Jeringau yang menyatakan positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan proantosianidin. Berdasarkan penelitian terdahulu, kandungan bioaktif rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

2.2 Senyawa Flavonoid



Gambar 2. 2 Struktur dasar senyawa flavonoid (Illing, 2017)

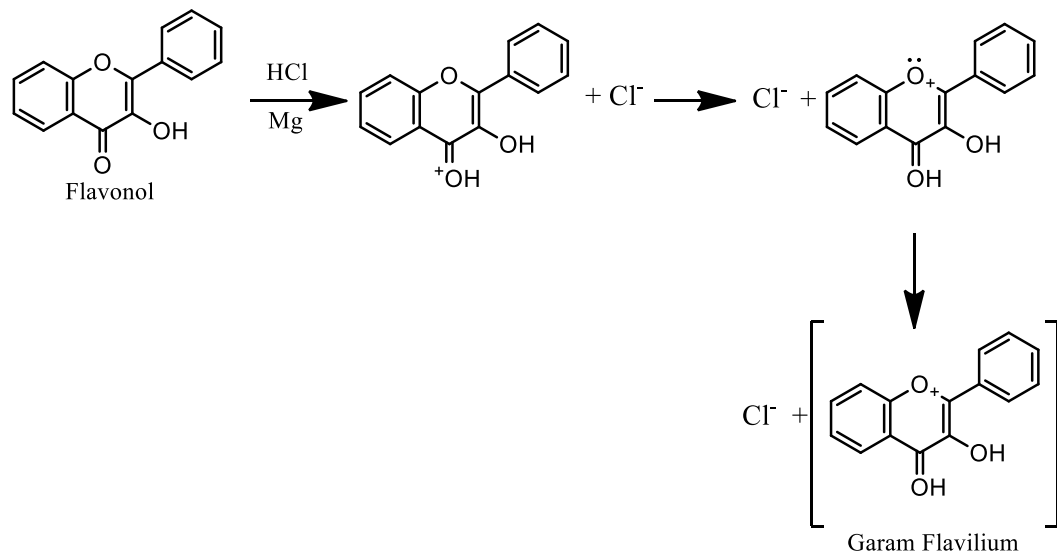
Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, yang tersusun dua cincin benzena tersubstitusi (gugus C₆) dan disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon, sehingga susunan konfigurasi C₆-C₃-C₆. Flavonoid dalam jumlahnya sangat banyak, bahkan lebih dari 9000 flavonoid telah ditemukan dan memiliki potensi dalam bidang farmakologi (Arifin & Ibrahim, 2018). Beberapa tanaman yang dilakukan pengujian aktivitas farmakologis senyawa flavonoidnya antara lain, senyawa flavonoid dari *G. glandulosum* menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri (Tagousop *et al.*, 2018), senyawa flavonoid dari bunga sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan memiliki potensi sebagai antikanker (Rengarajan *et al.*, 2020), senyawa flavonoid dari daun mangga memiliki aktivitas antiinflamasi (Anisa *et al.*, 2019). Secara umum flavonoid terdiri dari flavanon, flavon, flavonol, dan isoflavon. Perbedaan klasifikasi ini yang menyebabkan aktivitas

farmakologinya beragam (Alfaridz & Amalia, 2018). Klasifikasi dari flavonoid memiliki ciri khas masing-masing yang ditunjukkan pada tabel 2.2 (Harbone, 1987).

Tabel 2. 2 Ciri khas dari klasifikasi flavonoid

Golongan Flavonoid	Ciri Khas
Flavonol	Terdapat bercak kuning pada kromatogram forestall setelah dihidrolisis; spektrum maksimal pada 350-386 nm.
Flavon	Terdapat bercak coklat pada kromatogram forestall setelah dihidrolisis; spektrum maksimal pada 330-350 nm.
Flavanon	Berwarna merna kuat dengan Mg/HCl; memiliki serapan dengan panjang masimum 275-290 nm
Isoflavon	Tidak terdapat warna yang khas; spektrum maksimal pada 255-265 nm

Uji flavonoid dengan metode Wilstater digunakan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam sampel bahan alam dengan penambahan HCl pekat dan logam Mg (Arifin & Ibrahim, 2018). Penambahan HCl pekat dan logam Mg tersebut bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron senyawa flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna jingga, kuning atau merah (Illing, 2017). Warna tersebut sesuai dengan jenis kandungan flavonoid dalam sampel larutan. Warna merah hingga jingga mengidentifikasi golongan flavon, warna kuning kemerahan mengidentifikasi golongan kalkon, dan warna merah mengidentifikasi golongan flavonol atau flavanon (Mariana & Andayani, 2013). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl pekat dengan logam Mg yang ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Reaksi senyawa flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg (Candra *et al.*, 2021).

2.3 Metode Ekstraksi Sonikasi

Metode sonikasi merupakan suatu metode ekstraksi berbagai senyawa dengan menggunakan gelombang ultrasonik (Anugraini *et al.*, 2018). Frekuensi ultrasonik berkisar antara 20 kHz – 100 MHz, dengan frekuensi efektif antara 20 – 50 kHz (Candani *et al.*, 2018; Wen *et al.*, 2018). Gelombang ultrasonik (sonikasi) dapat digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu sampel dengan prinsip pemecahan dinding sel (Candani *et al.*, 2018).

Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik yaitu meningkatkan transfer massa yang disebabkan oleh kavitasi ultrasonik (D. K. Sari *et al.*, 2012). Kavitasi terjadi karena efek yang diakibatkan oleh radiasi gelombang ultrasonik di dalam cairan (Susilo *et al.*, 2010). Kavitasi ultrasonik ini terdiri dari tiga tahap yaitu pembentukan gelembung, pertumbuhan gelembung, dan pecahnya gelembung. Pertama pertumbuhan gelembung, kavitasi akan dihasilkan dari partikel gelembung

mikro. Kedua, gelembung-gelembung mikro akan tumbuh besar dan cepat akibat adanya intensitas gelombang ultrasonik yang tinggi. Hal ini dikarenakan gelembung akan melewati beberapa siklus akustik. Ketiga, adanya gelombang tekanan osilasi yang mengenai cairan, sehingga mengakibatkan gelembung akan pecah (Nurfitriyana, 2012). Gelembung kavitasi yang pecah menyebabkan terjadinya perubahan tekanan dan suhu.

Metode sonikasi memiliki keunggulan dalam mempercepat proses reaksi, meningkatkan jumlah rendemen kasar (H. Handayani et al., 2016), pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit (Turrini *et al.*, 2018), suhu yang lebih rendah dapat meminimalisir senyawa target (Quiroz *et al.*, 2019). Beberapa penelitian ekstraksi senyawa flavonoid menggunakan metode sonikasi ditunjukkan dalam Tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Penggunaan metode sonikasi dalam ekstraksi senyawa flavonoid

Sampel	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
Rimpang ilalang	Ultrasonik	Metode ultrasonik dengan frekuensi 47 kHz dan waktu 30 menit menghasilkan kadar total flavonoid sebesar 90,91 mgQE/g.	Suhendra <i>et al.</i> , 2019
Rimpang jahe	Ultrasonik	Metode ultrasonik dengan suhu 65 ⁰ C selama 11 menit menghasilkan total flavonoid sebesar 492,57 ± 3,5 mg QE/g	Murphy <i>et al.</i> , 2020
Rimpang kencur	Maserasi dan ultrasonik	Metode ultrasonik selama 30 menit menghasilkan kadar total flavonoid sebesar 397,09 ± 7,86 mg EK/L	Kiptiyah <i>et al.</i> , 2021
Daun gonda	Ultrasonik	Metode ultrasonik dengan suhu 45 ⁰ C selama 20 menit mampu menghasilkan total flavonoid sebesar 47,93 mg QE/g.	Hartanti <i>et al.</i> , 2021
Daun katuk	Maserasi, soxhletasi, dan ultrasonik	Metode ultrasonik dengan frekuensi 50 Hz pada suhu 40 ⁰ C selama 45 menit menghasilkan kadar flavonoid total tertinggi sebesar 12,05 mgQE/g.	Hikmawanti <i>et al.</i> , 2021

Tabel 2. 4 Hasil rendemen dari ekstraksi rimpang Jeringau tim penelitian

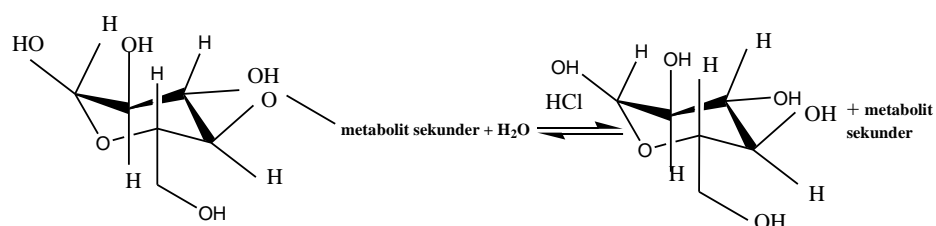
Sampel	Metode	Pelarut	Waktu Ekstraksi	Rendemen	Referensi
Rimpang Jeringau	Sonikasi	Etanol	30 menit	16,67%	Fithrony, 2021
Rimpang Jeringau	Sonikasi	Air Metanol Etanol Etil asetat Petroleum eter	30 menit	20,435%; 15,574%; 14,365%; 4,421%; 3,409%	Kusuma, 2021
Rimpang Jeringau	Sonikasi	Etanol 70%	30 menit	18,73%	Jannah, 2022
Rimpang Jeringau	Sonikasi	Etanol 70%	30 menit	14,55%	Afriani, 2022

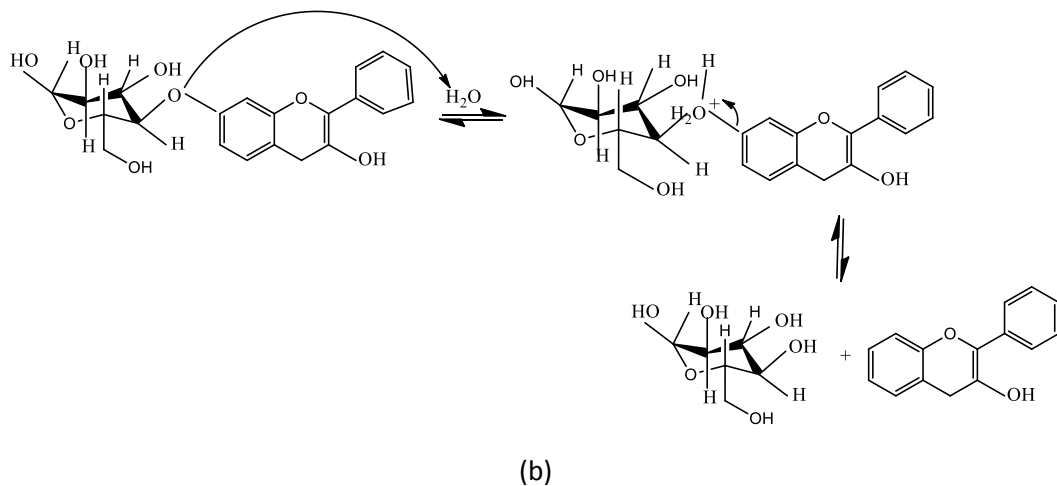
Selain dari metode ekstraksi, pelarut yang digunakan juga mempengaruhi perolehan kadar flavonoid. Senyawa flavonoid dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan gula sehingga bersifat polar. Pelarut polar yang sering digunakan untuk ekstraksi flavonoid yaitu etanol, metanol, etil asetat, aseton, air, dan isoproponal. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% karena polaritas etanol semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasinya. Sehingga semakin banyak senyawa flavonoid yang terikat dan menghasilkan kadar lebih besar (Riwanti *et al.*, 2018). Widarta & Arnata (2017) melaporkan bahwa ekstraksi daun alpukat menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan kadar total flavonoid 93,97 mg/g. Penelitian Hartanti *et al* (2021) juga melaporkan bahwa ekstraksi daun gonda dengan variasi pelarut etanol 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%. Pelarut 70% menghasilkan paling banyak total flavonoid pada pelarut etanol 70% sebesar 47,93 mg QE/g.

2.4 Hidrolisis dan Partisi

Pemisahan senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik dilakukan dengan hidrolisis dan partisi. Reaksi hidrolisis merupakan proses pemutusan ikatan glikosida menggunakan media air sehingga menghasilkan senyawa yang sederhana (Adhiatama *et al.*, 2012). Senyawa metabolit sekunder yang ada pada bahan alam umumnya memiliki bentuk glikosida yang terdiri dari komponen gula (glikon) dan komponen bukan gula (aglikon) (Mardiyah *et al.*, 2014), sehingga untuk mengubah glikosida menjadi aglikon perlu dilakukan proses hidrolisis agar memperoleh senyawa flavonoid yang bebas dari gula (Mawaddah, 2019). Menurut Rahmawati (2017) hidrolisis akan berjalan lambat jika hanya menggunakan air, sehingga perlu katalisator untuk mempercepat reaksi. Katalis yang digunakan pada proses hidrolisis yaitu asam klorida (HCl) dan asam sulfat (H₂SO₄) (Mardiyah *et al.*, 2014).

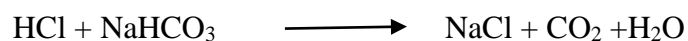
Penggunaan katalis HCl lebih sering digunakan karena sifatnya yang sangat reaktif dibandingkan H₂SO₄ (Sadimo *et al.*, 2017). Selain itu, HCl tergolong asam kuat yang mudah melepaskan proton (H⁺) secara sempurna dalam air, sedangkan asam lemah lebih sukar melepaskan proton (H⁺). Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, semakin kuat peran proton dalam pemutusan ikatan glikosida (Fasya *et al.*, 2016). Selain itu garam yang dihasilkan dari penetralan dengan NaHCO₃ tidak berbahaya yaitu NaCl (Fithrony, 2021). Reaksi saat proses hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 2.5.





Gambar 2. 4 Reaksi hidrolisis glikosida secara umum (a) dan hidrolisis glikosida dengan flavonol (b) (Mardiyah *et al.*, 2014)

HCl yang ditambahkan akan membentuk suasana asam yang kemudian dinetralkan dengan NaHCO_3 . Penetralkan harus dilakukan karena reaksi hidrolisis bersifat reversible, yang mana ikatan glikosida antara glikon dan aglikon yang sudah terurai dapat terbentuk kembali jika reaksi tersebut tidak dihentikan dengan cepat. Reaksi netralisasi tersebut akan menghasilkan produk samping berupa garam NaCl , ditunjukkan dengan reaksi dibawah ini (Fasya *et al.*, 2018):



Hasil dari proses hidrolisis dilanjutkan dengan partisi. Partisi dilakukan agar ekstraksi yang dihasilkan memperoleh hasil yang lebih murni. Prinsip dari partisi adalah perbedaan distribusi solut dua fase pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda menyebabkan tidak saling campur (Majidah, 2019). Hidrosilat ditambahkan dengan pelarut etil asetat dan dilakukan pengocokan agar senyawa organik dapat larut dalam fase air ke fase organik. Hasil dari proses partisi terbentuk dua lapisan yaitu fasa organik (lapisan atas) dan fasa air (lapisan bawah) (Fasya *et al.*, 2018). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etil asetat. Etil asetat

merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa semi polar di dinding sel dengan tingkat kepolaran 4,4 (Anova & Yeni, 2020). Sifat etil asetat yang semi polar diharapkan dapat menarik senyawa flavonoid seperti flavonon, flavonol, dan isoflavon yang bersifat semi polar (Satolom, 2015). Beberapa penelitian tentang penggunaan pelarut etil asetat dalam partisi. Ritna *et al* (2016) menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksana dalam partisi senyawa flavonoid benalu batu didapatkan hasil bahwa fraksi n-heksana setelah dilakukan pengujian dengan reaksi pew tidak mengandung senyawa flavonoid dan pada fraksi etil asetat setelah diuji dengan reaksi pew positif flavonoid. Satolom (2015) melaporkan bahwa senyawa flavonoid pada biji pinang yakni yang dihasilkan dari fraksi etil asetat sebesar 11,365 mg/L sedangkan pada fraksi heksana sebesar 1,400 mg/L. Penelitian Parwata *et al* (2022) melaporkan bahwa fraksi etil asetat *Gyrinops versteegii* menghasilkan kadar flavonoid total paling tinggi sebesar 840,12 mg/QE/100 gram, pada fraksi heksana kadar flavonoid total yang diperoleh sebesar 136,27 mg/QE/100 gram dan fraksi kloroform didapatkan kadar flavonoid total sebesar 30,04 mg/QE/100 gram.

Tabel 2. 5 Hasil rendemen fraksinasi rimpang Jeringau tim penelitian

Metode	Waktu Ekstraksi	Pelarut Partisi	Rendemen	Referensi
Ultrasonik	30 menit	n-heksana	23,24%	Fithrony, 2021
		Etil asetat	2,67%	
		Air	53,44%	
Ultrasonik	30 menit	Etil asetat	10,80%	Jannah, 2022
Ultrasonik	30 menit	Etil asetat	10,80%	Afriani, 2022

2.5 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan preparatif yang dapat menghasilkan isolat dalam jumlah yang besar (Fasya *et al.*, 2018). Prinsip kromatografi kolom yaitu pemisahan yang didasarkan pada prinsip adsorpsi (Sari, 2017). Pemisahan kromatografi kolom dilakukan dengan melarutkan sampel pada pelarut kemudian dimasukkan ke dalam kolom melalui puncak kolom dan larutan mengalir ke dalam fase diam secara terus menerus hingga terjadi pemisahan (Silaa *et al.*, 2019). Efisiensi pemisahan kromatografi kolom dipengaruhi oleh eluen, diameter kolom, laju alir, dan adsorben. Pemisahan yang efisien dilakukan dengan memperkecil jumlah sampel dalam proses elusi dan panjang kolom. Diameter kolom kromatografi paling efisien adalah sebesar 1 cm dengan panjang kolom yaitu 50 cm (Fasya, *et al.*, 2018) dengan kecepatan laju alir 2 mL/menit (Fitri, 2017). Adsorben yang digunakan dalam pemisahan ini yaitu silika gel. Silika gel digunakan sebagai fase diam. Silika gel sebagai fase diam dipilih karena sangat inert, hidrofobik, dan mempunyai kestabilan terma (Sulastri, 2009).

Pemisahan senyawa flavonoid kromatografi kolom dengan eluen yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda dari fasa gerak dengan sifat kepolaran non polar ke pelarut polar dengan tujuan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks pada sampel yang memiliki kisaran polaritas luas (Jannah, 2022). Menurut Rosyidah *et al* (2022) perbandingan eluen yang menghasilkan hasil yang baik yaitu n-heksana:etil asetat (7:3) untuk pemisahan ekstrak n-heksana dan n-heksana:etil asetat (6:4) untuk pemisahan ekstrak etil asetat dan metanol. Muhridja (2016) melakukan pemisahan senyawa flavonoid rimpang Jeringau dengan perbandingan eluen yang digunakan n-heksan 100%, n-

heksan:etil asetat (7:3), n-heksan:etil asetat (6:4), etil asetat:metanol (7:3), etil 100%, etil asetat:metanol (6:4), metanol:etil asetat (6:4), metanol 100%, di peroleh 49 fraksi.

2.6 Monitoring Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Hasil isolat yang didapatkan kemudian dimonitoring menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA). Prinsip KLT didasarkan pada pemisahan senyawa yang menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Oktaviantari *et al.*, 2019). Fasa diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄ nm dan fasa gerak yang digunakan n-heksana dan etil asetat. Penggunaan KLT memiliki tujuan untuk mengelompokkan fraksi-fraksi yang diperoleh berdasarkan kesamaan profil kandungan kimia dari bercak KLT yang terbentuk dengan nilai *Retention factor (Rf)* (Ilyas *et al.*, 2015). Nilai *Rf* yang sama antara satu senyawa dengan lainnya, maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip (Sopiah *et al.*, 2019). Identifikasi dari senyawa yang terpisah dilakukan menggunakan nilai *Rf* sebagai dasar penggabungan isolat hasil kromatografi kolom dapat dilakukan dengan persamaan 2.1 (Kusmiyati *et al.*, 2011):

$$\text{Harga } Rf = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots(2.1)$$

Tabel 2. 6 Golongan senyawa flavonoid berdasarkan bercak noda pada KLT (Markham, 1988)

Warna bercak dengan sinar UV		Golongan Senyawa Flavonoid
Sinar UV	Sinar UV + NH ₃	
Lembayung gelap	Kuning, hijau-kuning atau hijau	Flavon (5-OH) atau flavonol (tersubstitusi pada 3-O) dan 4'-OH. Sedikit ditemukan 5-OH flavanon dan 4'-OH khalkon tanpa OH pada cincin B.
	Sedikit perubahan warna dan tidak ada perubahan warna	Flavon atau flavonol dengan 5-OH tanpa 4'-OH bebas. Flavon 6-atau 8-OH dan flavonol tersubstitusi pada 3-O dengan 5-OH. Isoflavon, dihidroflavonol, biflavonil, dan beberapa flavanon dengan 5-OH. Kalkon dengan 2'- atau 6'-OH tanpa 2- atau 4-OH bebas. Beberapa flavanon 5-OH. Kalkon dengan 2- dan/atau 4-OH.
Fluoresensi biru muda	Biru muda Merah atau jingga	Flavon dan flavanon yang tidak memiliki 5-OH bebas. Flavonol (tersubstitusi pada 3-OH) tanpa 5-OH bebas. Isoflavon tanpa 5-OH bebas.
	Fluoresensi hijau-kuning atau hijau-biru	
Tidak nampak	Fluoresensi biru muda	Isoflavon tanpa 5-OH bebas.
Kuning pucat dan kuning atau fluoresensi jingga	Sedikit perubahan warna atau tidak ada perubahan warna	Flavonol (3-OH bebas) dengan atau tanpa 5-OH bebas.
Fluoresensi kuning, hijau-kuning, hijau-biru, atau hijau	Jingga atau merah Sedikit perubahan warna atau tanpa perubahan	Auron (4'-OH bebas) dengan 2- atau 4-OH. Auron tanpa 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas. Flavonol (3-OH bebas) dengan atau tanpa 5-OH bebas.

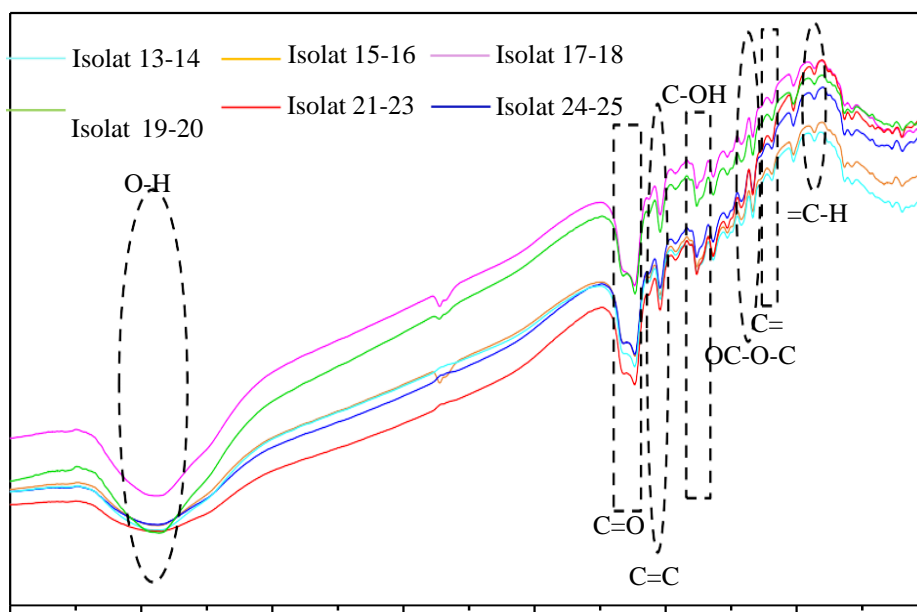
Isolat hasil monitoring KLTA dapat dideteksi juga dengan menyemprotkan ammoniak pada noda/spot yang dihasilkan dan diamati dibawah sinar UV 366 nm untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid (Yadnya Putra *et al.*, 2020). Yuda *et*

al (2017) melaporkan bahwa noda yang terbentuk berwarna kuning coklat setelah diuapkan dengan ammonia dan berfluorensi biru pada UV 366 nm merupakan senyawa flavonoid, yang mana sebelum diuapkan dengan ammonia terdapat noda berfluorensi berwarna biru muda dan setelah diuapkan mengalami sedikit perubahan warna menjadi biru muda maka jenis flavonoid yang mungkin yaitu isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas.

2.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer FTIR

Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan instrumen yang digunakan untuk mengetahui vibrasi molekul dalam memprediksi struktur senyawa kimia (Sarau *et al.*, 2012) dengan memanfaatkan radiasi sinar inframerah. Prinsip kerja FTIR yaitu interaksi antara energi dan materi. Sinar inframerah yang ditembakkan pada celah sampel, diserap oleh sampel dan menghasilkan gerak vibrasi. Selanjutnya ditransmisikan melalui permukaan sampel dan sinar inframerah yang lolos ke detektor akan direkam sehingga menghasilkan puncak spektrum (Sari & Fajri, 2018; Fithrony, 2021). Fourier Transformed Infrared (FTIR) digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa, dan menganalisis campuran dari sampel. Pada spektrum gelombang elektromagnetik daerah inframerah berada pada panjang gelombang 14000 cm^{-1} sampai 10-1. Berdasarkan panjang gelombang tersebut, inframerah terbagi menjadi 3 daerah, yaitu IR yang peka terhadap overtone pada panjang gelombang (14000-4000 cm^{-1}), IR yang berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul (4000-400 cm^{-1}), dan IR untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat pada panjang gelombang (400-10 cm^{-1}) (Ilyas *et al.*, 2015)(Sari & Fajri, 2018).

Jannah (2022) mengidentifikasi isolat flavonoid dari rimpang Jeringau yang ditunjukkan pada Gambar 2.5 menghasilkan gugus fungsi yang diduga senyawa flavonoid golongan flavonol 5,7,3',4'-Tetrahidroksi flavonol dan diinterpretasikan pada Tabel 2.7.



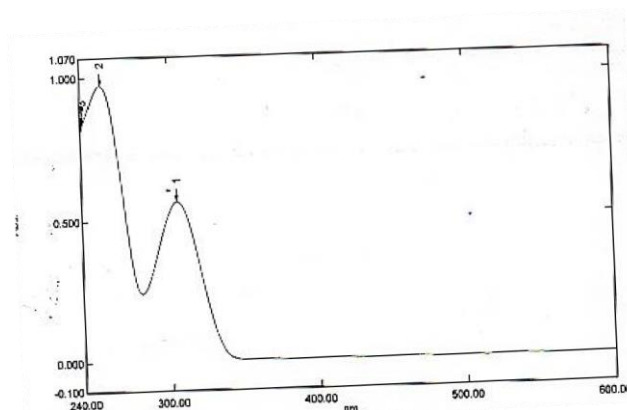
Gambar 2. 5 Spektrogram IR senyawa flavonoid dari rimpang Jeringau (Jannah, 2022)

Tabel 2. 7 Interpretasi hasil FTIR isolat flavonoid kromatografi rimpang Jeringau (Jannah, 2022).

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)						Literatur (Socrates, 1994)	Gugus fungsi
13-14	15-16	17-18	19-20	21-23	24-25		
3447	3435	3437	3431	3422	3436	3580-3200	O-H ulur
1522	1522	1522	1522	1522	1522	1525-1470	C=C aromatik
1382	1382	1382	1382	1382	1382	1390-1330	C-OH ulur fenol
1168	1168	1168	1168	1168	1168	1310-1020	C-O-C ulur
1098	1098	1098	1098	1099	1099	1125-1085	C-O ulur alkohol sekunder
934	935	934	935	935	935	1000-800	=C-H tekuk (alkena)

2.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektroskopi UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Prinsip kerja spektroskopi UV-Vis berdasarkan transisi tingkat energi dari rendah ke tinggi atau disebut dengan eksitasi akibat penyerapan sinar UV-Vis oleh molekul. Panjang gelombang sinar ultraviolet berada pada rentang 200 – 400 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang 400 - 800 nm. Senyawa flavonoid memiliki panjang gelombang yang berbeda-beda. Flavonol mempunyai panjang gelombang 350-385 nm pada pita pertama dan pada pita kedua pada panjang gelombang 250-280 nm (Rahayu *et al.*, 2015), flavon pada panjang gelombang 330-350 nm, flavanon pada panjang gelombang 275-290 nm, dan isoflavon pada panjang gelombang 255-265 nm. Muhridja (2016) mengidentifikasi isolat flavonoid rimpang Jeringau menggunakan spektrofotometer UV-Vis, didapatkan 2 pita pada serapan gelombang 304,78 dan 253,76 nm.



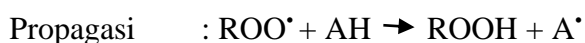
Gambar 2. 6 Spektrum UV-Vis isolat flavonoid dari rimpang Jeringau (Muhridja, 2016)

2.9 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Amin *et al.*, 2016).

Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa radikal sehingga dapat menghambat aktivitas radikal tersebut (Hani & Milanda, 2016). Secara umum, antioksidan terbagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis (Amin *et al.*, 2016). Antioksidan alami hampir banyak ditemukan pada semua tanaman, mikroorganisme, maupun hewan sedangkan antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis reaksi kimia, seperti butil hidroksi toluene (BHT) dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) (Rahmi, 2017). Penggunaan antioksidan sintesis cenderung memiliki negatif bagi kesehatan tubuh (Cahyani *et al.*, 2020).

Mekanisme dari antioksidan sendiri pada umumnya adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahapan, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Arifin, 2021).



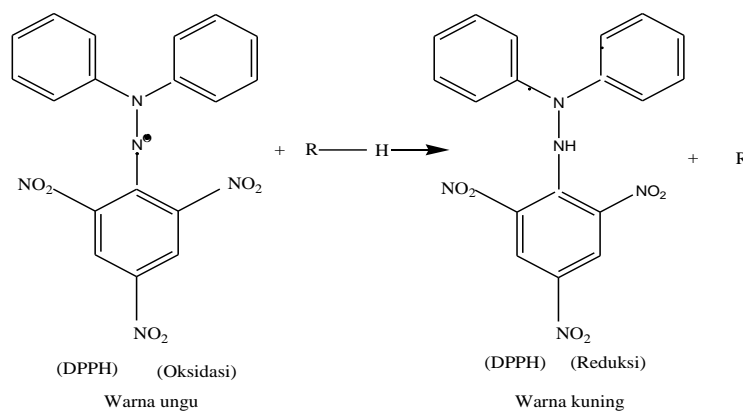
Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas (Novita *et al.*, 2010)

Radikal antioksidan (A^\bullet) yang dihasilkan dalam proses tersebut jauh lebih sedikit reaktif daripada lipid atau radikal peroksil. Radikal antioksidan ini pada kenyataannya dapat terhambat apabila reaksi oksidasi lipid bereaksi dengan radikal peroksil, radikal alkoksil dan antioksidan lainnya dengan membentuk produk non-radikal (Makhrusah, 2021). Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya senyawa flavonoid (Amin *et al.*, 2016). Penelitian Ningrum *et al* (2017) mengungkapkan bahwa pada daun Johar terdapat isolat flavonoid

sebesar 139,8373 mg/L. Devi & Ganjewala (2011) melaporkan bahwa ekstrak daun dan rimpang jeringau mengandung senyawa flavonoid sebesar 84% dan 80%. Hal ini mengindikasikan bahwa bagian dari tanaman yang merupakan bahan alam berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid.

2.10 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Metode yang digunakan dalam pengujian uji aktivitas antioksidan yaitu metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode DPPH dipilih karena metode tersebut sederhana, mudah, cepat, sampel yang dibutuhkan sedikit, dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi kecil (Erviana & Malik, 2016). Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Hal ini ditandai dengan berubahnya warna dari ungu menjadi kuning yang diukur pada absorbansi 517 nm (Setiawan, 2018). Perubahan warna tersebut disebabkan karena elektron telah berpasangan, yang mana jumlah elektron yang diambil sebanding dengan hilangnya warna tersebut.



Gambar 2. 7 Reaksi Reduksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Afriani *et al.*, 2014)

Aktivitas peredaman radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%), nilai tersebut dapat dihitung menggunakan persamaan 2.2 (Ningrum *et al.*, 2017)

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol (DPPH)} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol (DPPH)}} \times 100 \dots \dots (2.2)$$

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan menggunakan IC₅₀ yang dihitung berdasarkan persamaan regresi linier. IC₅₀ merupakan konsentrasi yang mampu menghambat 50% oksidasi radikal bebas (Widyaningsih *et al.*, 2016). Semakin kecil nilai IC suatu senyawa maka semakin tinggi/efektif sebagai penghambat radikal bebas. Ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.8.

Tabel 2. 8 Ketentuan Kekuatan Antioksidan

Nilai IC₅₀ (ppm)	Kekuatan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat lemah

Sunarni (2007) melaporkan bahwa isolat flavonoid pada daun Kepel dengan konsentrasi 32 µg/mL memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas lebih dari 90%. Ningrum *et al.*, 2017 melaporkan bahwa isolat flavonoid daun Johar memiliki aktivitas antioksidan sebesar 139,8373 mg/L. Senyawa flavonoid mampu menghambat aktivitas radikal bebas dari DPPH karena memiliki kemampuan untuk mendonorkan radikal protonnya sehingga menyebabkan terjadinya reduksi membentuk DPPH non radikal.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan 7 Februari sampai 12 Mei 2023 di Laboratorium Kimia Organik, Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, cawan porselen, blender, ayakan, neraca *analitik*, corong pisah, kertas saring, aluminium foil, pH universal, *rotary evaporator*, pipet, spatula, plastik *wrap*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, desikator, oven, botol vial, kolom, plat silica gel F₂₅₄, *ultrasonic processor qsonica*, statif, corong *buchner*, rak tabung reaksi, spektrofotometer FTIR dan UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.), etanol 70%, aquades, etil asetat, n-heksana, HCl 2 N, NaHCO₃, silika gel, KBr, HCl 2N, serbuk Mg, FeCl₃, HCl 2%, reagen Dragendroff, reagen Mayer, reagen wagner, HCl 1 M, kloroform, asetat anhidrat, H₂SO₄, etanol p a, ammonia, dan DPPH.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan preparasi sampel rimpang Jeringau dengan cara sampel dibersihkan, dikeringkan, dihaluskan, dan diayak. Selanjutnya, ditentukan kadar airnya dan diekstraksi menggunakan metode sonikasi dengan pelarut 70%. Hasil dari ekstraksi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian dihidrolisis menggunakan HCl 2N dan dinetralkan menggunakan NaHCO₃. Setelah itu, ekstrak hasil hidrolisis dipartisi menggunakan etil asetat. Dilanjutkan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada rimpang Jeringau. Kemudian dilakukan isolasi senyawa flavonoid menggunakan kromatografi kolom dengan elun n-heksana:etil asetat 7:3 dan dimonitoring dengan KLTA. Setelah itu isolat flavonoid di uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
2. Penentuan kadar air secara termogravimetri
3. Ekstraksi ultrasonik rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
4. Hidrolisis dan Partisi
5. Uji fitokimia rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
6. Isolasi senyawa flavonoid dengan metode kromatografi kolom dan monitoring menggunakan KLTA
7. Identifikasi isolat flavonoid menggunakan instrumen FTIR dan UV-Vis
8. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) berasal dari Kota Semarang Jawa Tengah. Sampel tersebut dipotong kecil-kecil dan dicuci dengan air hingga bersih. Sampel di oven dalam suhu 40°C dan dihaluskan menggunakan ayakan 90 mesh di Unit Pelaksana Teknis Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur.

3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Thermogravimetri

Penentuan kadar air pada rimpang Jeringau dimulai dengan menyiapkan cawan porselen yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Kemudian cawan porselen didinginkan pada desikator selama 10 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini diulangi hingga diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, bubuk rimpang jeringau ditimbang dalam cawan porselen dan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 15 menit. Sampel disimpan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Perlakuan diulangi kembali hingga berat konstan. Kadar air dalam rimpang Jeringau dihitung menggunakan persamaan (3.1).

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

Dimana a = berat konstan cawan kosong; b = berat sampel sebelum dioven + cawan; c = berat sampel setelah di oven + cawan

3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Ekstraksi rimpang Jeringau dilakukan dengan metode ekstraksi sonikasi diawali dengan simplisia Jeringau ditimbang sebanyak 50 g. Kemudian, sampel

dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 500 mL pelarut etanol 70%. Perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (b/v). Sampel ditempatkan pada *ultrasonic* dan diekstraksi selama 30 menit pada suhu kamar dengan frekuensi 47 kHz. Ekstrak etanol disaring menggunakan corong buchner dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 30-40°C, hingga pelarut benar-benar menguap dan tidak ada pelarut yang menetes pada labu pelarut. Setelah itu, ditimbang dan dihitung rendemen dari ekstrak yang diperoleh dengan persamaan (3.2) (Suhendra *et al.*, 2019).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.4 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis ekstrak pekat etanol Jeringau dilakukan dengan cara menimbang ekstrak pekat etanol sebanyak 5 gram. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL HCl 2N kedalam ekstrak pekat etanol dengan perbandingan ekstrak pekat : HCl 2N (1:2) Kemudian dihomogenkan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang. Ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO₃) hingga didapatkan pH netral. Selanjutnya, ekstrak hasil hidrolisis dipartisi dengan menambahkan pelarut etil asetat sebanyak 25 mL kedalam corong pisah yang sudah berisi hidrosilat. Kemudian, dikocok selama 15 menit dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas merupakan fasa organik (etil asetat) dan lapisan bawah merupakan fasa air. Proses partisi dilakukan secara berulang dengan pelarut yang sama, hingga lapisan pada fasa air sudah tidak berwarna lagi. Setelah itu, diambil fasa organik (etil asetat) dan dipekatkan fasa organik dengan *rotary vacuum*

evaporator pada suhu dibawah dibawah 30°C. Ditimbang dan dihitung rendemen fraksi etil asetat dengan persamaan (3.3) (Wati, 2020).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \dots \dots \dots (3.3)$$

3.5.5 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Kolom

Proses isolasi senyawa flavonoid menggunakan kromatografi kolom menggunakan hasil eluen terbaik KLTA merujuk pada penelitian yang dilakukan Jannah (2022). Diawali dengan proses aktivasi silika gel dengan cara dipanaskan silika gel sebanyak 15 g dalam oven pada suhu 110°C selama 2 jam. Selanjutnya, didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Setelah itu, dibuat bubur silika dengan cara dicampur silika dengan 20 mL pelarut n-heksana:etil asetat (7:3 v/v) dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga terbentuk suspensi tanpa gelembung. Disiapkan kolom dengan diameter 1 cm dan panjang 50 cm, lalu diisi dengan *glass woll*. Kemudian dimasukkan bubur silika ke dalam kolom kromatografi secara perlahan tanpa jeda, rasio sampel : silika (1:150). Selanjutnya, diketuk-ketuk kolom agar terisi mampat dan didiamkan selama 24 jam. Setelah itu, dilarutkan fraksi etil asetat rimpang jeringau sebanyak 0,6 gram dilarutkan dengan 1 mL eluen n-heksana:etil asetat 7:3 dan dimasukkan dalam kolom. Setelah itu, kran dibuka dengan kecepatan alir diatur 2 mL/menit dan ditampung eluat dalam botol vial tiap 2 mL/menit.

Hasil isolat yang diperoleh, dimonitoring menggunakan KLTA dengan fase diamnya silika gel F₂₅₄ ukuran 20 x 10 cm yang telah diaktivasi. Setelah itu, ditotolkan isolat pada plat silika gel menggunakan pipa kapiler dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali. Plat silika gel dikeringkan dan dimasukkan dalam

bejana pengembang yang telah dijenuhkan. Lalu dielusi sampai tanda batas atas plat. Kemudian, noda hasil pemisahan dideteksi dengan menyemprotkan amoniak pada plat silika dan diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Jika noda berwarna kuning kehijauan, jingga, biru, ungu ataupun merah muda menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid dan dihitung R_f menggunakan persamaan (3.4) (Fasya *et al.*, 2018).

$$\text{Harga } R_f : \frac{\text{jarak tempuh noda}}{\text{jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots(3.4)$$

3.5.6 Uji Fitokima pada Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Pengujian fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, isolat hasil kolom rimpang Jeringau yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid, dan terpenoid (Farida, 2022).

3.5.6.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, kemudian ditambahkan HCl 2N dan serbuk Mg. Jika larutan terbentuk warna kuning, merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.6.2 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, kemudian ditambahkan 2 - 3 tetes FeCl₃ 1%. Jika larutan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru menunjukkan adanya tanin.

3.5.6.3 Uji Alkoloid

Uji alkoloid dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, kemudian ditambahkan 0,5 HCl 2 %, kemudian dibagi menjadi 3 tabung. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes reagen Dragendroff, tabung kedua ditambahkan 3 tetes reagen Mayer dan tabung 3 ditambahkan reagen Wagner. Jika tabung pertama terbentuk endapan berwarna jingga, tabung kedua terbentuk endapan berwarna putih kekuningan dan tabung ketiga terbentuk endapan cokelat, maka sampel positif alkoloid.

3.5.6.4 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat rimpang jeringau ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Kemudian ditambahkan aquades (1:1) dan dikocok selama 1 menit. Jika terbentuk busa maka ditambahkan HCl 1 M sebanyak 2 tetes, jika busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dapat diindikasikan sampel positif saponin.

3.5.6.5 Uji Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat rimpang jeringau ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Ditambahkan 0,5 mL pelarut kloroform dan asetat anhidrat, kemudian ditambahkan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Jika terbentuk warna hijau kebiruan sampel positif steroid dan jika terbentuk cincin kecoklatan atau keunguan pada perbatasan dua pelarut maka sampel positif terpenoid.

3.6 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer FTIR

Hasil isolat flavonoid rimpang Jeringau diidentifikasi menggunakan FTIR yang dilakukan dengan mencampur sebanyak 2 mg masing-masing isolat dengan 100 mg KBr dan digerus menggunakan mortar agate. Campuran KBr dan sampel yang telah halus ditekan dengan tekanan 80 torr (8-20 torr/satuan waktu) selama 10 menit. Kemudian, dianalisis pelet yang telah ditekan menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Panji, 2012).

3.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil isolat flavonoid rimpang Jeringau diidentifikasi menggunakan UV-Vis yang dilakukan dengan melarutkan masing-masing isolat dengan 10 mL etanol p.a. Masing-masing isolat diambil sebanyak 2 mL dan dianalisis panjang gelombang maksimum isolat pada rentang 200-800 nm (Jannah, 2022).

3.8 Uji Aktivitas Antiksidan dengan Metode DPPH

3.8.1 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan DPPH 0,2 Mm sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 3 mL etanol p.a. Larutan dikocok hingga homogen. Labu ukur dilapisi menggunakan alumunium foil. Lalu di tuang ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada λ_{maks} 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sari, 2021).

3.8.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 Mm sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 3 mL etanol p.a. Kemudian ditutup dengan alumunium foil dan

dihomogenkan menggunakan vortex. Lalu di tuang ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada λ maks 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sari, 2021).

3.8.3 Penentuan Aktivitas Antioksidan rimpang Jeringau

Isolat hasil kromatografi fraksi etil asetat ditimbang sebanyak 5 mg. Variasi konsentrasi dibuat 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Isolat dari masing-masing konsentrasi dipipet ke dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL dan ditambahkan DPPH 0,2 Mm sebanyak 1 mL. Kemudian campuran isolat dan DPPH diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37⁰C, lalu diukur absorbansinya pada λ maks yang telah didapatkan. Perlakuan ini dilakukan ulangan sebanyak 5 kali pada tiap konsentrasi. Data absorbansi yang sudah diperoleh dari masing-masing konsentrasi dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut dapat dihitung dengan rumus (3.5) (Sari, 2021).

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.5)$$

3.9 Analisis Data

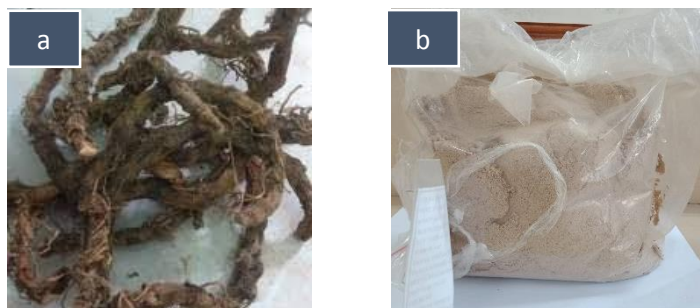
Analisis dilakukan untuk mendeskripsikan pola pemisahan berdasarkan monitoring dari hasil kromatografi kolom. Monitoring didasarkan pada pengukuran jarak (*R_f*) dan warna spot pada KLT. Senyawa flavonoid diidentifikasi menggunakan instrumen FTIR dan UV-Vis. Data persen aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan software Excel untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi dan Penentuan Kadar Air Sampel Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang Jeringau yang berasal dari Semarang Jawa Tengah. Rimpang Jeringau yang diperoleh dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan pengotor yang ada pada sampel yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi. Selanjutnya dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga penyimpanan sampel dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama dan menghindari pertumbuhan mikroba. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan sampel cepat rusak. Tahap terakhir yaitu penghalusan sampel dilakukan untuk memperluas permukaan sampel yang berinteraksi dengan pelarut sehingga proses ekstraksi akan berlangsung secara optimal. Serbuk halus rimpang Jeringau yang dihasilkan sebesar 1,54 Kg dari total berat sampel awal sebesar 7,15 Kg. Adapun hasil preparasi sampel ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Rimpang Jeringau sebelum dipreparasi (a), serbuk rimpang Jeringau setelah di preparasi (b)

Hasil preparasi sampel rimpang Jeringau, kemudian dilakukan analisis kadar air untuk mengetahui kandungan air yang pada sampel kering rimpang

Jeringau. Prinsip analisa kadar air menggunakan metode *thermogravimetric* yaitu penguapan air dengan pemanasan sampel yang kemudian ditimbang. Sampel yang dilakukan analisa kadar airnya dipanaskan pada oven 105°C. Kadar air yang rendah mempermudah proses ekstraksi terjadi karena pelarut akan mudah dalam menembus dinding sel sampel. Hasil analisa kadar air sampel rimpang Jeringau pada penelitian ini sebesar 5,35 %. Nilai tersebut memenuhi standar BPOM RI (2014) yang menyatakan bahwa batas maksimum kadar air yang disyaratkan untuk sampel serbuk simplisia sebesar 10%. Kadar air yang rendah pada sampel akan lebih memaksimalkan proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut dan terhindarkan dari pertumbuhan mikroba sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama.

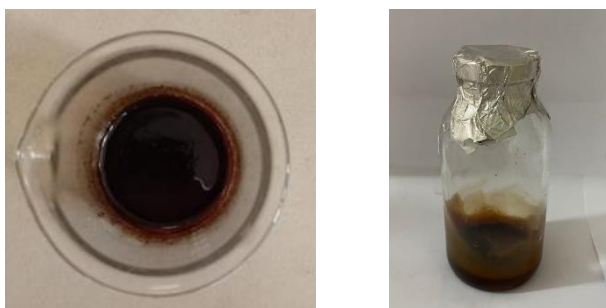
4.2 Ekstraksi Menggunakan Metode Sonikasi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Senyawa metabolit sekunder pada sampel rimpang Jeringau dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu metode ekstraksi sonikasi. Adanya gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati akan menghasilkan getaran dan menyebabkan terbentuknya gelembung kavitasi. Gelembung kavitasi yang terjadi mengakibatkan pecahnya dinding sel. Pecahnya dinding sel tersebut meningkatkan kontak pelarut dengan sampel yang diekstrak, sehingga senyawa target dalam sampel mudah larut dalam pelarutnya dan didapatkan hasil ekstrak yang maksimal dalam waktu yang singkat.

Ekstraksi ultrasonik rimpang Jeringau menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan etanol 70% bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi karena senyawa target pada sampel terikat pada gugus glikosida yang mudah larut dalam pelarut polar. Senyawa metabolit sekunder yang terekstrak dalam pelarut etanol

70% dimungkinkan adalah metabolit sekunder jenis alkaloid, steroid, terpenoid, tanin, saponin, dan flavonoid glikosida karena masih memiliki gugus glikosida. Etanol merupakan pelarut polar dengan nilai konstanta dielektrikum 24,30. Etanol memiliki 2 gugus yaitu gugus hidroksil yang mengikat senyawa polar dan gugus alkil yang mengikat senyawa non polar.

Hasil ekstraksi rimpang Jeringau menggunakan pelarut etanol 70% dihasilkan rendemen sebesar 12,12% atau sebanyak 6,0615 g dari 50 g sampel dengan cairan kental berwarna coklat kehitaman (Gambar 4.2). Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa banyaknya kandungan metabolit sekunder yang berhasil diekstrak. Penggunaan pelarut dan metode ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen sampel Jeringau. Penggunaan pelarut non polar seperti yang dilakukan oleh. Penelitian Rahardian & Masduqi (2021) pada rimpang Jeringau pelarut etanol 70% dengan metode perkolasi dihasilkan rendemen sebanyak 8,3%. Metode sonikasi dapat meningkatkan rendemen yang dihasilkan karena adanya efek kavitasi yang memecah dinding sel sehingga akan meningkatkan pori-pori yang membuat komponen aktif larut dalam pelarutnya dan terekstraksi secara maksimal.



Gambar 4. 2 Ekstrak pekat etanol rimpang Jeringau

4.3 Hidrolisis dan Partisi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Proses hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikon bersifat polar dan aglikon bersifat non polar yang terdapat dalam bentuk glikosida pada senyawa

metabolit sekunder. Hidrolisis dilakukan dengan penambahan HCl 2N sebagai katalis untuk mempercepat proses reaksi hidrolisis dan disertai dengan pengadukan selama 1 jam bersifat *reversible*. Pengadukan dilakukan agar ekstrak pekat tercampur merata dan mempercepat proses pemutusan ikatan glikosida. Penetralkan dilakukan dengan menggunakan NaHCO₃ untuk menghentikan reaksi agar tidak terbentuk kembali ikatan glikosida antara ikatan glikon dan aglikon. Proses penetralkan menghasilkan gelembung-gelembung busa berupa gas CO₂ yang menandai adanya reaksi antara HCl dan NaHCO₃ yang ditunjukkan pada Gambar 4.3. Hasil yang diperoleh dari hidrolisis ekstrak pekat etanol pekat berupa larutan berwarna cokelat pekat tanpa gelembung-gelembung busa.



Gambar 4. 3 Terbentuknya Gas CO₂ pada proses hidrolisis

Hasil hidrolisis yang diperoleh dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan proses partisi menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar yang dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar maupun non polar. Etil asetat memiliki nilai konstanta dielektrik 6,0 (Arsa, 2020). Hasil partisi diperoleh dua lapisan yang tidak saling campur. Lapisan atas merupakan fasa organik dan fasa bawah merupakan fasa air. Senyawa aglikon yang mengandung metabolit sekunder terekstrak pada fasa organik dan komponen gula (glikon) terekstrak pada fasa air (Fasya *et al.*, 2016). Terbentuk 2 lapisan disebabkan oleh perbedaan massa jenis etil asetat lebih kecil sebesar 0,902 g/mL

dibandingkan massa jenis air sebesar 1 g/mL. Fasa organik pada bagian atas berwarna coklat muda dan fasa air pada bagian bawah berwarna coklat gelap. Hasil fraksi etil asetat rimpang Jeringau berwarna coklat dengan rendemen sebesar 17,09% dari 5 g sampel.

4.4 Kromatografi Kolom

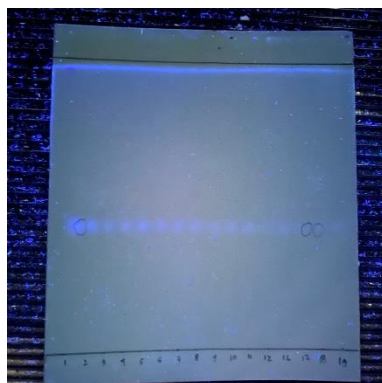
Pemisahan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat rimpang Jeringau dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fasa diam dan n-heksana:etil setat (7:3) sebagai fase gerak. Pemilihan eluen tersebut dipilih karena pada penelitian terdahulu yaitu Jannah (2022) dilakukan variasi eluen dan hasil terbaik pemisahannya dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3). Silika gel diaktivasi terlebih dahulu untuk menghilangkan kadar air dan mengaktifkan gugus hidroksil (-OH). Setelah diaktivasi, silika gel dijadikan *slury* (bubur silika) menggunakan n-heksana:etil asetat dengan tujuan untuk menghomogenkan antara fasa diam dengan fasa geraknya agar kerapatannya lebih tinggi, sehingga tidak ada celah udara yang dapat mempengaruhi pemisahan.

Pemisahan kromatografi kolom dihasilkan 150 vial eluat dari 300 mL eluen n-heksana:etil asetat (7:3) dengan sampel sebanyak 0,6 gram dan laju alir 2mL/menit. Eluat dimonitoring menggunakan KLTA dengan tujuan untuk mengidentifikasi jenis senyawa flavonoid yang terkandung dalam eluat berdasarkan warna noda yang diamati di bawah sinar UV 366 nm yang ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan nilai *R_f* yang dihasilkan. Berdasarkan pada Tabel 4.2 dapat diketahui dari 150 vial hanya 59 vial yang menghasilkan noda yang diduga positif mengandung flavonoid.

Berdasarkan warna noda dan nilai R_f yang dihasilkan, yaitu warna ungu dengan nilai R_f sebesar 0,45 diduga senyawa flavonoid merupakan golongan flavon/flavonol. Hanani (2014) menjelaskan bahwa senyawa golongan flavonol dan flavon akan menghasilkan bercak warna ungu di bawah lampu UV 366 nm dan tidak mengalami perubahan warna ketika direaksikan dengan NH_3 . Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini dimana bercak yang dihasilkan berwarna ungu dan tidak mengalami perubahan warna setelah disemprotkan dengan ammonia. Markham (1982) menyatakan bahwa warna spot yang berfluorensi menjadi ungu dibawah sinar UV 366 nm mengidentifikasi flavonoid golongan flavon/flavonol. Farmanova *et al* (2021) menjelaskan bahwa hasil monitoring senyawa standar rutin yang di KLT memiliki nilai R_f 0,45. Penelitian (Nuari *et al.*, 2017; Podungge *et al.*, 2017) menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid ditandai adanya bercak noda berwarna ungu pada plat KLT.

Tabel 4. 1 Hasil monitoring KLTA isolat hasil kromatografi kolom fraksi etil asetat

No.	Warna Noda (UV λ 366 nm)	Jarak (cm)		R_f	Dugaan Senyawa
		Noda	Eluen		
1	Ungu	3,6	8	0,45	Flavon/Flavonol
2	Ungu	3,6	8	0,45	
3	Ungu	3,6	8	0,45	
4	Ungu	3,6	8	0,45	
5	Ungu	3,6	8	0,45	
6	Ungu	3,6	8	0,45	
7	Ungu	3,6	8	0,45	
8	Ungu	3,6	8	0,45	
9	Ungu	3,6	8	0,45	
10	Ungu	3,6	8	0,45	
11	Ungu	3,6	8	0,45	
12	Ungu	3,6	8	0,45	



Gambar 4. 4 Hasil monitoring KLTA isolat hasil kolom dibawah sinar UV 366 nm

4.5 Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom rimpang Jeringau secara kualitatif. Hasil uji fitokimia rimpang Jeringau ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 2 Hasil uji fitokimia rimpang Jeringau

Senyawa Metabolit Sekunder	Ekstrak Etanol 70%	Fraksi Etil Asetat	Isolat Hasil Kromatografi Kolom
Flavonoid			
- Mg+HCl	+	+	+
- NaOH 10%	+	+	+
Alkoloid			
- Mayer	+	-	-
- Dragendorff	+	-	-
- Wagner	+	-	-
Tanin	+	+	-
Saponin	+	-	-
Steroid	+	-	-
Terpenoid	+	-	-

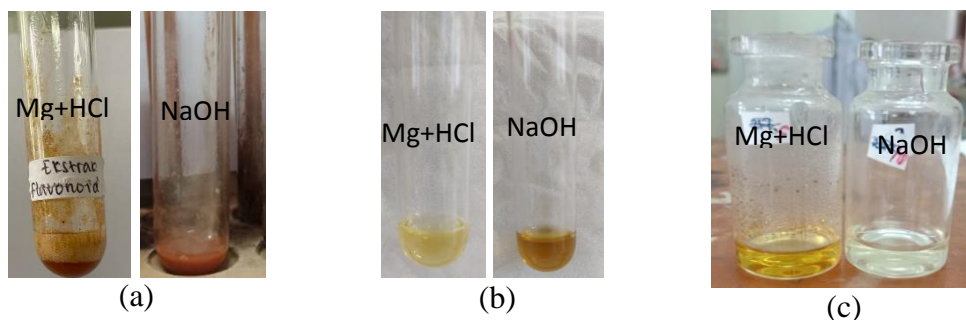
4.5.1 Uji Flavonoid

Ekstrak etanol menunjukkan hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna dari coklat menjadi orange. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reduksi logam Mg dan HCl pada inti benzopiron pada struktur

senyawa flavonoid. Hasil reduksi tersebut berupa garam benzopirilium (garam flavilium) yang berwarna kuning, merah, atau jingga. Dugaan reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl ditunjukkan pada Gambar 2.3. Ekstrak etanol juga dilakukan pengujian fitokimia dengan menggunakan katalis basa yang menunjukkan hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna dari cokelat menjadi cokelat muda. Perubahan warna tersebut disebabkan karena turunan senyawa flavonoid akan mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon karena adanya pemutusan struktur isoprene sehingga membentuk warna kuning, cokelat, dan merah. Masduqi (2021) dan Khotimah *et al* (2014) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% rimpang Jeringau positif mengandung senyawa flavonoid. Suhendra *et al* (2019) menjelaskan etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan gugus hidrogen dari gugus hidroksil senyawa flavonoid yang menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa flavonoid dalam etanol.

Fraksi etil asetat rimpang Jeringau menunjukkan reaksi positif flavonoid dengan terjadinya perubahan warna dari cokelat menjadi kuning setelah penambahan Mg+HCl dan berwarna orange setelah penambahan NaOH. Hasil positif juga terdapat pada hasil isolat kromatografi kolom yang terjadi perubahan warna setelah penambahan Mg+HCl menjadi orange dan berwarna kuning setelah penambahan NaOH. Senyawa flavonoid hasil hidrolisis dan fraksinasi dalam bentuk aglikonnya lebih mudah larut dalam pelarut yang semi polar seperti etil asetat. Pemilihan pelarut etil asetat dikarenakan senyawa flavonoid aglikon seperti isoflavan, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi lebih mudah larut (Satolom, 2015). Muhridja (2016) menguatkan bahwa jenis flavonoid seperti

isoflavon, flavanon, flavon, dan flavanol memiliki sifat semi polar yang lebih mudah larut dalam pelarut etil asetat. Hasil identifikasi senyawa flavonoid secara kualitatif ditunjukkan pada Gambar 4.5.



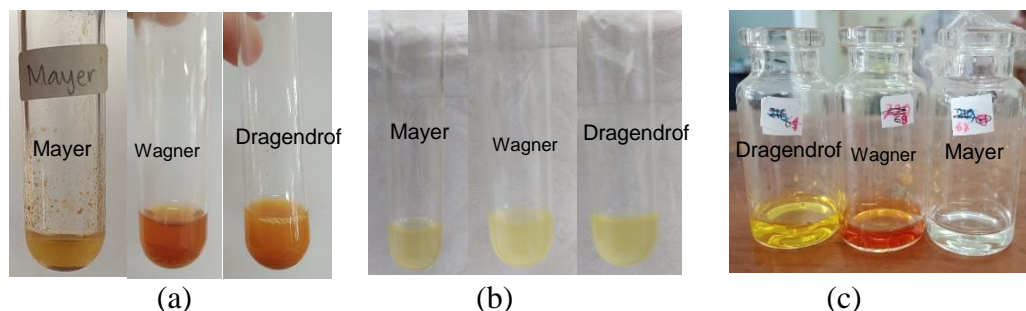
Gambar 4. 5 Hasil uji fitokimia flavonoid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom

4.5.2 Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan reagen Mayer, reagen Dragendroff, dan reagen Wagner. Alkaloid memiliki kemampuan mengikat logam pereaksi yang berbeda, sehingga dilakukan pengujian dengan ketiga reagen tersebut untuk memperkuat dugaan bahwa sampel mengandung senyawa alkaloid. Reagen Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida [kalium tetraiodomerkurat (II)]. Reagen Dragendroff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial [kalium tetraiodobismutat (III)]. Reagen Wagner mengandung iod dan kalium iodida. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam.

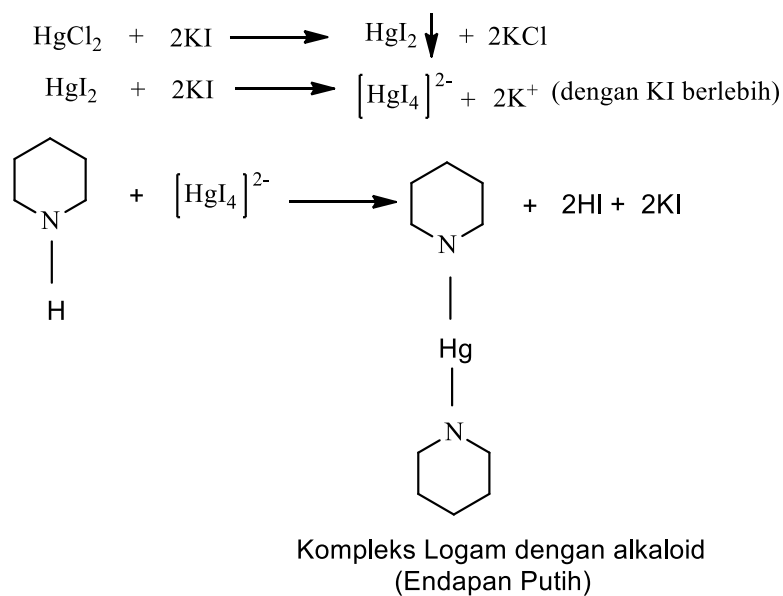
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol 70% positif alkaloid yang ditandai dengan endapan berwarna putih pada reagen Mayer, endapan berwarna merah pada pengujian reagen Dragendroff dan berwarna coklat pada

pengujian reagen Wagner seperti ditunjukkan pada Gambar 4.6. Terbentuknya endapan pada reagen Mayer, reagen Dragendroff, dan reagen Wagner terjadi karena adanya reaksi penggantian ligan antara atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada senyawa alkaloid dengan ion logam sehingga terbentuk kompleks alkaloid dengan logam (Rezaldi *et al.*, 2022).

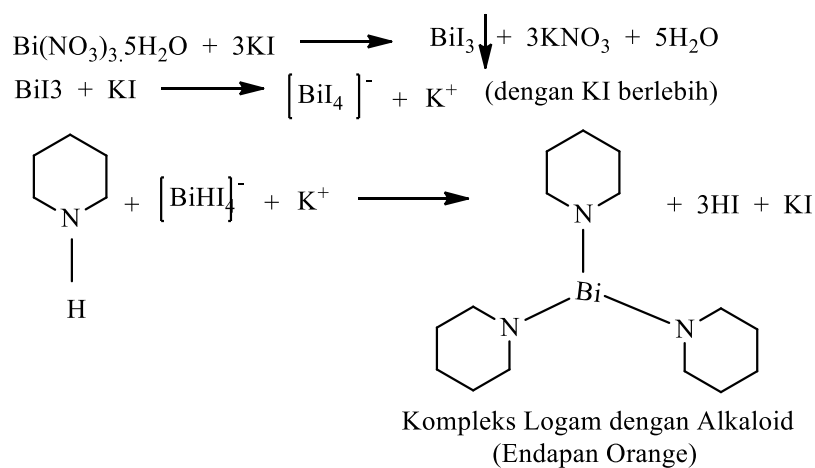


Gambar 4. 6 Hasil uji fitokimia alkaloid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom

Pengujian alkaloid pada fraksi etil asetat dan hasil isolat kolom kromatografi rimpang Jeringau menunjukkan hasil negatif yaitu dengan tidak terbentuknya endapan. Garam alkaloid memiliki sifat berbeda dengan alkaloid bebas dalam bentuk basa. Alkaloid dalam bentuk basa lebih mudah larut dalam pelarut seperti benzena, eter, kloroform dan tidak larut dalam air, sedangkan dalam bentuk garamnya alkaloid mudah larut dalam pelarut polar. Hal ini menunjukkan alkaloid dalam rimpang Jeringau merupakan alkaloid dalam bentuk garamnya karena reaksi positif hanya dalam pelarut polar. Adapun dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Mayer dan reagen Dragendroff ditunjukkan pada Gambar 4.7.



(a)



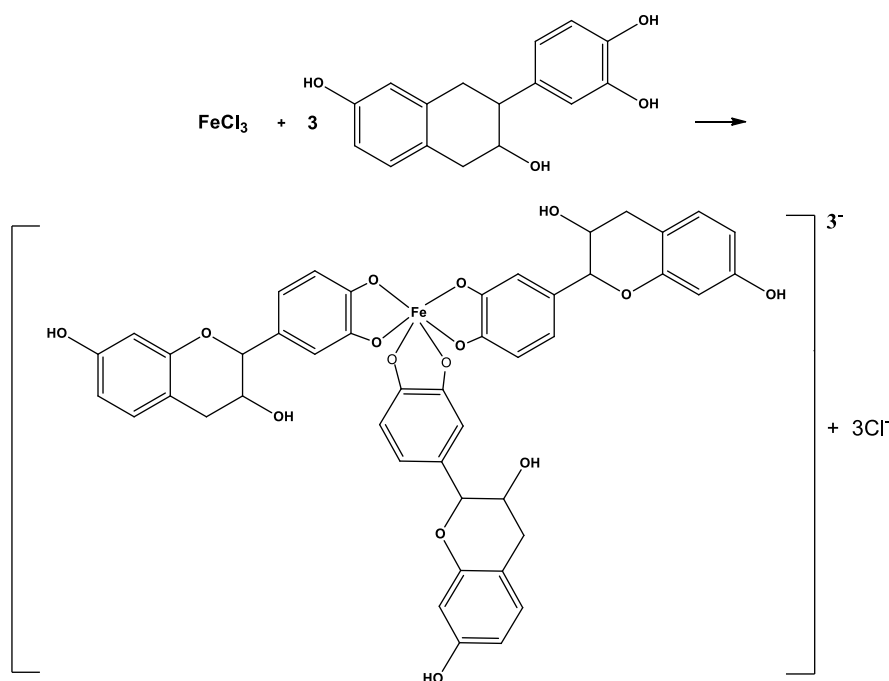
(b)

Gambar 4. 7 Gambar reaksi dugaan senyawa alkaloid dengan (a) reagen Mayer
(b) reagen Dragendroff dan (c) reagen Wagner

4.5.3 Uji Tanin

Pengujian ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan hasil isolat kolom kromatografi rimpang Jeringau dengan penambahan larutan FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 bertujuan agar gugus hidroksil pada senyawa tanin akan bereaksi dengan Fe^{3+} untuk mengetahui adanya gugus fenol dalam senyawa tanin.

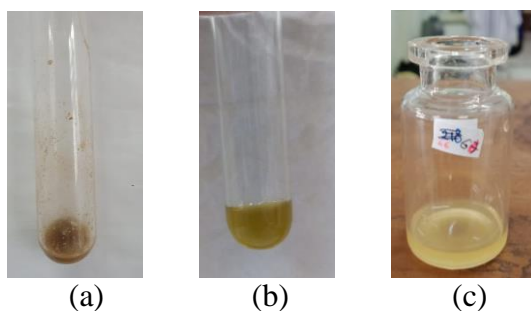
Senyawa yang terbentuk akan membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikalium(III) yang memberikan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman (Muthaminnah, 2019; Halimu *et al.*, 2017). Adapun reaksi antara senyawa tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4. 8 Reaksi antara senyawa tanin dengan FeCl_3 (Ergina *et al.*, 2014)

Pengujian ekstrak etanol 70% rimpang Jeringau menunjukkan berubahnya warna dari kecokelatan menjadi hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 yang ditunjukkan pada Gambar 4.9. Hal tersebut mengindikasikan adanya polifenol yang diduga adalah senyawa tanin terkondensasi. Tanin merupakan senyawa polifenol yang mudah larut dalam pelarut polar. Pengujian tanin pada fraksi etil asetat rimpang Jeringau menunjukkan hasil yang positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hal ini dikarenakan senyawa tanin lebih mudah terekstrak dalam pelarut polar dan semi polar. Putri *et al* (2020) menyatakan bahwa pelarut etil asetat mampu menarik senyawa tanin karena tanin memiliki

gugus hidroksil yang berikatan dengan gugus hidroksil pada pelarut etil asetat. Hasil isolat kromatografi tidak mengandung senyawa tanin dikarenakan senyawa tanin tidak terelusi dengan eluen yang bersifat non polar yaitu n-heksana, tetapi dimungkinkan senyawa tanin tertahan di fasa diam yang bersifat polar.



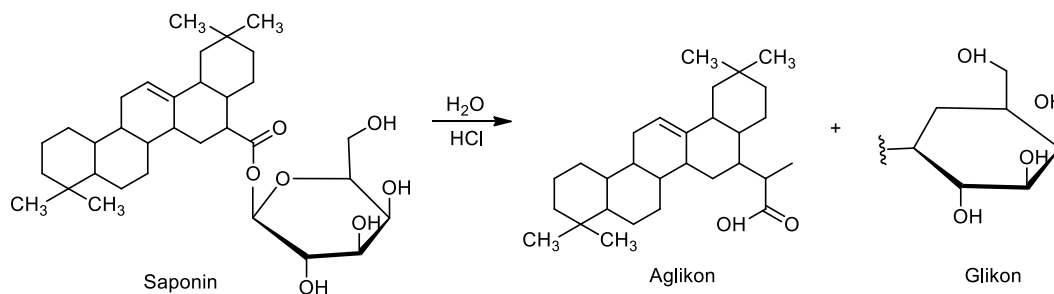
Gambar 4. 9 Hasil uji fitokimia tanin (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom

4.5.4 Uji Saponin

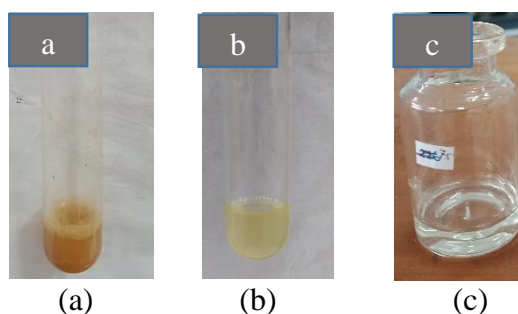
Pengujian saponin dilakukan dengan menggunakan metode *Forth* yaitu hidrolisis saponin di dalam air. Pengujian *forth* menimbulkan terbentuknya busa yang menunjukkan adanya glikosida mampu membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa aglikonnya. Pembentukan busa pada hasil positif pengujian saponin dikarenakan pelarut yang digunakan bersifat polar seperti aquades. Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kepolaran suatu larutan sehingga interaksi gugus hidrofil lebih stabil dan buih yang terbentuk juga menjadi lebih stabil (Handayani *et al.*, 2020). Adapun dugaan reaksi yang terjadi pada uji fitokimia senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 4.10.

Pengujian ekstrak etanol 70% rimpang Jeringau menunjukkan hasil positif saponin dengan terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang setelah penambahan HCl 1M dan didiamkan selama 10 menit. Sementara pada pengujian fraksi etil asetat dan isolat hasil kromatografi kolom rimpang Jeringau menunjukkan hasil

negatif dengan tidak terbentuknya busa. Hasil pengujian ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat rimpang Jeringau ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4. 10 Dugaan reaksi uji senyawa saponin (Illing, 2017)

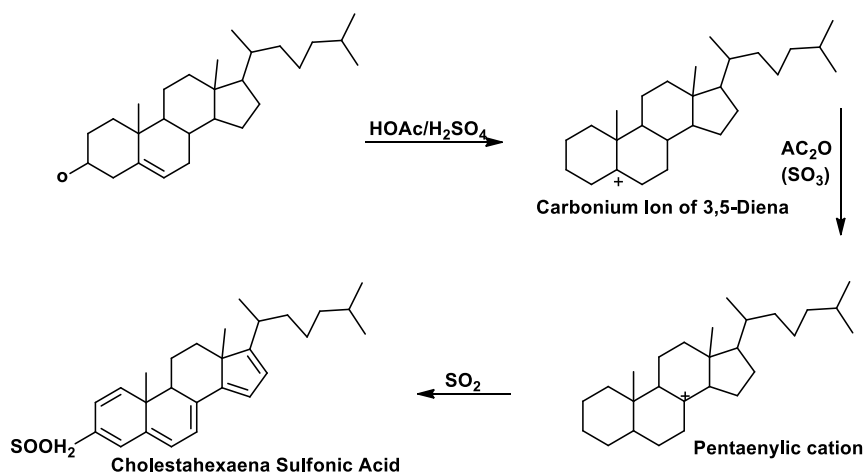


Gambar 4. 11 Hasil uji fitokimia saponin pada (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom

4.5.5 Uji Steroid dan Terpenoid

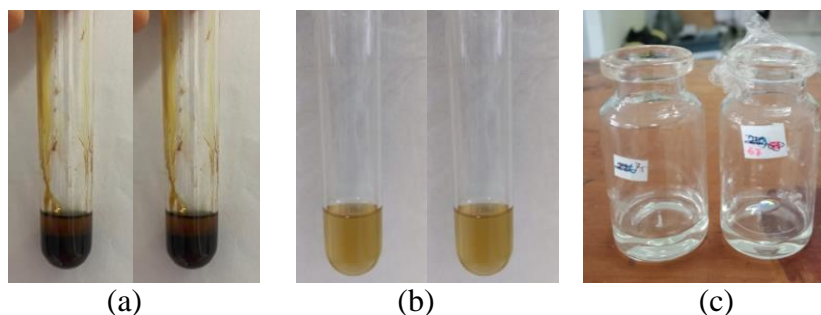
Pengujian ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat rimpang Jeringau menggunakan reagen *Lieberman-Burchard* yang terdiri dari kloroform, asetat anhidrat, dan asam sulfat. Kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa. Asam asetat anhidrat berfungsi untuk membentuk turunan asetil dalam proses asetilasi gugus hidroksi. Hal ini dikarenakan gugus etil merupakan gugus pergi yang baik, sehingga terbentuk ikatan rangkap yang terkonjugasi. Penambahan asam sulfat menyebabkan dehidrasi pada senyawa steroid dan terpenoid, sehingga terbentuknya cincin pada perbatasan dua pelarut (Makhrusah, 2021). Adapun dugaan reaksi

senyawa steroid dan senyawa terpenoid dengan pereaksi *Lieberman-Burchard* ditunjukkan pada Gambar 4.12.



Gambar 4. 12 Reaksi senyawa steroid dan terpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Iskandar, 2020)

Hasil pengujian senyawa steroid dan terpenoid pada ekstrak etanol 70% menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya cincin cokelat diantara 2 pelarut yang ditunjukkan pada Gambar 4.13, sedangkan untuk pengujian fraksi etil asetat dan isolat hasil kromatografi kolom rimpang Jeringau menunjukkan hasil yang negatif dengan tidak terbentuknya cincin diantara 2 pelarut. Hal tersebut disebabkan senyawa steroid dan terpenoid dalam ekstrak etanol terikat pada gugus glikosida yang mudah larut dalam pelarut polar yaitu 70%. Setelah ikatan glikosida terputus, senyawa steroid dan terpenoid bersifat non polar dan mudah larut dalam pelarut non polar, sehingga pada fraksi etil asetat menunjukkan hasil negatif karena sifat dari etil asetat yang semi polar (Jannah, 2022).



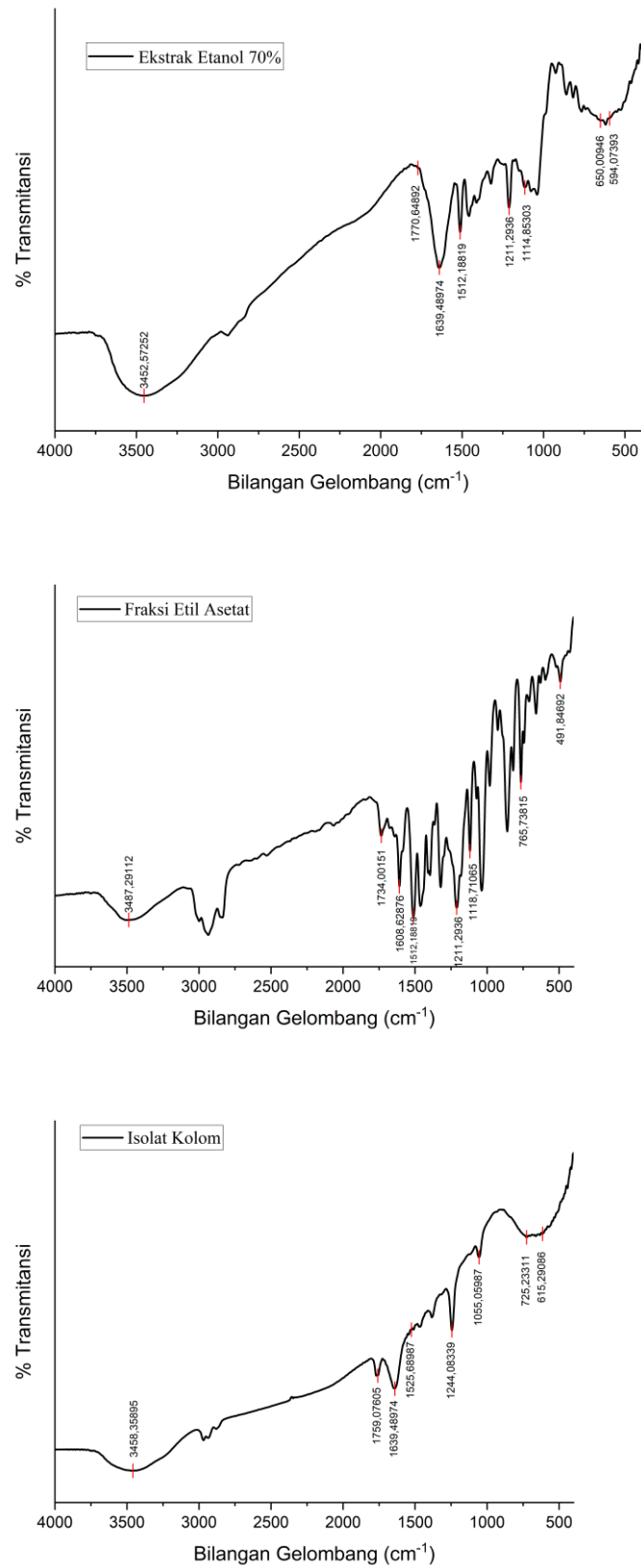
Gambar 4. 13 Hasil uji fitokimia steroid dan terpenoid (a) ekstrak etanol 70% (b) fraksi etil asetat (c) isolat hasil kromatografi kolom

4.6 Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Kromatografi Kolom dengan FTIR

Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung dalam suatu senyawa berdasarkan serapan yang dihasilkan. Prinsip analisa FTIR didasarkan pada interaksi antara energi dan molekul yang menyebabkan terjadinya transisi pada setiap gugus fungsi yang memiliki tipe ikatan berbeda, sehingga setiap gugus fungsi akan menghasilkan serapan yang khas. Analisa FTIR dilakukan pada panjang gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Hasil FTIR ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kromatografi kolom rimpang Jeringau ditunjukkan pada Gambar 4.14.

Tabel 4. 3 Hasil serapan panjang gelombang pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat kolom

Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Range (cm^{-1})	Gugus Fungsi
Ekstrak Etanol 70%	Fraksi Etil Asetat	Isolat Kolom		
3452	3499	3458	3580-3200	O-H ulur
1770	1734	1758	1850-1550	C=O ulur karbonil
1639	1641	1642	1645	C=O alkil keton
1511	1511	1518	1525-1470	C=C aromatik
1211	1210	1244	1310-1020	C-O-C ulur
1114	1118	1055	1125-1085	C-O ulur alkohol sekunder
766	765	724	900-650	C-H aromatik
528	595	614	600-420	C-H tekuk



Gambar 4. 14 Serapan panjang gelombang ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan FTIR didapatkan bilangan gelombang 3458 cm^{-1} (isolat), 3499 cm^{-1} (fraksi etil asetat), 3452 cm^{-1} (ekstrak etanol 70%) yang menunjukkan adanya gugus OH dengan bentuk pita melebar yang mendukung adanya senyawa flavonoid dan diperkuat dengan dengan vibrasi C-O ulur alkohol sekunder pada daerah 1055 cm^{-1} (isolat), 1118 cm^{-1} (fraksi etil asetat), 1114 cm^{-1} (ekstrak etanol 70%). Gugus aromatik C=C sebagai kromofor yang merupakan khas dari flavonoid memiliki serapan pada rentang $1525\text{-}1470\text{ cm}^{-1}$ dan diperkuat dengan daerah serapan dibawah 900 cm^{-1} . Selain itu, pada rentang bilangan gelombang 1244 cm^{-1} (isolat), 1210 cm^{-1} (fraksi etil asetat), 1211 cm^{-1} (ekstrak etanol 70%) mengindikasikan adanya gugus C-O-C ulur. Pada daerah 724 cm^{-1} (isolat), 765 cm^{-1} (fraksi etil asetat), 766 cm^{-1} (ekstrak etanol 70%) yang mengindikasikan adanya gugus C-H aromatik. Pada rentang bilangan gelombang 1642 cm^{-1} (isolat), 1641 cm^{-1} (fraksi etil asetat), 1639 cm^{-1} (ekstrak etanol 70%) adanya gugus C=O alkil keton. Pada daerah 1758 cm^{-1} (isolat), 1734 cm^{-1} (fraksi etil asetat) terdapat vibrasi ulur C=O ulur karbonil yang merupakan gugus fungsi khas dari senyawa flavonoid.

Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya gugus fungsi senyawa flavonoid pada rimpang Jeringau yaitu gugus O-H, C=C aromatik, C=O karbonil, C-O alkohol, dan C-H aromatik. Diduga gugus tersebut merupakan ciri khas dari flavonoid. Maulita (2011) mengidentifikasi senyawa flavonoid menggunakan instrumen FTIR, hasil menunjukkan adanya gugus OH, gugus C=C dan C=O. Adanya gugus fungsi tersebut didukung hasil LCMS pada $m/z\ 287,16$ yang merupakan flavonol jenis kuersetin. Dewi *et al* (2017) menginterpretasikan bahwa

hasil isolat daun Pranajiwa merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol memiliki gugus –OH, C-H aromatik, C=C aromatik, C=O, dan C-H alifatik.

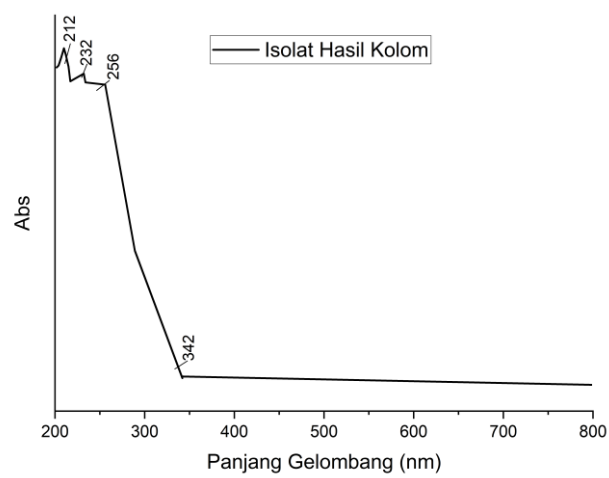
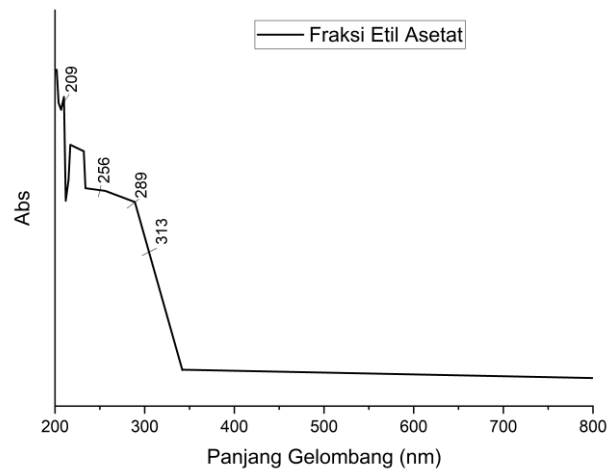
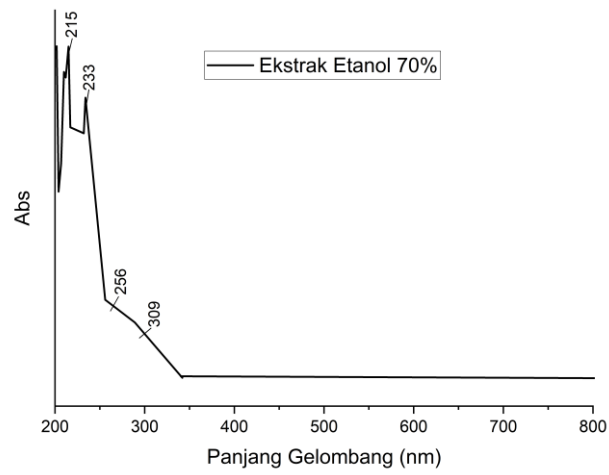
Interpretasi tersebut diperkuat dengan penelitian Silva *et al* (2017), Noh *et al* (2017), dan Rajhard *et al* (2021) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki serapan pada daerah 3340 - 3221 cm^{-1} yang menunjukkan adanya serapan gugus OH, pada daerah 1207, 1110 - 1107 cm^{-1} , dan 1068 - 1062 cm^{-1} merupakan daerah serapan C - O ulur, C = C aromatik memiliki daerah serapan 1660 – 1466 cm^{-1} , daerah 1281 – 1278 cm^{-1} dan 1071 – 1022 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-OH, dan pada daerah 1261 – 1066 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur dari gugus C-O-C.

4.7 Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Kromatografi Kolom dengan UV-Vis

Identifikasi hasil ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kromatografi kolom rimpang Jeringau menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang Gelombang 200-800 nm. Hasil identifikasi UV-Vis ditunjukkan pada Gambar 4.15.

Tabel 4. 4 Data spektra UV-Vis pada isolat kromatografi kolom, fraksi etil asetat, dan ekstrak etanol 70%

Sampel	Daerah Serapan				Literatur (Markham, 1988)		Dugaan Reaksi (Markham, 1988)
	Pita II (nm)	Abs	Pita I (nm)	Abs	Pita II (nm)	Pita I (nm)	
Ekstrak etanol 70%	256	3,863	309	3,091	250-280	310-350	Flavon
Fraksi etil asetat	256	3,763	313	3,066			
Isolat hasil kromatografi kolom	256	0,324	342	0,513	250-280	330-350	Flavonol (3- OH tersubstitusi)



Gambar 4. 15 Hasil Spektra UV-Vis (a) ekstrak etanol 70%, (b) fraksi etil asetat, dan (c) isolat hasil kolom

Berdasarkan hasil identifikasi, diketahui bahwa ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom memiliki panjang gelombang pada pita II sebesar 256 nm. Sedangkan pita I memiliki serapan yang berbeda, isolat hasil kolom memiliki daerah serapan 342 nm, fraksi etil asetat memiliki daerah serapan 313, dan hasil ekstrak etanol 70% memiliki serapan 309. Serapan yang terjadi pada pita I disebabkan oleh adanya eksitasi elektron dari $\pi - \pi^*$ yang diindikasikan kromofor ikatan rangkap C=C terkonjugasi pada cincin aromatik dan pada pita II diindikasikan adanya kromofor C=O yang disebabkan adanya eksitasi dari $n - \pi^*$.

Gugus C=O pada pita II memiliki energi yang lebih besar dibandingkan gugus C=C pada pita I. Hasil penelitian menunjukkan bahwa absorbansi mengalami kenaikan pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat hasil kolom. Bertambahnya nilai absorbansi terjadi dimungkinkan senyawa metabolit sekunder terutama flavonoid yang terekstrak semakin banyak. Dugaan senyawa flavonoid yang terkandung didukung hasil fitokimia yang positif dari ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan hasil kolom. Hasil FTIR memperkuat dugaan senyawa flavonoid yang terekstrak dengan adanya gugus C=O pada ekstrak etanol 70%, etil asetat, dan isolat hasil kolom.

Jannah (2022) melakukan penambahan pereaksi geser berupa $AlCl_3$ 10% dan natrium asetat pada isolat hasil kolom dan diidentifikasi pada panjang gelombang 200 – 800 nm menunjukkan pergeseran batokromik pada pita I sebesar (269 nm) dan pita II (437 nm). Berdasarkan pergeseran panjang gelombang tersebut isolat hasil kolom memiliki gugus utama berupa flavonol dengan gugus tambahan berupa gugus hidroksi pada C_5 dan C_7 pada cincin A, serta gugus hidroksi dengan

posisi orto (C_4) pada cincin B, yang merupakan senyawa kuersetin (5,7,3',4'- tetra hidroksi flavonol).

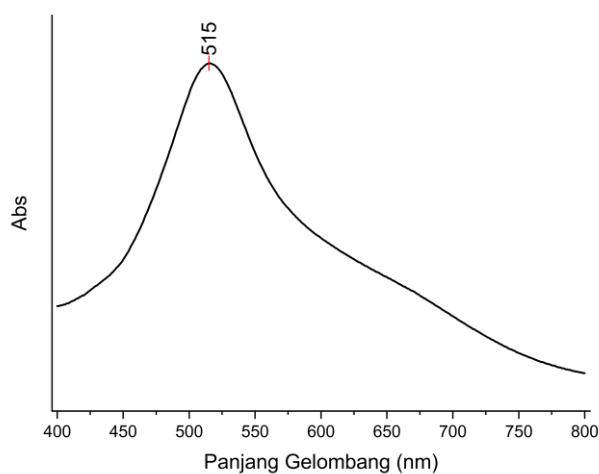
Meng Li *et al* (2017) menjelaskan lebih spesifik bahwa pada rentang 250 - 280 nm (pita II) dan 328 – 357 nm (pita 1) merupakan khas daerah flavonol (3-OH tersubstitusi). Hal tersebut serupa dengan penelitian yang dilakukan Suhendi *et al* (2011) yang mengidentifikasi isolat flavonoid dari daun Dewandaru, hasil UV-Vis menunjukkan bahwa sampel memiliki daerah serapan 264 nm (pita I) dan 344 nm (pita II) yang mengindikasikan senyawa flavonol (3-OH tersubstitusi).

Bjracharya *et al* (2017) menjelaskan bahwa semua flavonoid memiliki serapan maksimum pada daerah 240-290 nm (pita II) oleh gugus benzoil, yang didasarkan pada konjugasi dari cincin A dan pola substitusinya. Pada cincin B dan C yang terkonjugasi (melalui ikatan rangkap antara karbon C_2 dan C_3 pada cincin C) dan memiliki serapan maksimum pada daerah 330-550 nm (pita I) oleh gugus sinamoil, dengan klasifikasi daerah 305 - 385 nm untuk flavon dan flavonol, serta 460-550 nm untuk antosianin.

4.8 Uji Aktivitas Antioksidan

4.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui serapan tertinggi pada panjang gelombang 400-800. Panjang gelombang maksimum pada pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH berkisar antara 515 – 520 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang pada penelitian ini sebesar 515 nm yang memiliki warna ungu yang ditunjukkan pada Gambar 4.15.



Gambar 4. 16 Panjang gelombang maksimum DPPH

4.8.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Isolat Hasil Kromatografi Kolom

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dengan larutan kontrol etanol p.a dan DPPH 0.2 mM, kemudian diukur panjang gelombang dengan spektrofotometer UV-Vis sebesar 515 nm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4. 5 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai IC_{50} isolat hasil kromatografi kolom

Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan Isolat Hasil Kolom			% Aktivitas Antioksidan Vitamin C		
	% Aktivitas Antioksidan Isolat Hasil Kolom	IC_{50} (ppm)	AAI (ppm)	% Aktivitas Antioksidan Vitamin C	IC_{50} (ppm)	AAI (ppm)
10	37,000			49,753		
20	46,688			57,963		
30	53,749	28,891	3,461	64,860	8,346	11,981
40	57,580			67,980		
50	60,262			75,041		

Berdasarkan Tabel 4.6 didapatkan IC_{50} dari isolat hasil kolom sebesar 28,891 ppm (AAI = 3,461) yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai $IC_{50} < 50$ dan nilai AAI > 2 . Vitamin C sebagai

pembandingan memiliki nilai IC_{50} sebesar 8,346 (AAI = 11,981). Nilai IC_{50} yang didapatkan isolat hasil kolom lebih berpotensi sebagai antioksidan karena mendekati nilai IC_{50} dari vitamin C. Persen aktivitas antioksidan akan meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi. Hal ini dikarenakan semakin tingginya konsentrasi semakin banyak senyawa aktif yang mendonorkan atom H pada radikal DPPH dan terbentuknya senyawa DPPH-H yang stabil. Penelitian Saman (2013) fraksi etil asetat rimpang Jeringau memiliki aktivitas antioksidan sedang sebesar 225,50 ppm.

Hasil isolasi kolom fraksi etil asetat diduga mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol. Hasil isolasi diperkuat dengan adanya gugus C=O dan C=C pada panjang gelombang 256 nm dan 342 nm. Hasil FTIR memperkuat dugaan senyawa flavonoid golongan flavonol dengan adanya gugus -OH, C=C aromatik, C=O karbonil, dan C-H aromatik. Senyawa flavonoid golongan flavonol memiliki aktivitas antioksidan karena adanya gugus hidroksil pada posisi 2 dari gugus heterosiklik piran yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil.

4.9 Pemanfaatan Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) dalam Perspektif Islam

Jeringau merupakan tanaman yang kaya akan manfaat karena kandungan senyawa aktif di dalamnya, salah satunya adalah flavonoid. Senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai bahan obat. Hal tersebut dibuktikan dalam penelitian ini yang berpotensi sebagai aktivitas antioksidan yang sangat baik karena menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 28,891 ppm. Rimpang Jeringau ini membuktikan bahwa memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas yang dapat

menyebabkan berbagai penyakit. Sebagaimana firman Allah Swt dalam surat al Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْفَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَٰ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”

Tafsir QS. Al Luqman: 10 Oleh Quraish Shihab yakni Allah menciptakan langit tanpa tiang-tiang yang dapat kalian lihat. Menjadikan gunung-gunung yang kokoh di bumi agar tidak menggoyangkan kalian dan mengembangbiakkan segala macam hewan yang melata dan bergerak. Kami turunkan hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengannya di bumi segala macam yang baik dan bermanfaat. Tumbuhan bermanfaat yang Allah turunkan salah satunya yaitu rimpang Jeringau yang memiliki manfaat dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai obat yang merupakan cara untuk menyembuhkan penyakit. Oleh karena itu, umat muslim yang telah dibekali oleh akal dan pikiran harus semaksimal mungkin dalam memanfaatkannya. Salah satu cara dan usaha yang dapat dilakukan adalah dengan meneliti kandungan dan manfaat dari Jeringau tersebut, sebagaimana dijelaskan pada al-Quran surat Ali-Imron ayat 190-191.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا تُسَبِّحُكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan

berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.” (Q.S Ali ‘Imron 190-191)

Tafsir Q S surat Ali Imron: 190-191 oleh Al-Mukhtasar Allah SWT memerintahkan untuk merenungkan penciptaan siang dan malam sebagai tanda keagungan dan keesaan Allah SWT. Tanda-tanda keagungan dan keesaanNya dapat dilihat oleh orang-orang yang mau menggunakan akalinya untuk berpikir yaitu ulul albab. Ulul albab merupakan orang-orang yang mampu menggunakan akal untuk berpikir secara bersih. Dalam penelitian ini memanfaatkan akal pikiran melalui penelitian rimpang Jeringau untuk dijadikan obat, karena tidak ada penyakit tanpa obatnya. Sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW dalam hadist yang diriwayatkan oleh Muslim yang berbunyi:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

“Semua penyakit ada obatnya. Apabila sesuai antara obat dan penyakitnya, maka (penyakit) akan sembuh dengan izin Allah Swt.” (HR.Muslim)

Berdasarkan hadits riwayat Muslim menjelaskan bahwasannya semua penyakit pasti ada obatnya dan jika Allah telah berkehendak untuk kesembuhan pasti akan sembuh. Artinya Allah SWT menurunkan segala penyakit dan menurunkan juga obatnya. Kewajiban kita sebagai umat muslim harus berusaha dan berikhtiar sebagaimana yang telah dijelaskan pada al-Quran surah Ali-Imron ayat 190-191 diatas. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini, Jeringau tidak hanya tumbuhan rawa yang liar akan tetapi bagian-bagiannya memiliki manfaat, salah satunya yang sering dimanfaatkan adalah rimpangnya yang mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid.

Kandungan tersebut dapat bertindak sebagai penangkal radikal bebas di dalam tubuh. Informasi tersebut dapat memberikan manfaat bagi masyarakat agar dapat memanfaatkan tanaman yang Allah telah ciptakan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil pemisahan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat rimpang Jeringau ditandai dengan terbentuknya noda pemisahan bulat yang berwarna ungu dengan nilai R_f 0,45.
2. Hasil identifikasi isolat hasil kromatografi kolom dengan instrumen UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada daerah 342 nm (pita I) dan 256 nm (pita II) dan hasil FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=C aromatik, C-H aromatik, C=O ulur karbonil, C-H alifatik, C=O alkil keton, C-O alkohol sekunder, dan C-O-C *stretching*.
3. Isolat hasil kromatografi kolom memiliki aktivitas antioksidan sebesar 28,891 ppm dan tergolong sangat kuat.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan partisi pada fasa air untuk mengetahui banyaknya rendemen yang dihasilkan dibandingkan dengan fasa organik.
2. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut menggunakan instrumen LC-MS untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, E. I. (2010). Isolasi dan Identifikasi Struktur Molekul Serta Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Kimia dari Ekstrak n-Heksana Rimpang Dringo (*Acorus calamus* Linn.). *Skripsi*. Universitas Indonesia
- Adfa, M., Livandri, F., Meita, N. P., Manaf, S., Ninomiya, M., Gustian, I., Putranto, A. M. H., Supriati, R., & Koketsu, M. (2015). Termiticidal activity of *Acorus calamus* Linn. Rhizomes and its main constituents against *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(1), 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.10.012>
- Adhiatama, I., Zainudin, M., & Rokhati, N. (2012). Hidrolisis Kitosan Menggunakan Katalis Asam Klorida (HCl). *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1), 245-251.
- Afriani, S., Idiawati, N., Destiarti, L., & Arianie, L. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Daging Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) Dengan Metode Dpph Dan Tiosianat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(1).
- Aida, W. (2011). Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. *International Food Research Journal*, 18(3), 931-939.
- Alfaridz, F., & Amalia, R. (2018). Review Jurnal : Klasifikasi Dan Aktivitas Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*, 16(3).
- Ali, S. S. N., Wydiamala, E., & Hayatie, L. (2021). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Jeringau (*Acorus calamus* L.) Sebagai Larvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Homeastasis*, 4(1), 1-10.
- Amin, A., Wunas, J., & Anin, Y. M. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia Quadrifida* R.Br) Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 111–114. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.180>
- Anisa, N., Amaliah, N. A., Haq, P. M. A., & Arifin, A. N. (2019). Efektifitas Anti Inflamasi Daun Mangga (*Mangifera Indica*) Terhadap Luka Bakar Derajat Dua. *Sainsmat : Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.35580/sainsmat81101182019>

- Anova, I. T., & Yeni, G. (2020). Rasio Pelarut Etanol Dan Etil Asetat Pada Proses Ekstraksi Terhadap Karakteristik Katekin Dari Gambir. *Jurnal Litbang Industri*, 10(2), 121. <https://doi.org/10.24960/jli.v10i2.6506.121-127>
- Anugraini, A., Syahbanu, I., & Melati, H. A. (2018). Pengaruh Waktu Sonikasi Terhadap Karakteristik Selulosa Asetat Hasil Sintesis Dari Sabut Pinang, *Jurnal kimia khatulistiwa*, 7(3).
- Ardiningsih, P., & Nofiani, R. (2012). Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Garcinia Dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1)..
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- Arifin, T. S. M. (2021). Aktivitas Antioksidan dan Warna Bakso Daging Sapi Penambahan Bubuk Daun Cemba (*Albizia Lebbeckoides* [Dc.] Benth). *Skripsi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Arsa, A. A., Achmad, Z. (2020). Ekstraksi Minyak Atsiri dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma Aeruginosa* Roxb) dengan Pelarut Etanol dan n-Heksana. *Jurnal Teknologi Techonoscientia*, 13(1).
- Artini, P. E., Astuti, K., Warditani, N. (2013). Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4).
- B, Mutmainnah. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2), 36. <https://doi.org/10.32382/mf.v13i2.880>
- Babar, P. S., Deshmukh, A. V., Salunkhe, S. S., & Chavan, J. J. (2020). Micropropagation, polyphenol content and biological properties of Sweet Flag (*Acorus calamus*): A potent medicinal and aromatic herb. *Vegetos*, 33(2), 296–303. <https://doi.org/10.1007/s42535-020-00107-8>
- Bajracharya, G. B., Paudel, M., C, Rajendra. K. (2017). Insight Into the Structure Elucidation of Flavonoids Throught UV-Visible Spectral Analysis of Quercetin Derivatives Using Schiff Reagents. *J. Nepal Chem Society*, 37.

- Barua, C. C., Sen, S., Das, A. S., Talukdar, A., Hazarika, J., Barua, A. G., Baruah, A. M., & Barua, I. (2014). A comparative study of the in vitro antioxidant property of different extracts of *Acorus calamus* Linn. *J. Nat Prod Plant Resous*, 4(1), 8-18.
- Candani, D., Ulfah, M., Noviana, W., & Zainul, R. (2018). Pemanfaatan Teknologi Sonikasi. *A Review*. Sumatera Barat: Universitas Negeri Padang. <https://doi.org/10.31227/osf.io/uxknv>
- Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), 397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>
- Cahyani, D. R., Tamrin., Faradilla, F. (2020). Evaluasi Metode In Vitro Pada Analisis Aktivitas Antioksidan Beberapa Buah Tropis. *J. Sains dan Teknologi Pangan*, 5(6).
- Chandra, D., & Prasad, K. (2017). Phytochemicals of *Acorus calamus* (Sweet flag). *Journal Of Medicinal Plants Studies*, 5(5), 277-281.
- Devi, S. A., & Ganjewala, D. (2011). Antioxidant Activities of Methanolic Extracts of Sweet-Flag (*Acorus calamus*) Leaves and Rhizomes. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/10496475.2010.509659>
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197-202.
- Dewi, N. W. R. K., Gunawan, I. W., & Puspawati, N. M. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid Dari Ekstrak Etil Asetat Daun *Pranajiwa* (*Euchresta Horsfieldii* Lesch Benn.). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 5(1), 26. <https://doi.org/10.24843/Ck.2017.V05.I01.P04>
- Dwimayasanti, R. (2018). Rumput Laut: Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas. *OSEANA*, 43(2), 13–23. <https://doi.org/10.14203/oseana.2018.Vol.43No.2.17>

- Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Erviana, L., & Malik, A. (2016). Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 164-66.
- Farmanova, N. T., Pulatova, L. T., Mambetova, D. I., Nurullaev, A. D., & Khudoykulova, D. K. (2021). Chemical Composition Of The Urology Collection. *Chemistry of Plant Raw Material*, 1, 227–232. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021017542>
- Fasya, A. G., Dinasti, A. R., Shofiyah, M., Rahmawati, L. M., Millati, N., Safitri, D. A., Handoko, S., Hanapi, A., & Ningsih, R. (2016). Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* *ALCHEMY*, 5(1), 5. <https://doi.org/10.18860/al.v5i1.3686>
- Fasya, A. G., Tyas, A. P., Mubarakah, F. A., Ningsih, R., & Madjid, A. D. R. (2018). Variasi Diameter Kolom dan Rasio Sampel-Silika pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *ALCHEMY*, 6(2), 57. <https://doi.org/10.18860/al.v6i2.7015>
- Fitri, K. N. (2017). Variasi Laju Alir Pada Isolasi Steroid Dan Terpenoid Alga Merah *Eucheuma Cottoni* Metode Kromatografi Kolom. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fithrony, A. H. (2021). Uji Toksisitas Dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Air, N-Heksana, Dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L*) Ekstraksi Sonikai. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Gholkar, M., Laddha, K., & Mulik, M. (2013). Fate of B-Asarone In Ayurvedic Sodhana Process Of Vacha. *Journal Of Ayurveda And Integrative Medicine*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.109545>
- Gustiana, S., Mustariani, B. A. A., Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) Dan Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Sebagai Zat Aktif Masker Wajah. *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1).

- Halimu, R. B., Sulistijowati, R. S., & Mile, L. (2017). Identifikasi Kandungan Tanin pada *Sonneratia Alba*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 5(4).
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., Veteran, J., & Korespodensi, P. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 11.
- Handayani, S., Kurniawati, I., & Rasyid, F. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil): *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15022>
- Hani, R. C., & Milanda, T. (2016). Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *FARMAKA*, 14(1).
- Hartanti, A. I., Permana, I. D. G. M., & Puspawati, G. A. K. D. (2021). Pengaruh Konsentrasi Etanol Pada Metode Ultrasonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Gonda (*Sphenoclea zeylanica*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(2), 163–171. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i02.p01>
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & . V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 1. <https://doi.org/10.24843/JFU.2021.v10.i01.p01>
- Hendrajaya, Kusuma. (2003). Skrinning Fitokimia Limbang Rimpang Jeringau *Acorus Calamus* L. Yang Telah Terdestilasi Minyak Atsirinya. *Proseding Seminar Dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Xxii*, 159-165.
- Heriani, F. A., Sari, S. P., Oktasari, A. (2021). Antioxidant Activity of Uli Banana Peel Extract (*Musa x Paradisiaca* L. AAB). *Jurnal Sains dan Ilmu Terapan*, 3(2).
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & . V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 1(1). <https://doi.org/10.24843/Jfu.2021.V10.I01.P01>
- Illing, I., Safitri, W., Erfiana, E. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal uncp*, 8(1).

- Ilyas, A., Novianty, I., & Irmayanti, I. (2015). Senyawa Golongan Steroid dari Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Kayu Bitti (*Vitex cofassus*) Dan Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina* Leach. *Chimica et Natura Acta*, 3(3), Article 3. <https://doi.org/10.24198/cna.v3.n3.9220>
- Joshi, N., Prakash, O., & Pant, A. K. (2012). Essential oil Composition and *in vitro* Antibacterial Activity of Rhizome Essential Oil and β -Asarone from *Acorus calamus* L. Collected from Lower Himalayan Region of Utarakhand. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(1), 32–37. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644016>
- Jumiati, E., Ismandari, T., Amarullah, & Willem. (2022). The Potency of Karamunting Borneo Plants From Weeds Into Herbs. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1083(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1083/1/012003>
- Khotimah, S., & Yanti, A. H. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Biological Sciences*, 3(3).
- Kurniawati, I., Maftuch., Hariati, A. M. (2016). Penentuan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terbaik Pada Teknik Maserasi *Gracilaria* sp. Serta Pengaruhnya Terhadap Kadar Air dan Rendemen. *Jurnal Ilmu Perikanan*, 7(2).
- Kusmiyati, K., Aznam, N., & Handayani, S. (2011). Isolasi Dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val) Fraksi Etil Asetat. *Pharmaciana*, 1(2). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v1i2.519>
- Kusuma, F. A. (2021). Uji Toksisitas Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: Uin Malang.
- Larasati, A., Maini, M., & Kartika, T. (2019). Inventarisasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Di Sekitar Pekarangan Di Kelurahan Sentosa. *Indobiosains*, 1(2), 76. <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v1i2.3198>
- Lindawati, N. Y., Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L.) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1).

- Loying, R., Gogoi, R., Sarma, N., Borah, A., Munda, S., Pandey, S. K., & Lal, M. (2019). Chemical Compositions, *In-vitro* Antioxidant, Anti-microbial, Anti-inflammatory and Cytotoxic Activities of Essential Oil of *Acorus calamus* L. Rhizome from North-East India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(5), 1299–1312. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1696236>
- Mailuhu, M., Runtuwane, M. R. J., Koleangan, H. S. J. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Sayogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chem Prog*, 10(1).
- Majidah, Ba'itsatul. (2019). Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella* Sp. *Skripsi*. Malang: Uin Malang.
- Malanggi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.423>
- Mamta, S., & Jyoti, S. (2012). Phytochemical Screening Of *Acorus Calamus* And *Lantana Camara*. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(5), 324-326.
- Mardiyah, U., Fasya, A. G., & Amalia, S. (2014). Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dari Perairan Banyuwangi. *ALCHEMY:Journal of Chemistry*, 0, Article 0. <https://doi.org/10.18860/al.v0i0.2895>
- Mariana, L., & Andayani, Y. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. *Chem Prog*, 6(2).
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Press.
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit Itb.
- Mawaddah. (2019). Uji Toksisitas Isolat Teroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi N-Heksana *Hydrilla Verticilla*. *Skripsi*. Malang: Uin Malang.
- Meng Li., Hao, Z., Feng, W. 2017. *Isolation and Sctructure Identification of Flavonoids*. Croatia: Jariza Trdine

- Muchtaromah, B., Annisa, R., & Sofiya, S. (2019). Pengaruh Poliherbal Ekstrak Jeringau, Temu Mangga Dan Bawang Putih Pada Fungsi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*). *Biosel: Biology Science and Education*, 8(1), 71. <https://doi.org/10.33477/bs.v8i1.848>
- Muhridja, M., Bialangi, N., & Musa, Ja. (2016). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Aktif Repellent Nyamuk Dari Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus*). *Jurnal Entropi*, 11(2).
- Murphy, A., Norton, E., Montgomery, F., K. Jaiswal, A., & Jaiswal, S. (2020). Ultrasound-Assisted Extraction Of Polyphenols From Ginger (*Zingiber Officinale*) And Evaluation Of Its Antioxidant And Antimicrobial Properties. *Journal Of Food Chemistry & Nanotechnology*, 6(2). <https://doi.org/10.17756/Jfcn.2020-088>
- Muthulakshmi T., Saleh, A. M., Kumari, N. V., Priya, M. K., V, Palanichamy. (2015). Screening of Phytochemicals and in Vitro Antioxidant activity of *Acorus Calamus*. *International Journal of Drug Development and Research*, 7(1).
- Nanda, B. L. (2014). Determination Of Phytochemicals And Antioxidant Activity Of *Acorus calamus* Rhizome. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 4(6), Article 6. <https://doi.org/10.22270/jddt.v4i6.1005>
- Ningrum, D. W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea* Lamk). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(3), 123–129. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.123-129>
- Novita, M., Mangimbulude, J., & Rondonuwu, F. S. (2010). Karakteristik Likopen Sebagai Antioksidan. *Prosding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains*. Jawa Tengah: Universitas Kristen Satya Kencana.
- Nuari, S., Anam, S., & Khumaidi, A. (2017). Isolation and Identification of Flavonoid Compounds from Ethanol Extract of Red Dragon Fruits (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 3(2), 118–125. <https://doi.org/10.22487/j24428744.0.v0.i0.8771>
- Nurfitriyana, A. (2012). Signifikansi Kavitas Ultrasonik Dan Hidrodinamik Terhadap Karakteristik Produk Oksidasi Penyisihan Limbah Fenol Dengan Proses Oksidasi Lanjut Berbasis Ozon. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.

- Oktaviantari, D. E., Feladita, N., & Agustin, R. (2021). Identification Of Hydroquinones In Cleaning Bleaching Soap Face At Three Beauty Clinics In Bandar Lampung With Thin Layer Chromatography And Uv-Vis Spectrophotometry. *Jurnal Analis Farmasi*, 6(2).
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Parwata, I. M. O. A., Kusuma, I. N. A., & Dewi, I. G. A. K. S. P. (2022). Kadar Total Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia*, 20. <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2022.v16.i01.p03>
- Podungge, M. R., Salimi, Y. K., & Duengo, S. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (*Coleus Scutelleroides* Benth.). *Jurnal Entropi*, 12(1).
- Putriani, E. N., Utami, H., & Ginting, S. Br. (2019). Pengaruh Jenis Solubility Promotor dan Waktu Reaksi pada Sintesis α -Terpineol dari Minyak Terpentin Menggunakan Katalis Zeolit Alam Lampung Teraktivasi. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 8(2).
- Quintero Quiroz, J., Naranjo Duran, A. M., Silva Garcia, M., Ciro Gomez, G. L., & Rojas Camargo, J. J. (2019). Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Annatto Seeds, Evaluation of Their Antimicrobial and Antioxidant Activity, and Identification of Main Compounds by LC/ESI-MS Analysis. *International Journal of Food Science*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/3721828>
- Rahardian & Masduqi. (2021). Determinasi Total Flavonoid Dan Total Fenolik Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Dengan Perbedaan Konsentrasi Pelarut. *Media Farmasi Indonesia*. <https://Mfi.Stifar.Ac.Id/Mfi/Article/View/169>
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *al-Kimiya*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.345>
- Rahmawati, Y. D. (2017). Variasi Eluen Pada Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma Spinosum* Menggunakan Kromatografi Kolom Basah. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia (Indonesian Journal of Agrotech)*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.33661/jai.v2i1.721>
- Rajput, S. B., Tonge, M. B., & Karuppayil, S. M. (2014). An overview on traditional uses and pharmacological profile of *Acorus calamus* Linn. (Sweet flag) and other *Acorus* species. *Phytomedicine*, 21(3), 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.020>
- Rengarajan, S., Melanathuru, V., Govindasamy, C., Chinnadurai, V., & Elsadek, M. F. (2020). Antioxidant activity of flavonoid compounds isolated from the petals of *Hibiscus rosa sinensis*. *Journal of King Saud University - Science*, 32(3), 2236–2242. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.02.028>
- Ritna, A., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 2(2), 83–89. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5957>
- Riwanti, P., Izazih, & F., Amaliyah, A. (2018). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 Dan 96% Sargassum Polycystum Dari Madura. *Journal Of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 35–48. <https://doi.org/10.36932/Jpcam.V2i2.1>
- Rosyidah, K., Rizki, M. A., & Astuti, M. D. (2022). Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat dan Metanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii*). *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 7(1).
- Sadimo, M. M., Said, I., & Mustapa, K. (2017). Pembuatan Bioetanol Dari Pati Umbi Talas (*Colocasia esculenta* [L] Schott) Melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Jurnal Akademika Kimia*, 5(2), 79. <https://doi.org/10.22487/j24775185.2016.v5.i2.8016>
- Safrina, N., & Susanti, R. (2018). Uji Efek Antiin amasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus Sp.*) terhadap Radang Kaki Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal CDK*, 45(6).
- Salim, Z., & Munadi, E. (2017). *Info Komoditi Tanaman Obat*. Jakarta: Kementerian Perdagangan Republik Indonesia.

- Saman, Sri In. (2013). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau. *Skripsi*. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Sarau, G., Bochmann, A., Lewandowska, R., & Christianse, S. (2012). From Micro– to Macro–Raman Spectroscopy: Solar Silicon for a Case Study. In M. Akhyar Farrukh (Ed.), *Advanced Aspects of Spectroscopy*. InTech. <https://doi.org/10.5772/48143>
- Sari, D. K., Wardhani, D. H., & Prasetyaningrum, A. (2012). Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Prosding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, 1(1).
- Sari, N. W., & Fajri, M. (2018). Analisis Fitokimia Dan Gugus Fungsi Dari Ekstrak Etanol Pisang Goroho Merah (*Musa Acuminate* (L)). *Indonesia n Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1).
- Sariningsih, P., & Rita, W. S. (2015). Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Pengendali Jamur *Fusarium* Sp. Pada Tanaman Buah Naga. *Jurnal Kimia*, 9(1).
- Satolom, C. C. (2015). Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal MIPA*, 4(1), 40. <https://doi.org/10.35799/jm.4.1.2015.6903>
- Setiawan, F. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*, 2(2).
- Sharma, V., Sharma, R., Gautam, D., Kuca, K., Nepovimova, E., & Martins, N. (2020). Role of Vacha (*Acorus calamus* Linn.) in Neurological and Metabolic Disorders: Evidence from Ethnopharmacology, Phytochemistry, Pharmacology and Clinical Study. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4), 1176. <https://doi.org/10.3390/jcm9041176>
- Silaa, A. E., Paransa, D. S., Rumengan, A. P., Kemer, K., Rumampuk, N. D., & Manoppo, H. (2019). Pemisahan Jenis Pigmen Karotenoid Dari Kepiting *Grapsus* sp Jantan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 7(2), 121. <https://doi.org/10.35800/jplt.7.2.2019.24247>

- Silalahi, M. (2018). Senyawa Bioaktif Pada *Acorus Calamus* (L.) Dan Pemanfaatannya Sebagai Obat Kanker Dan Antimikroba. *Jurnal Dinamika Pendidikan*, 11(1), 95. <https://doi.org/10.33541/jdp.v11i1.799>
- Sirwutubun, M., Ludong, M. M., & Rawung, D. (2016). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Karakteristik Ekstrak Pewarna Alami Buah Meerah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dan Aplikasinya Pada Produk. *Indonesia One Search*, 7(5).
- Sofyan, A., Widodo, E., & Natsir, H. (2017). Komponen Bioaktif, Aktivitas Antioksidan Dan Profil Asam Lemak Ekstrak Rimpang Jeringau Merah (*Acorus sp*) dan Jeringau Putih (*Acorus calamus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 18(3), Article 3. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2017.018.03.17>
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i1.698>
- Suhendi, A., Rahmawan, L., Hanwar, D. (2011). Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandru (*Eugenia uniflora* L.). *PHARMACON*, 12(2), 73-81.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 27–35. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04>
- Sukmawati, N. A. (2012). Isolasi, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Dlingo. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebesal Maret.
- Sulastri, S. (2009). Modifikasi Silika Gel Dalam Kaitannya Dengan Peningkatan Manfaat. *Prosding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sunarni, T. (2007). Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111-116.
- Tagousop, C. N., Tamokou, J.-D., Ekom, S. E., Ngnokam, D., & Voutquenne-Nazabadioko, L. (2018). Antimicrobial activities of flavonoid glycosides from *Graptophyllum grandulosum* and their mechanism of antibacterial

action. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 252. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2321-7>

Turrini, F., Boggia, R., Leardi, R., Borriello, M., & Zunin, P. (2018). Optimization of the Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Oryza Sativa* L. 'Violet Nori' and Determination of the Antioxidant Properties of its Caryopses and Leaves. *Molecules*, 23(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/molecules23040844>

Umamaheshwari, N., & Rekha, A. (2018). *Sweet flag: (Acorus calamus)-An incredible medicinal herb*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 15-22.

Viogenta, P., Nopiyansyah, N., & Fitri, F. (1970). Fraksi Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*. <https://doi.org/10.37090/jfl.v7i2.60>

Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538–549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>

Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*, 37(2), 148. <https://doi.org/10.22146/agritech.10397>

Widyaningsih, W., Supriharyono, S., & Widyorini, N. (2016). Analisis Total Bakteri Coliform Di Perairan Muara Kali Wisu Jepara. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 5(3), 157–164. <https://doi.org/10.14710/marj.v5i3.14403>

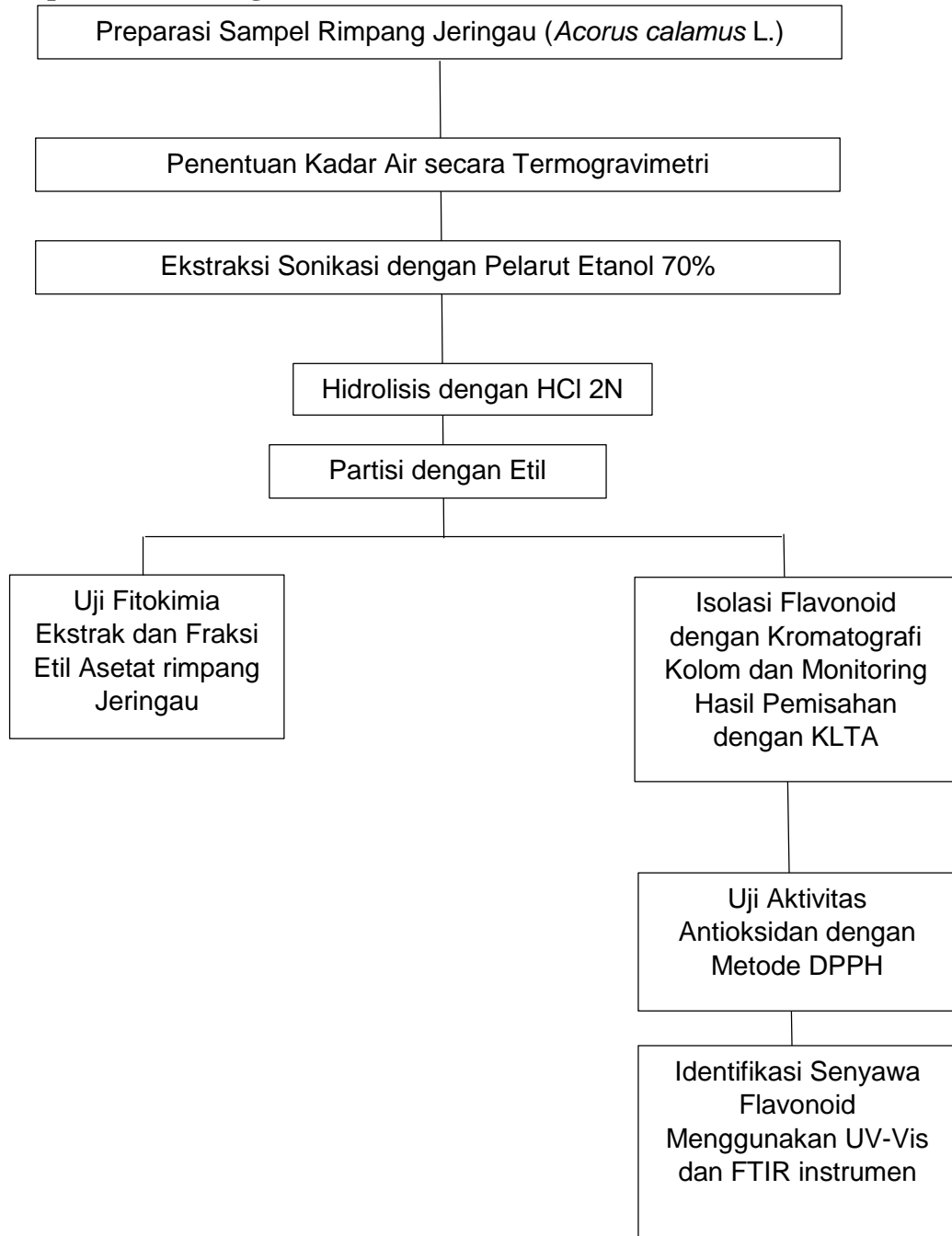
Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varigiaefolium*) Sebagai Antioksidan. *Farmaka*, 16(2), Article 2. <https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17574>

Yadnya Putra, A. A. G. R., Samirana, P. O., & Andhini, D. A. A. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Potensial Antioksidan dari Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 90. <https://doi.org/10.24843/JFU.2019.v08.i02.p05>

- Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. P. Y. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 61–70. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.891>
- Yulianti, W., Ayuningtyas, G., Martini, R., & Resmeiliana, I. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L): Effect of Extraction Method and Solvent Polarity on Total Phenolic Content of Cherry Leaves (*Muntingia calabura* L). *Jurnal Sains Terapan*, 10(2), 41–49. <https://doi.org/10.29244/jstsv.10.2.41-49>
- Yumni, G. G., Nuraini, I., & Nafis, I. J. (2022). Profil Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Fraksi Air Dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 7(1).
- Yunarto, N., Aini, N., Oktoberia, I. S., Sulistyowati, I., & Kurniatri, A. A. (2019). Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temu Lawak. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 89–96. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1930>

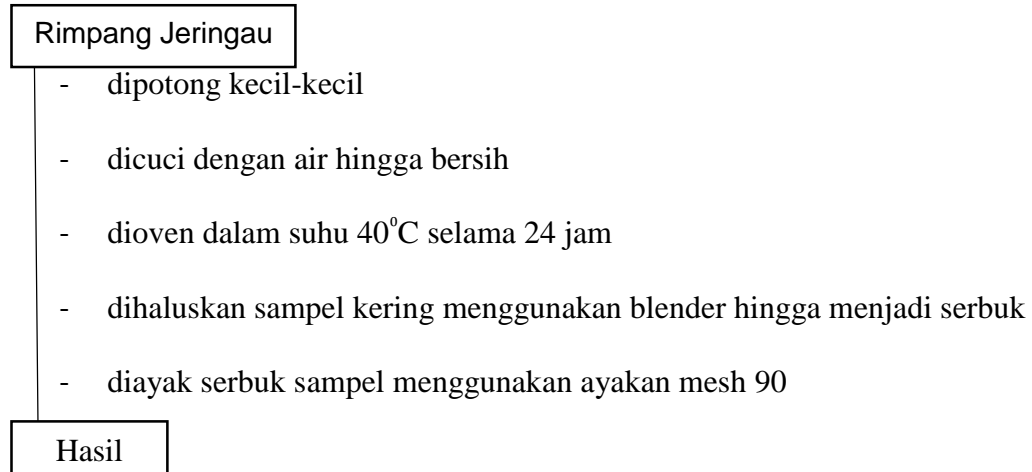
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian

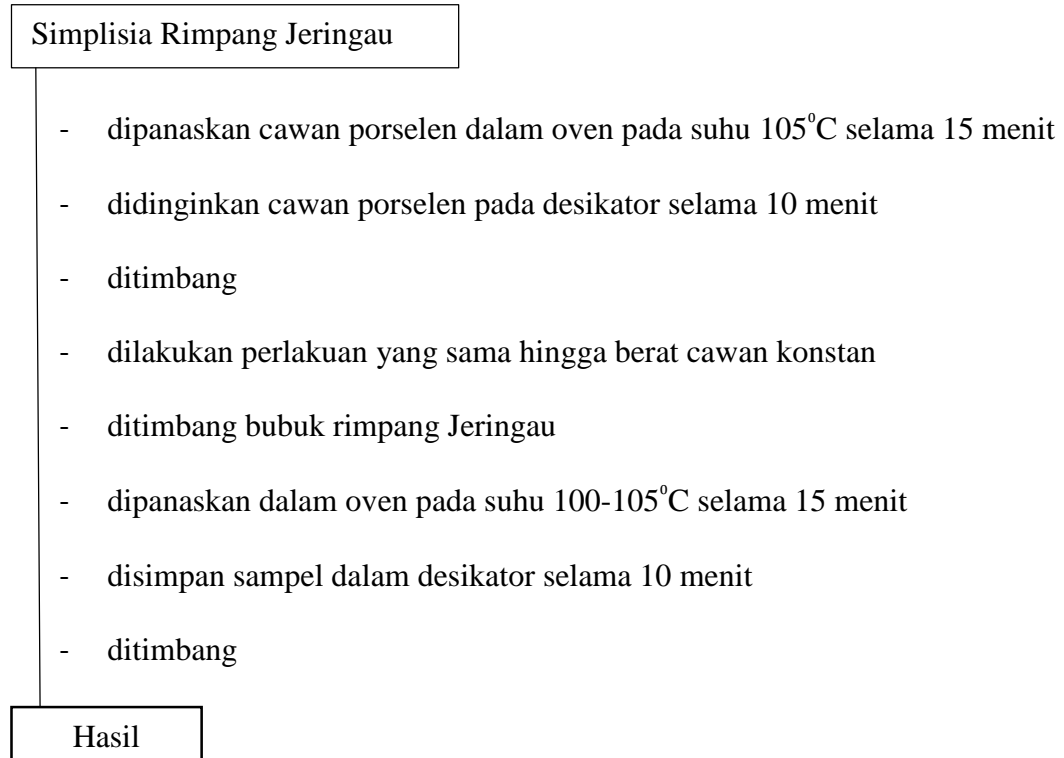


Lampiran 2 Diagram Alir

2.1 Preparasi Sampel Rimpang Jeringau



2.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri



2.3 Ekstraksi Ultrasonik Rimpang Jeringau

Simplisia rimpang Jeringau

- ditimbang sebanyak 50 gram
- dimasukkan kedalam erlenmeyer
- ditambahkan 500 mL pelarut etanol 70%
- ditempatkan pada ultrasonic
- diekstraksi selama 30 menit pada suhu kamar dengan frekuensi 47 kHz
- disaring menggunakan corong buchner
- dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 30-40°C
- ditimbang dan dihitung rendemen

Hasil

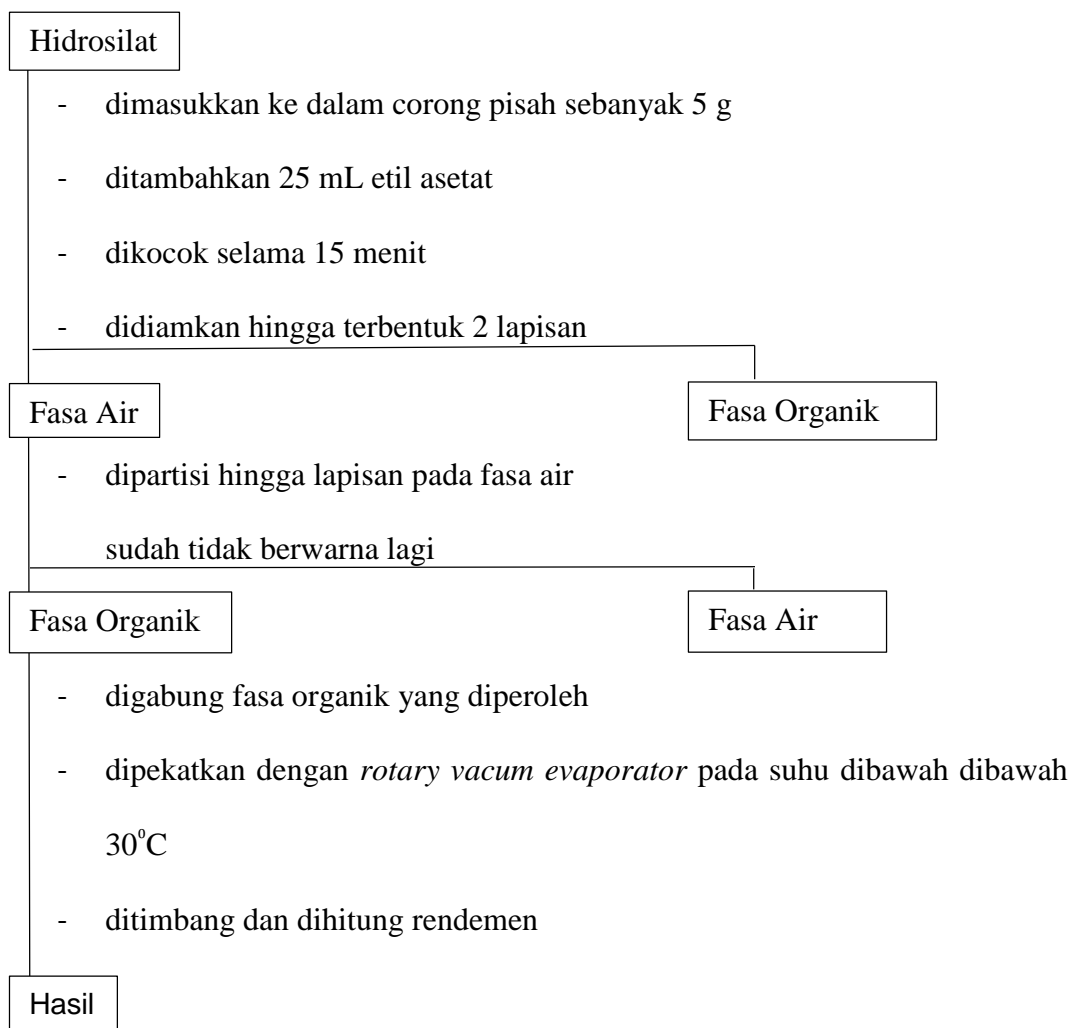
2.4 Hidrolisis

Ekstrak Pekat Etanol

- ditimbang sebanyak 5 gram
- ditambahkan HCl 2 N sebanyak 10 mL
- dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang selama 1 jam
- ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) hingga didapatkan pH netral

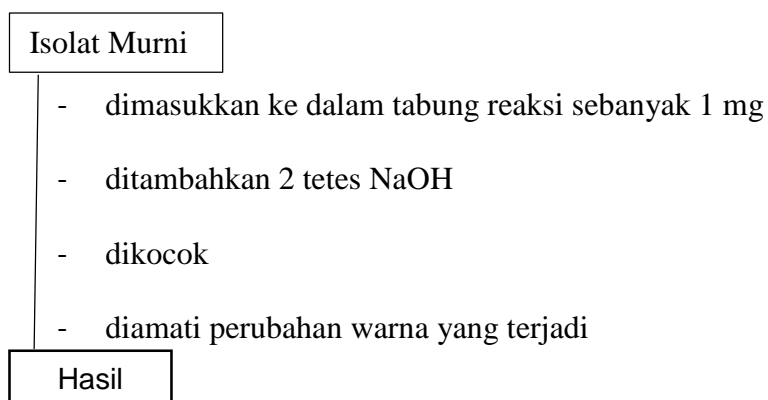
Hasil

2.5 Partisi

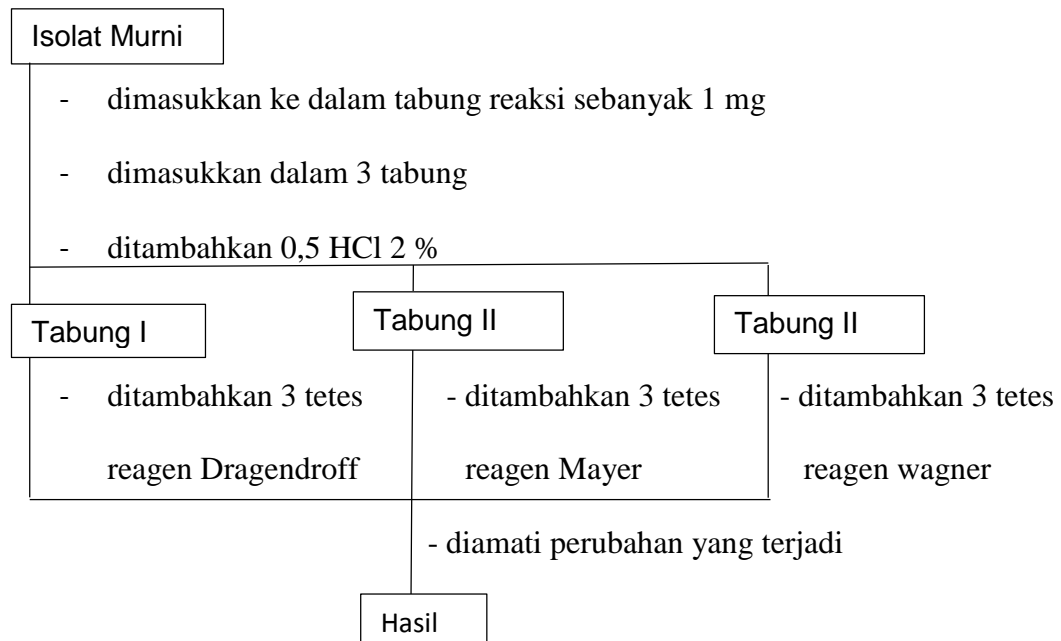


2.6 Uji Fitokimia Isolat Murni Rimpang Jeringau

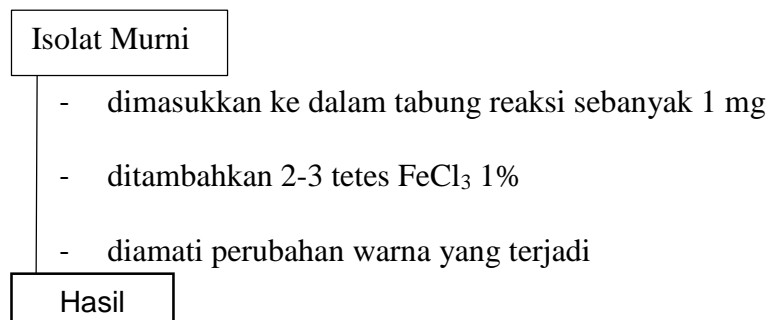
2.6.1 Uji Flavonoid



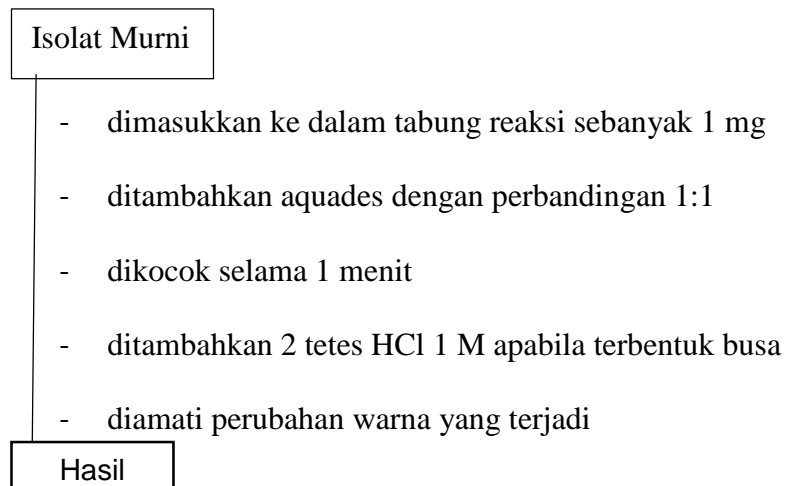
2.6.2 Uji Alkoloid



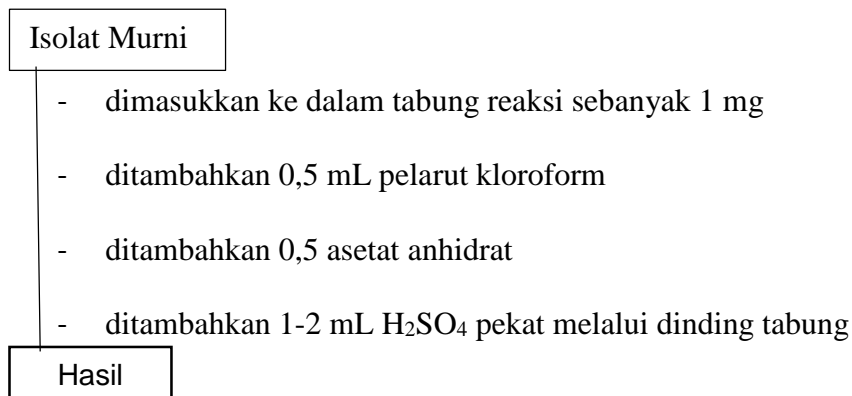
2.6.3 Uji Tanin



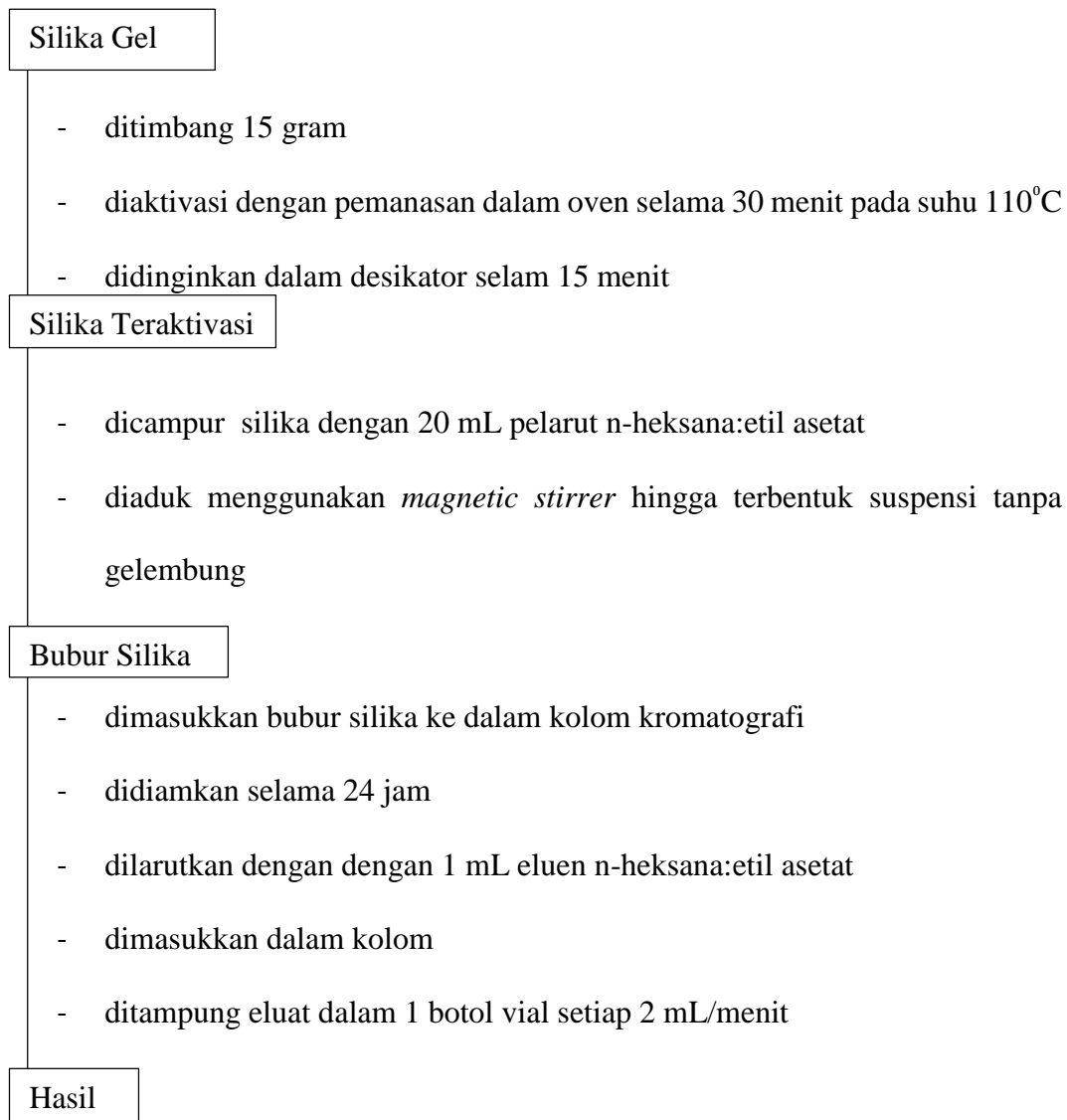
2.6.4 Uji Saponin



2.6.5 Uji Steroid dan Terpenoid



2.7 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan Metode Kromatografi Kolom



Isolat

- disiapkan eluen
- ditotolkan pada plat silika gel menggunakan pipa kapiler dengan pengulangan 10 kali
- dikeringkan
- dimasukkan dalam bejana pengembang
- dielusi sampai tanda batas atas
- dideteksi noda/spot dengan menyemprotkan amoniak
- diamati noda/spot dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm
- dihitung nilai R_f

Hasil**2.8 Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Flavonoid dengan Metode DPPH****2.8.1 Pembuatan Larutan Kontrol****Etanol p.a**

- dipipet 3 mL
- ditambahkan larutan DPPH 0,2 Mm sebanyak 1 mL
- ditutup dengan alumunium foil dan dihomogenkan
- diukur serapannya pada λ_{maks} 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

2.8.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Etanol p.a

- dipipet 3 mL
- ditambahkan larutan DPPH 0,2 Mm sebanyak 1 mL
- ditutup dengan alumunium foil dan dihomogenkan
- diukur serapannya pada λ_{maks} 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

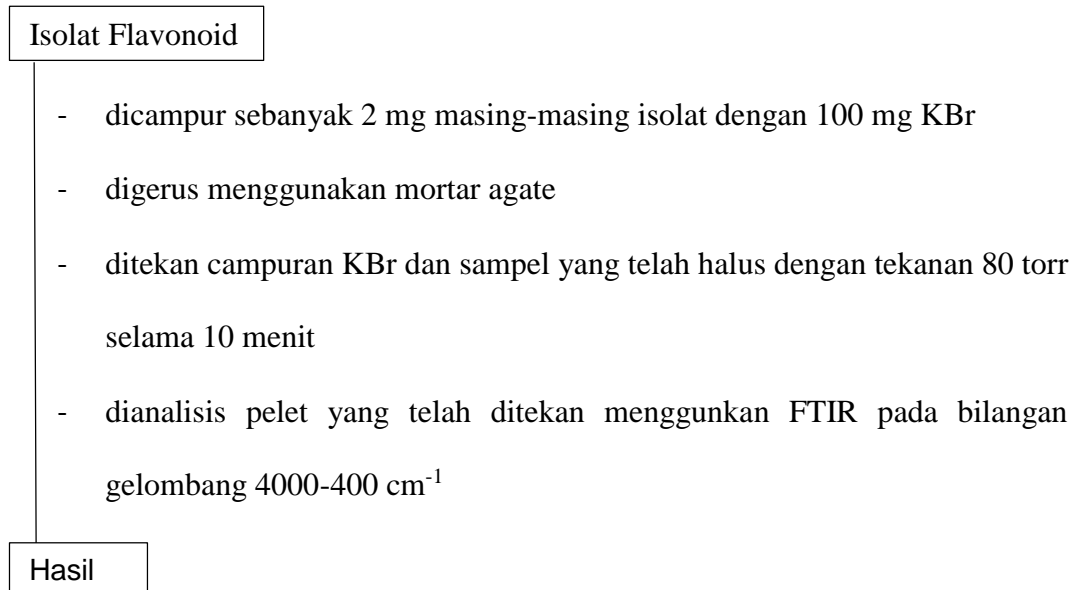
2.8.3 Penentuan Aktivitas Antioksidan rimpang Jeringau

Isolat hasil kromatografi

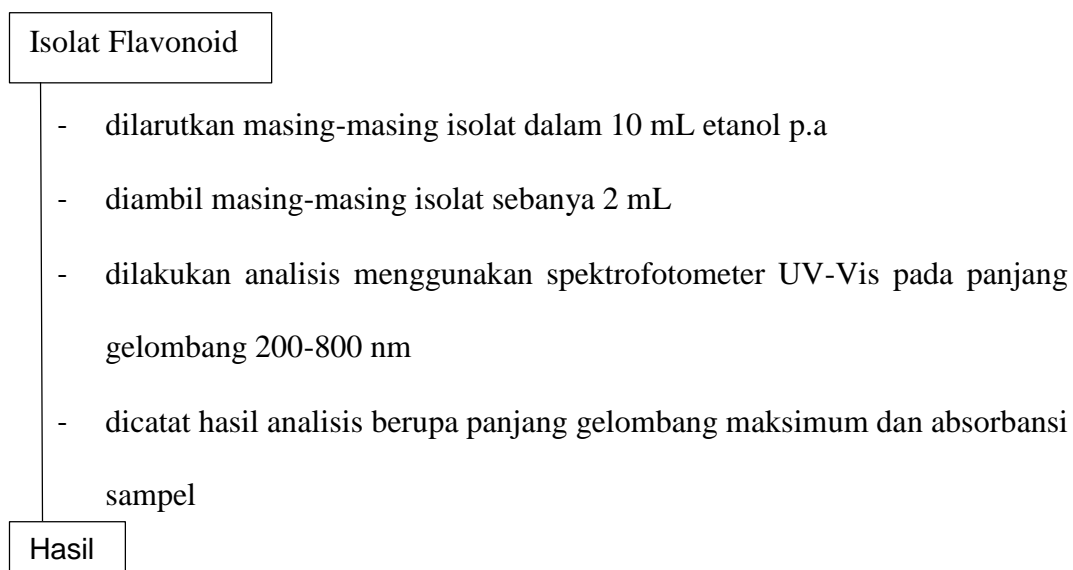
- ditimbang 2 mg
- dilarutkan dengan 20 mL etanol p.a dalam labu ukur 20 mL sehingga diperoleh konsentrasi 250 ppm
- dibuat konsentrasi 1,2,3,4,5 ppm
- diambil 3 mL isolat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 1 mL DPPH
- diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 30 menit
- diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh
- dihitung % aktivitas antioksidan

Hasil

2.9 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer FTIR



2.10 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2N

Diketahui:

- Konsentrasi HCl = 37%
- Berat molekul HCl = 36,46 g/mol
- Berat jenis larutan HCl = 1,19 g/mL = 1190 g/L
- $n = 1$ (jumlah ion H^+)

Ditanya: Larutan HCl 2N

Jawab:

- Normalitas HCl = $n \times \text{Molalitas HCl}$

$$= n \times \frac{\text{Konsentrasi HCl} \times \text{Berat jenis HCl}}{\text{Berat Molekul HCl}}$$

$$= n \times \frac{37\% \times 1190 \text{ g/L}}{36,46 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,08 \text{ N}$$

- $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$$V_1 \times 12,08 \text{ N} = 100 \text{ mL} \times 2 \text{ N}$$

$$V_1 = 16,6 \text{ mL}$$

Larutan HCl 37% diambil sebanyak 16,6 mL. Kemudian, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, ditambah aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

L.3.3 Pembuatan Larutan HCl 2%

Diketahui:

- $M_1 \text{ HCl} = 37\%$
- $M_2 \text{ HCl} = 2\%$

$$- V_2 \text{ HCl} = 100 \text{ mL}$$

Ditanya: $V_1 \text{ HCl}$?

Jawab:

$$- V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 37\% = 100 \text{ mL} \times 2\%$$

$$V_1 = 5,4 \text{ mL}$$

Larutan HCl 37% diambil sebanyak 5,4 mL. Kemudian, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, ditambah aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

L.3.4 Pembuatan Larutan FeCl_3 1%

$$- \text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} - \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4 \text{ mol}} \\ &= \frac{1\% \times 162,2 \text{ g/mol} \times V}{22,4 \text{ mol}} \\ &= 0,072 \text{ g} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Pembuatan larutan FeCl_3 1% adalah ditimbang serbuk besi (III) klorida sebanyak 72 mg. Dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Kemudian, ditambahkan ± 3 mL aquades untuk melarutkan. Selanjutnya, dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

L.3.5 Pembuatan Larutan AlCl_3 1%

$$- \text{BM AlCl}_3 = 133,5 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} - \text{Massa AlCl}_3 &= \frac{10\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4 \text{ mol}} \\ &= \frac{10\% \times 133,5 \text{ g/mol} \times V}{22,4 \text{ mol}} \end{aligned}$$

$$= 0,596 \text{ g} = 596 \text{ mg}$$

Pembuatan larutan FeCl₃ 10% adalah ditimbang serbuk besi (III) klorida sebanyak 596 mg. Dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Kemudian, ditambahkan ± 3 mL aquades untuk melarutkan. Selanjutnya, dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

L.3.6 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 Mm

$$\begin{aligned} - \text{ Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\ - 0,2 \text{ mM} &= \frac{x \text{ (mg)}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{v} \\ &= \frac{x}{394,2} \times \frac{1000}{50} \\ x &= \frac{0,2 \text{ mM} \times 394,32}{20} \\ &= 3,94 \text{ mg} \end{aligned}$$

DPPH ditimbang 3,94 mg dan dilarutkan etanol p.a 50 mL dalam labu ukur 50 mL, dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan Larutan Stok Isolat 100 ppm dalam 50 mL

$$\begin{aligned} - \text{ ppm} &= \text{mg/L} \\ - \text{ larutan stok (ppm)} &= 100 \text{ ppm dalam } 50 \text{ mL pelarutnya} \\ - \text{ ppm} &= \frac{\text{mg}}{\text{L}} \\ - 100 \text{ ppm} &= \frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}} \\ &= 5 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 50 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan sebanyak 5 mg isolat flavonoid.

- Pembuatan larutan 10 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,02 \text{ L} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,002 \text{ L} = 2 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 20 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,02 \text{ L} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,004 \text{ L} = 4 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 30 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,02 \text{ L} \times 30 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,006 \text{ L} = 6 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 40 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,02 \text{ L} \times 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,008 \text{ L} = 8 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 50 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,002 \text{ L} \times 50 \text{ ppm}$$

- $V_1 = 0,01 \text{ L} = 10 \text{ mL}$

Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L.4.1 Penentuan Kadar Air Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tabel L.4.1 Data berat cawan kosong

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)			
	Sebelum dioven	P1	P2	P3
C1	57,5592	57,5581	57,5566	57,5554
C2	55,3604	55,3588	55,3588	55,3581
C3	49,8347	49,8328	49,8336	49,8339

Tabel L.4.2 Data berat cawan + sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)			
	Sebelum dioven	P1	P2	P3
C1	58,5572	58,5049	58,5026	58,4980
C2	56,3615	56,3115	56,3081	56,3079
C3	50,8340	50,7840	50,7806	50,7804

1. Kadar air sampel pada cawan C1

Kadar air

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{(58,5572-58,4980)}{(58,5572-57,5554)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0592}{1,0018} \times 100\% \\
 &= 5,91\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar air sampel pada cawan C2

Kadar air

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{(56,3615-56,3079)}{(56,3615-55,3581)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0536}{1,0034} \times 100\% \\
 &= 5,34\%
 \end{aligned}$$

3. Kadar air sampel pada cawan C3

Kadar air

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{(50,8340-50,7804)}{(50,8340-49,8339)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0536}{1,0001} \times 100\% \\
 &= 5,36\%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Rendemen Ekstraksi Ultrasonik Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tabel L.4.3 Data hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah + Ekstrak Pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)	Rendemen (%)
1	50	101,2772	107,5591	6,2819	12,56%
2	50	101,8575	108,3100	6,4525	12,91%
3	50	99,3565	104,8067	5,4502	10,90%
Rendemen rata-rata					12,12%

1. Rendemen ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak etanol}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,2819}{50} \times 100\% \\
 &= 12,56\%
 \end{aligned}$$

2. Rendemen ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak etanol}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,4525}{50} \times 100\% \\
 &= 12,91\%
 \end{aligned}$$

3. Rendemen ulangan 3

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak etanol}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{5,4502}{50} \times 100\%$$

$$= 10,90\%$$

4. Rendemen rata-rata ekstrak etanol 70% rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

$$\text{Rendemen rata-rata} = \frac{\text{rendemen ulangan (1+2+3)}}{3} \times 100\%$$

$$= \frac{12,56\%+12,91\%+10,90\%}{3} \times 100\%$$

$$= 12,12\%$$

L.4.3 Rendemen Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tabel L.4.4 Data hasil partisi menggunakan pelarut etil asetat

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah + Ekstrak Pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)	Rendemen (%)
1	5	99,9452	100,9267	0,9815	19,63%
2	5	96,3989	97,1781	0,7792	15,58%
3	5	99,9307	100,7339	0,8032	16,06%
Rendemen rata-rata					17,09%

1. Rendemen ulangan 1

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi etil asetat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,9815}{5} \times 100\%$$

$$= 19,63\%$$

2. Rendemen ulangan 2

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi etil asetat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,7792}{5} \times 100\%$$

$$= 15,58$$

3. Rendemen ulangan 3

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi etil asetat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,8032}{5} \times 100\%$$

$$= 16,06\%$$

4. Rendemen rata-rata fraksi etil asetat rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

$$\text{Rendemen rata-rata} = \frac{\text{rendemen ulangan (1+2+3)}}{3} \times 100\%$$

$$= \frac{19,63\%+15,58\%+16,06\%}{3} \times 100\%$$

$$= 17,09\%$$

L.4.4 Rendemen Hasil Kromatografi Kolom

Tabel L.4.5 Data rendemen hasil kromatografi kolom

Vial	Berat Sampel (mg)	Berat isolat (mg)	Rendemen	Vial	Berat sampel (mg)	Berat isolat (mg)	Rendemen
60-64	600	2,1	0,35	90-94	600	0,7	0,12
65-69	600	0,2	0,03	95-99	600	3,1	0,52
70-74	600	0,2	0,03	100-104	600	0,2	0,03
75-79	600	1,3	0,22	105-109	600	0,2	0,03
80-84	600	1,2	0,20	110-114	600	4,6	0,77
85-89	600	0,4	0,06	115-118	600	0,1	0,02

1. Isolat vial 60-64

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{2,1 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,35\%$$

2. Isolat vial 65-69

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,2 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,03\%$$

3. Isolat vial 70-74

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,2 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,03\%$$

4. Isolat vial 75-79

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,3 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,22\%$$

5. Isolat vial 80-84

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,2 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,20\%$$

6. Isolat vial 85-89

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,4 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,06\%$$

7. Isolat vial 90-94

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

8. Isolat vial 95-99

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

9. Isolat vial 100-104

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,7 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,12\%$$

10. Isolat vial 105-109

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,2 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,03\%$$

$$= \frac{3,1 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,52\%$$

11. Isolat vial 110-114

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{4,6 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,77\%$$

$$= \frac{0,2 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,03\%$$

12. Isolat vial 115-118

Rendemen

$$= \frac{\text{berat isolat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,1 \text{ mg}}{600} \times 100\%$$

$$= 0,02\%$$

L.4.5 Data Monitoring KLTA

Tabel L.4.6 Data rendemen dan nilai R_f hasil kromatografi kolom

Vial	Rendemen	Jarak (cm)		R_f	Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa
		Noda	Eluen			
60-64	0,35	3,6	8	0,45	Ungu	
65-69	0,3333	3,6	8	0,45	Ungu	
70-74	0,1333	3,6	8	0,45	Ungu	
75-79	0,2167	3,6	8	0,45	Ungu	Flavon / Flavonol
80-84	0,2	3,6	8	0,45	Ungu	
85-89	0,0667	3,6	8	0,45	Ungu	
90-94	0,1167	3,6	8	0,45	Ungu	
95-99	0,0052	3,6	8	0,45	Ungu	
100-104	0,3333	3,6	8	0,45	Ungu	
105-109	0,3333	3,6	8	0,45	Ungu	
110-114	0,7667	3,6	8	0,45	Ungu	
115-118	0,0167	3,6	8	0,45	Ungu	

Isolat vial 60-118

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

$$= \frac{3,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \times 100\%$$

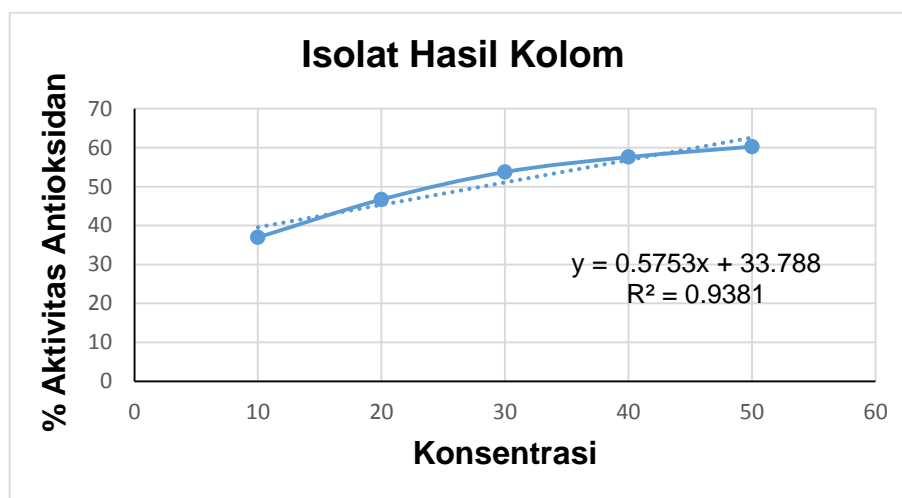
$$= 0,45$$

L.4.6 Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Tabel L.4.7 Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Hasil Kolom

Konsentrasi (ppm)	Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3	
	Abs sampel	% Aktivitas Antioksidan	Abs sampel	% Aktivitas Antioksidan	Abs sampel	% Aktivitas Antioksidan
10	0,336	44,827	0,48	21,182	0,336	44,827
20	0,294	51,724	0,386	36,617	0,294	51,724
30	0,273	55,172	0,287	52,873	0,285	53,201
40	0,247	59,441	0,276	54,679	0,252	58,620
50	0,236	61,247	0,259	57,471	0,231	62,068
IC ₅₀	18,94723866		35,9962489		20,11841469	
IC ₅₀ Isolat Kolom (ppm)			28,891			

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,609 - 0,336}{0,609} \times 100\% \\
 &= \frac{0,273}{0,609} \times 100\% \\
 &= 44,827
 \end{aligned}$$



Persamaan linier

$$y = 0,5753x + 33,788$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50$$

$$x = \text{IC}_{50}$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{y-b}{a}$$

$$= \frac{50 - 33,788}{0,5753} = \frac{16,212}{0,5753} = 28,891$$

Nilai AAI

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

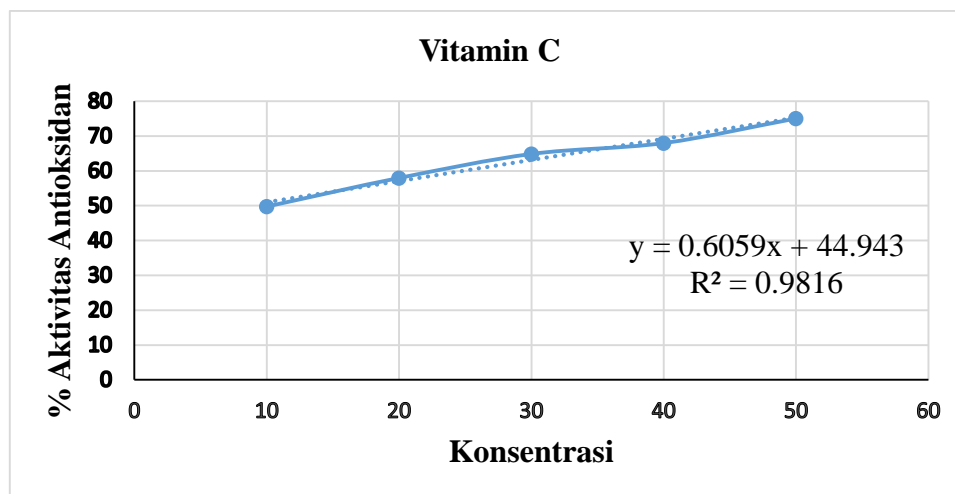
$$= \frac{100 \text{ ppm}}{28,891 \text{ ppm}}$$

$$= 3,461 \text{ ppm}$$

Tabel L.4.7 Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Abs sampel	% Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (ppm)
10	0,306	49,753	8,346
20	0,256	57,963	
30	0,214	64,860	
40	0,195	67,980	
50	0,152	75,041	

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,609 - 0,306}{0,609} \times 100\% \\
 &= \frac{0,303}{0,609} \times 100\% \\
 &= 49,753
 \end{aligned}$$



Persamaan linier

$$y = 0,6059x + 44,943$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50$$

$$x = \text{IC}_{50}$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{y-b}{a}$$

$$= \frac{50 - 44,943}{0,6059} = \frac{5,057}{0,6059} = 8,346 \text{ ppm}$$

Nilai AAI

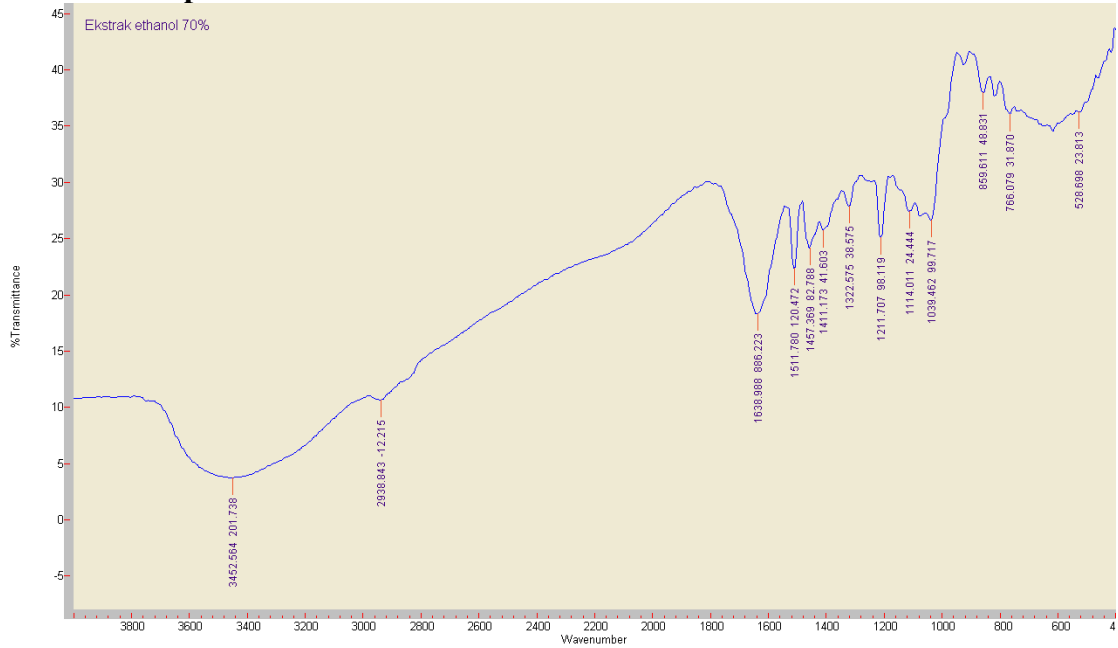
$$\text{AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{IC}_{50}}$$

$$= \frac{100 \text{ ppm}}{8,346 \text{ ppm}}$$

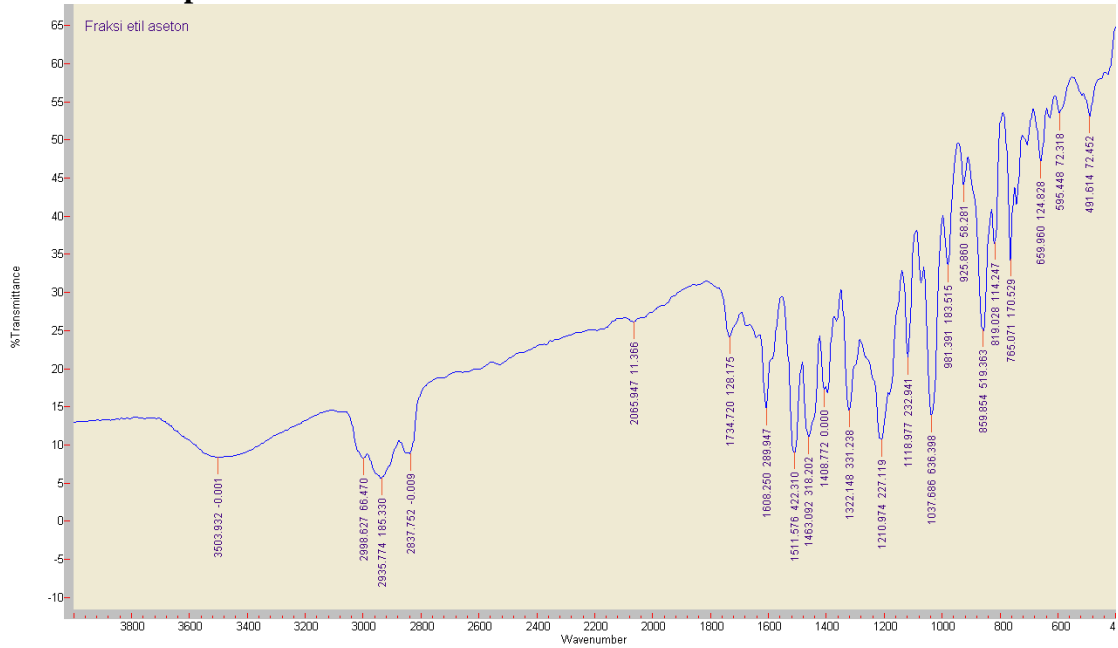
$$= 11,981 \text{ ppm}$$

Lampiran 5 Hasil Instrumentasi FTIR

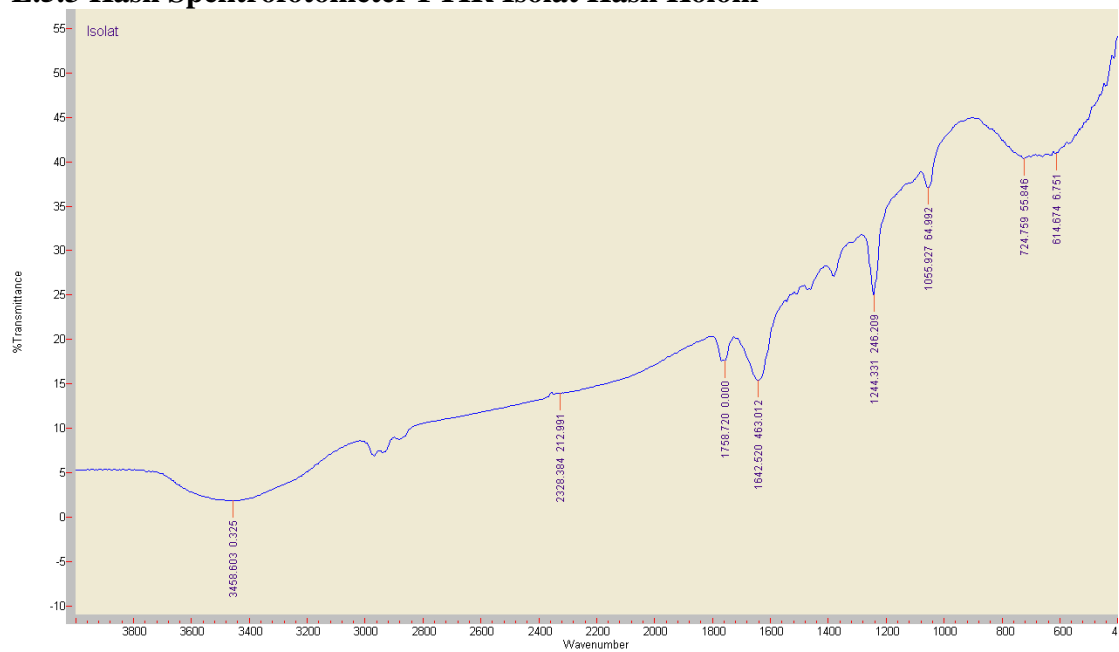
L.5.1 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Etanol 70%



L.5.2 Hasil Spektrofotometer FTIR Fraksi Etil Asetat



L.5.3 Hasil Spektrofotometer FTIR Isolat Hasil Kolom

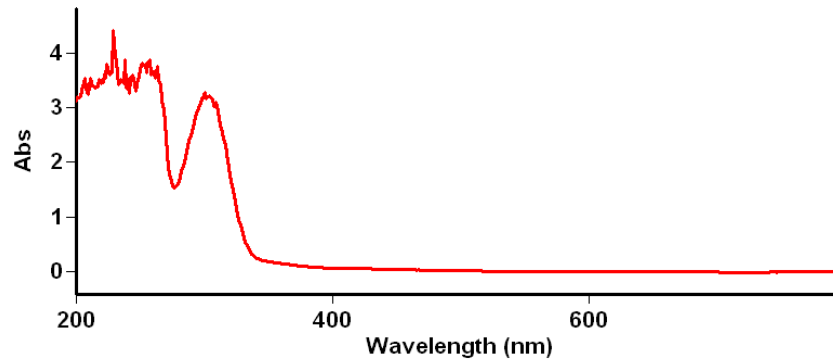


Lampiran 6 Data Hasil Instrumen UV-Vis

L.6.1 Hasil Ekstrak Etanol 70%

Lamda Maks Ekstrak Kasar Rimpang Jeringau

Tanggal Analisa : 12 Mei 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 12 May 09:50:20 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Aprilia\Lamda Maks Ekstrak Kasar Rimpang Jeringau (12-05-2023).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau

Collection Time 5/12/2023 9:50:29 AM

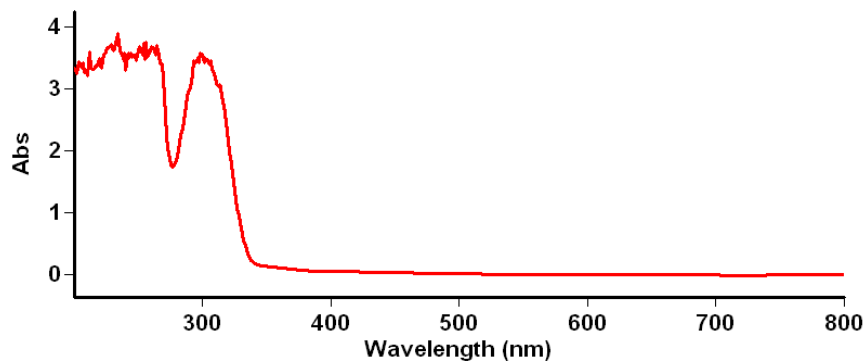
Peak Table

Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
309.0	3.091
304.0	3.220
300.1	3.273
263.0	3.744
261.0	3.661
258.9	3.675
257.1	3.863
254.1	3.791
251.1	3.804
244.0	3.591
240.0	3.525
238.1	3.864
234.9	3.512
229.0	4.409
224.0	3.800
221.9	3.619
220.0	3.507
218.0	3.517
216.0	3.399
210.9	3.537
207.0	3.527
201.0	3.198

L.6.2 Hasil Fraksi Etil Asetat Lamdha Maks Fraksi EA Rimpang Jeringau

Tanggal Analisa : 11 Mei 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 11 May 01:31:07 PM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Aprilia\Lamdha Maks Fraksi EA Rimpang Jeringau (11-05-2023).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi EA Jeringau

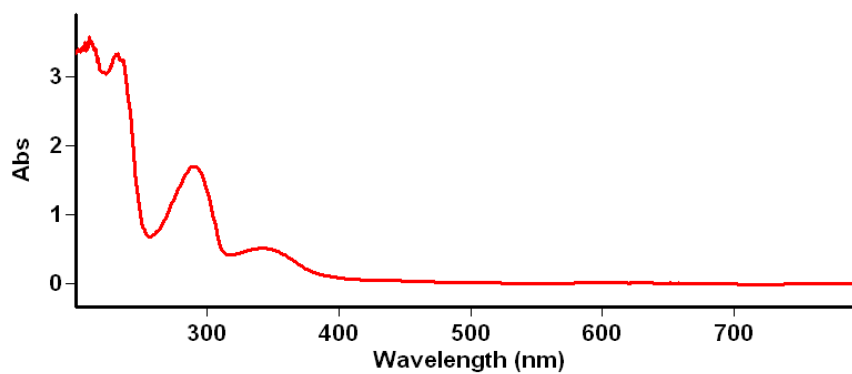
Collection Time 5/11/2023 1:31:15 PM

Peak Table

Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
313.0	3.066
306.0	3.456
304.1	3.482
302.0	3.488
300.0	3.574
298.0	3.589
295.9	3.507
293.0	3.459
264.1	3.700
262.0	3.670
260.0	3.686
256.1	3.763
254.0	3.748
251.0	3.696
246.0	3.546
244.0	3.578
241.9	3.589
239.0	3.576
236.9	3.580
233.9	3.901
228.9	3.716
219.0	3.500
212.0	3.598
209.0	3.303
207.0	3.419
203.0	3.435

L.6.3 Hasil Isolat Kolom
Lamda Maks Isolat Rimpang Jeringau
 Tanggal Analisa : 16 Mei 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 16 May 10:18:10 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Aprilia\Lamda Maks Isolat Rimpang Jeringau (16-05-2023).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Isolat Rimpang Jeringau

Collection Time 5/16/2023 10:18:18 AM

Peak Table

Peak Style

Peaks

Peak Threshold

0.0100

Range

799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
342.0	0.513
289.0	1.697
256.0	3.241
233.9	3.262
232.1	3.343
217.0	3.272
215.0	3.408
212.0	3.521
209.9	3.579
206.9	3.491
204.0	3.419
201.9	3.400

Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

L.7.1 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri



Penimbangan cawan kosong



Pengovenan cawan kosong



Pendinginan cawan kosong



Penimbangan cawan + sampel



Pengovenan cawan + sampel



Pendinginan cawan + sampel

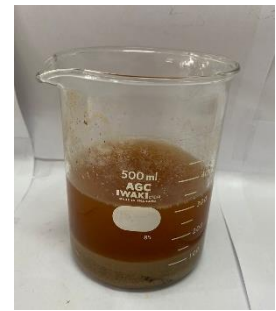
L.7.2 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau



Penyiapan sampel



Proses ekstraksi ultrasonik



Hasil ekstraksi ultrasonik



Penyaringan sampel dengan corong *Buchner*



Pemekatan dengan *rotary evaporator vacuum*



Hasil ekstrak pekat etanol



Penimbangan hasil ekstrak pekat etanol

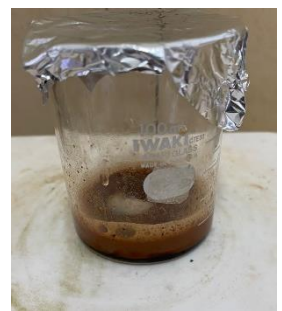
L.7.3 Hidrolisis



Penimbangan ekstrak pekat etanol



Proses shaker ekstrak pekat etanol 70% selama 1 jam



Hasil hidrolisis



Penambahan NaHCO_3 hingga pH netral



Terbentuknya busa pada penambahan NaHCO_3



Pengecekan pH setelah penambahan NaHCO_3

L.7.4 Partisi



Hasil partisi 1



Hasil partisi 2



Hasil partisi 3



Fraksi etil asetat



Fraksi air



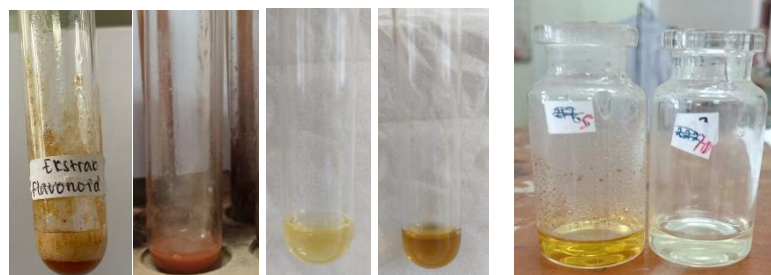
Pemekatan fraksi etil asetat dengan *rotary evaporator vacuum*



Penimbangan hasil partisi etil asetat

L.7.5 Uji Fitokimia

L.7.5.1 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% dan Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau

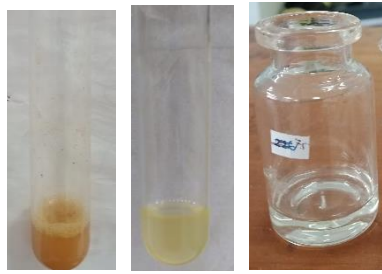


(a) Ekstrak etanol 70% , (b) Fraksi Etil Asetat, (c) isolat hasil kolom

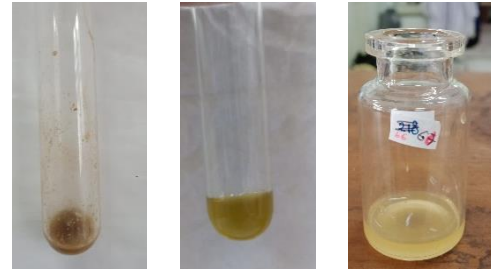
Uji flavonoid



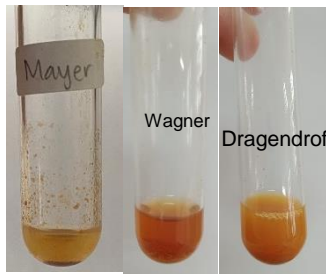
(a) Ekstrak etanol 70% , (b) Fraksi Etil Asetat, (c) isolat hasil kolom
Uji steroid dan terpenoid



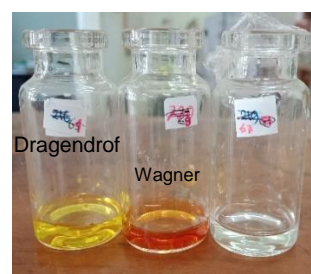
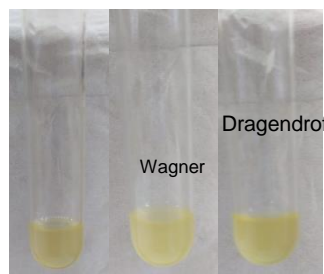
(a) Ekstrak etanol 70% , (b) Fraksi Etil Asetat, (c) isolat hasil kolom
Uji saponin



(a) Ekstrak etanol 70% , (b) Fraksi Etil Asetat, (c) isolat hasil kolom
Uji tanin



(a) Ekstrak etanol 70% , (b) Fraksi Etil Asetat, (c) isolat hasil kolom
Uji alkaloid



L.7.6 Isolasi Flavonoid Hasil Kromatografi Kolom



Aktivasi silika gel



Pendinginan dengan desikator



Pembuatan bubuk silika



Penjenuhan kolom



Proses elusi sampel



Hasil isolat kolom

L.7.7 Monitoring Hasil Pemisahan dengan KLTA



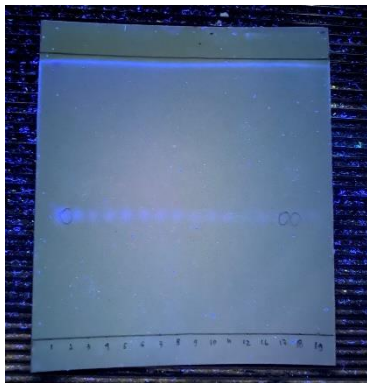
Penjenuhan eluen



Aktivasi plat silika



Proses elusi pada KLTA



Plat Hasil Kolom dibawah UV 366 nm



Plat Hasil Kolom Pengamatan Langsung

L.7.8 Uji Aktivitas Antioksidan



Preparasi hasil isolat kolom + etanol p.a dengan DPPH



Penghomogenan larutan



Proses inkubasi