

BAB IV

ANALISIS DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan

Determinasi sampel tanaman dilakukan di BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional), Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Diperoleh hasil berdasarkan nomor surat **B-373/II.6.2/IR.01.02/2023** pada Lampiran B Gambar 1 yang menyatakan bahwa benar nama tumbuhan yang diteliti yaitu Yakon dengan nama latin *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob dan keluarga Asteraceae.

4.2 Preparasi Simplisia & Ekstrak

Sampel batang Yakon dipanen dalam kondisi segar dengan berat 4000 gr, kemudian dikeringkan hingga diperoleh berat kering sebesar 350,341 gr. Simplisia kering diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1:10 dengan pelarut, simplisia kering yang diekstraksi yaitu sebesar 350 gr dalam 3,5 lt etanol 70% selama 5 kali penggantian pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental sebesar 39,575 gr kemudian dihitung jumlah kadar air dan rendemen dari ekstrak yang diperoleh, hasil preparasi sampel dicantumkan pada Tabel 4. 1

Tabel 4. 1 Berat Simplisia dan Ekstrak

Berat simplisia segar (gr)	Berat simplisia kering (gr)	Berat simplisia serbuk (gr)	Berat ekstrak (gr)	Rendemen ekstrak (%)	Kadar air ekstrak (%)
4000	700,548	350,341	39,575	11,29	0,66

Rendemen yang diperoleh pada Tabel 4. 1 merupakan hasil presentase ekstrak batang Yakon setelah dilakukannya proses ekstraksi, nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak batang Yakon. Besarnya nilai rendemen dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jumlah pelarut, waktu ekstraksi, kesesuaian pelarut, dan ukuran serbuk yang diekstraksi. Proses ekstraksi akan optimal pada ukuran partikel serbuk yang kecil karena dapat meningkatkan luas permukaan serbuk yang kontak dengan pelarut. Menurut Fardhyanti & Riski (2015), pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif secara lebih kuat apabila jumlah pelarut yang digunakan lebih banyak. Selain itu Fardhyanti & Riski (2015) juga menjelaskan bahwa zat aktif akan keluar dari dinding sel dan larut dalam pelarut apabila waktu proses ekstraksi yang dilakukan semakin lama.

Hasil penentuan kadar rendemen Tabel 4. 1 pada ekstrak etanol 70% batang Yakon sebesar 11,29% hasil tersebut diperoleh dengan cara menghitung jumlah berat ekstrak akhir dibagi dengan berat serbuk simplisia yang digunakan, hasil kadar rendemen apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% daun Yakon diketahui memiliki % kadar rendemen yang lebih kecil yang diperoleh dengan menggunakan metode maserasi pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nur Rohmah *et al* (2022) yaitu pada ekstrak daun Yakon dengan pelarut etanol 96% diperoleh hasil rendemen sebesar 26,31% kadar rendemen keduanya sesuai dengan persyaratan Depkes RI (2008) yaitu rendemen pada ekstrak tidak kurang dari 7,2%.

Penentuan kadar air yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode pengeringan dengan instrumen oven. Prinsip kerja dari metode pengeringan yaitu proses pemanasan mampu menghilangkan uap air yang terdapat dalam suatu bahan. Prinsip perhitungan didasarkan pada selisih berat sampel sebelum dan sesudah proses pengeringan. Adapun yang menjadi selisih bobot yaitu air yang menguap dan dihitung sebagai kadar air.

Penentuan kadar air sampel diperoleh dengan cara berat sampel awal dikurang dengan berat sampel akhir dan dibagi dengan berat sampel awal dan dikalikan dengan 100%. Hasil penelitian yang diperoleh pada Tabel 4. 1 yaitu kadar air yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% batang Yakon sebesar 0,66%. Hasil kadar air tersebut cenderung lebih rendah dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Djamil *et al* (2014) yaitu kadar air pada ekstrak daun Yakon dengan pelarut serupa yaitu etanol 70% diperoleh kadar air sebesar 5,63% yang artinya kadar air pada ekstrak etanol 70% batang Yakon masih memenuhi standar menurut Depkes RI (2017) yaitu tidak lebih dari 10%.

4.3 Analisis Skrining Fitokimia

Penapisan senyawa fitokimia atau skrining fitokimia yang diperoleh pada sampel ekstrak etanol 70% batang Yakon dinyatakan dalam Tabel 4. 2 diperoleh hasil positif pada senyawa Alkaloid dengan pereaksi dragendorff, Fenol, Flavonoid, Saponin, Tanin, dan Triterpenoid.

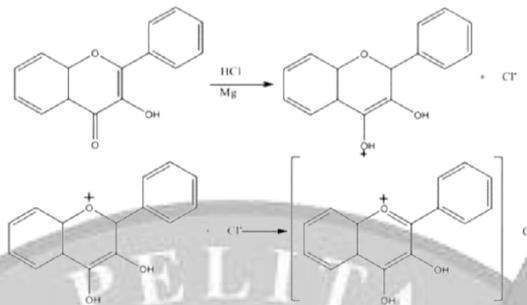
Tabel 4. 2 Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan	
			Ekstrak	Serbuk
Flavonoid	<ul style="list-style-type: none"> • Logam mg + HCl Pekat + Amyl Alkohol • H₂SO₄ 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning Terang • Jingga Kecoklatan 	+	+
			+	+
Alkaloid	<ul style="list-style-type: none"> • Pereaksi Dragendorff • Pereaksi Mayer 	<ul style="list-style-type: none"> • Endapan Jingga • Endapan Putih 	+	+
			-	-
Fenol	FeCl ₃ 5%	Hijau Kehitaman	+	+
Steroid	Kloroform & Pereaksi <i>Liebermann-Bouchard</i>	Coklat Pekat	-	-
Triterpenoid	Pereaksi <i>Liebermann-Bouchard</i>	Merah Kecoklatan	+	+
Saponin	Air & HCl 1N	Terdapat Busa Stabil	+	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau Kehitaman	+	+

a. Flavonoid

Pengujian senyawa flavonoid menggunakan pereaksi HCl pekat dan logam magnesium (shinoda) serta penambahan amyl alkohol, pada sampel diperoleh hasil positif ditandai dengan perubahan warna kuning atau jingga pada lapisan amyl alkohol (Harborne, 1987). Reaksi dinyatakan pada Gambar 4. 1 yaitu logam Mg menghasilkan kation bivalen (Mg²⁺) serta gas hidrogen juga mudah larut pada suasana yang asam, adanya gas hidrogen ditandai dengan terbentuknya busa ketika penambahan HCl pekat pada sampel yang mengandung logam Mg. Ion Mg akan berikatan dengan

senyawa flavonoid yang terkandung sampel sehingga menghasilkan perubahan warna jingga, kuning atau merah (Nugrahani *et al*, 2016).

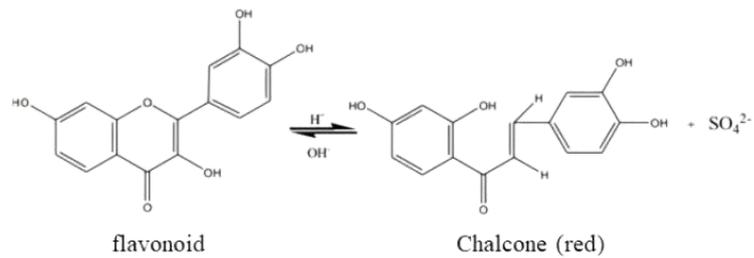


Gambar 4. 1 Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg

Sumber: (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Senyawa flavonoid akan menghasilkan garam benzopirilium yang menghasilkan warna apabila diberi reaksi dengan asam mineral dalam alkohol dapat menghasilkan antosianidin atau garam flavilium yang berwarna.

Pengujian senyawa flavonoid juga dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan pereaksi H₂SO₄, diperoleh hasil positif pada sampel yang ditandai dengan perubahan warna jingga kecoklatan, reaksi yang terjadi dinyatakan pada Gambar 4. 2 perubahan tersebut terjadi karena terjadinya sistem konjugasi dari gugus khalkon apabila senyawa flavonoid direaksikan dengan suatu asam (Kusnadi, 2017).

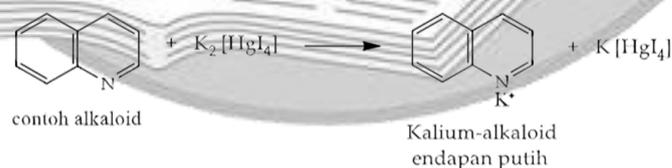


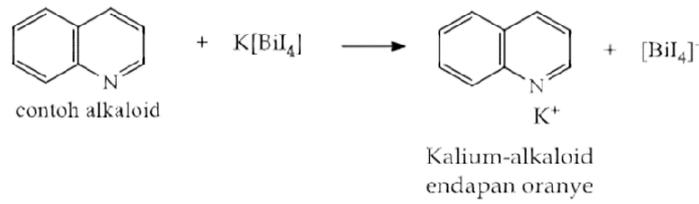
Gambar 4. 2 Reaksi Flavonoid dengan H₂SO₄

Sumber: (Kusnadi, 2017)

b. Alkaloid

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan dengan mereaksikan sampel masing-masing pada pereaksi mayer dan dragendorff, diperoleh hasil negatif pada pereaksi mayer dan hasil positif pada pereaksi dragendorff. Adanya endapan warna dikarenakan terjadi pembentukan kompleks antara kalium dengan alkaloid. Reaksi yang terjadi dinyatakan pada **Error! Reference source not found.** dimana pada atom nitrogen alkaloid terdapat pasangan elektron yang akan berikatan dengan ion K⁺ dalam pereaksi alkaloid yang bereaksi dengan garam alkaloid yang terbentuk pada saat penambahan HCl (Muthmainnah, 2017).





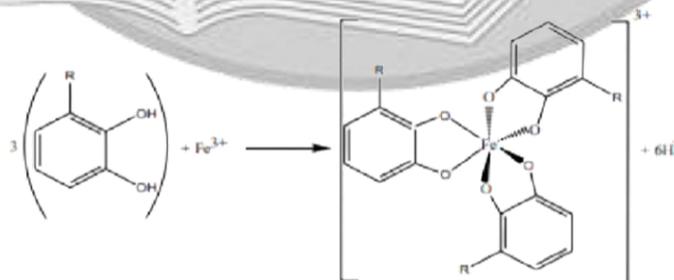
Gambar 4. 3 Reaksi Alkaloid dengan pereaksi Mayer & Dragendorff

Sumber: (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Endapan jingga pada pereaksi Dragendorff terbentuk karena nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat membentuk endapan kalium-alkaloid yang berwarna jingga hingga coklat kemerahan (Marliana *et al*, 2005).

c. Fenol

Pengujian senyawa fenol dilakukan dengan penambahan pereaksi $FeCl_3$ 5% dan diperoleh hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman, perubahan warna timbul akibat adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion fenoksida dan ion ferri yaitu $(Fe(OAR)_6)^{3+}$. Reaksi dinyatakan pada Gambar 4. 4

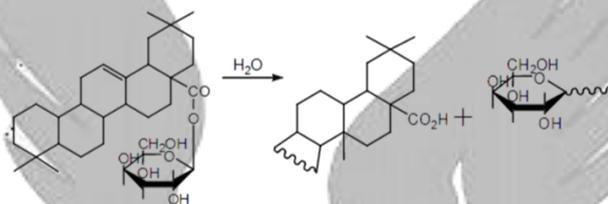


Gambar 4. 4 Reaksi Fenol dengan Ferri Klorida

Sumber: (Jati *et al*, 2019)

d. Saponin

Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan metode “*foth*” dengan penambahan air disertai dengan pengocokkan. Diperoleh hasil positif karena terdapat busa yang stabil selama 10 menit setinggi ± 1 cm dan ketika diberi penambahan HCl 1N busa yang terbentuk tetap stabil. Adanya buih atau busa dikarenakan glikosida memiliki kemampuan memperoleh buih dari air dan terhidrolisis menjadi glukosa atau senyawa lainnya (Octavia *et al*, 2019). Reaksi dinyatakan pada Gambar 4. 5



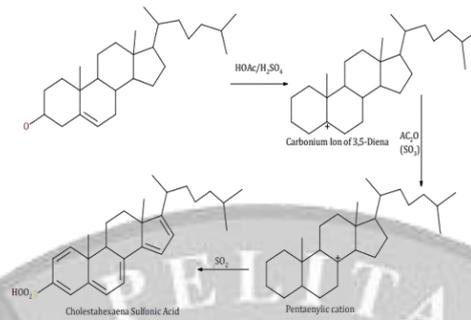
Gambar 4. 5 Reaksi Pengujian Saponin

Sumber: (Setiabudi & Tukiran, 2017)

e. Steroid dan Triterpenoid

Pengujian senyawa steroid dan triterpenoid dengan menggunakan pereaksi *Liebermann-Bouchard* (H_2SO_4 – Asam Asetat Anhidrat) diperoleh hasil negatif pada senyawa steroid karena tidak terjadi perubahan warna hijau kebiruan sedangkan pada senyawa triterpenoid terbentuk warna merah kecoklatan. Perubahan tersebut dikarenakan senyawa triterpenoid dan steroid apabila direaksikan dengan pereaksi H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrat pada Gambar 4. 6 maka kedua senyawa tersebut memiliki kemampuan untuk membentuk warna. Perbedaan warna yang dihasilkan

oleh senyawa steroid dan triterpenoid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana & Saleh, 2011).

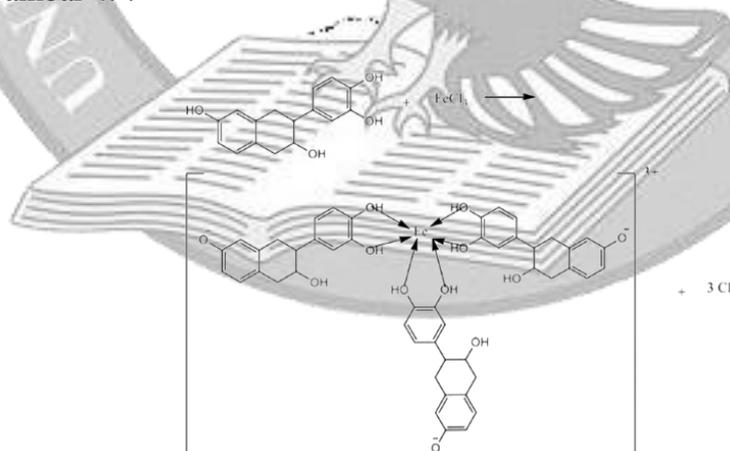


Gambar 4. 6 Reaksi Pengujian Steroid dan Triterpenoid

Sumber: (Habibi *et al*, 2018)

f. Tanin

Pengujian senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 1% diperoleh hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Perubahan warna yang terjadi dikarenakan terbentuknya senyawa kompleks antara ion (Fe^{3+}) dengan tanin (Octavia *et al*, 2019). Reaksi dinyatakan pada Gambar 4. 7



Gambar 4. 7 Reaksi Tanin dengan Ferri Klorida

Sumber: (Sulasmi *et al*, 2019)

4.4 Analisis Kandungan Senyawa Flavonoid Total

Analisis kandungan senyawa flavonoid total dilakukan dengan menggunakan kuersetin yang merupakan salah satu golongan flavonoid sebagai baku pembanding terhadap sampel yang diujikan yaitu ekstrak etanol 70% batang Yakon.

4.4.1 Penentuan Waktu Operasional

Penentuan waktu operasional dilakukan untuk mengetahui absorbansi yang stabil pada waktu pengukuran tertentu. Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur antara waktu tiap pengukuran dengan absorbansi larutan uji. Penentuan waktu operasional dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada 5 deret konsentrasi baku pembanding kuersetin dengan rentang waktu 0-40 menit dengan interval waktu 5 menit serta menggunakan panjang gelombang teoritis yaitu λ 430 nm. Diperoleh absorbansi stabil pada konsentrasi 120 ppm dengan waktu 40 menit yang nantinya digunakan sebagai waktu inkubasi larutan uji.

4.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum pada kuersetin, yaitu dengan melakukan *running* pada panjang gelombang teoritis λ 400-500 nm (Lindawati *et al*, 2020). Tujuan dilakukannya penentuan panjang gelombang maksimum yaitu untuk mengetahui panjang gelombang yang baik yang dapat diserap oleh sampel yang akan diuji dengan menggunakan instrument spektrofotometer (UV-Vis).

Panjang gelombang larutan kuersetin yang didapat berdasarkan hasil penentuan panjang gelombang yaitu pada λ 439 nm. Panjang gelombang yang diperoleh dapat digunakan karena berada dalam rentang panjang gelombang teoritis.

4.4.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Baku Pembanding Kuersetin

Hasil pengukuran absorbansi dari baku pembanding kuersetin dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm menggunakan instrumen spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang λ 439 nm pada Tabel 4. 3 sebagai berikut:

Tabel 4. 3 Absorbansi Kuersetin

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1.	40 ppm	0.059
2.	60 ppm	0.078
3.	80 ppm	0.116
4.	100 ppm	0.154
5.	120 ppm	0.183

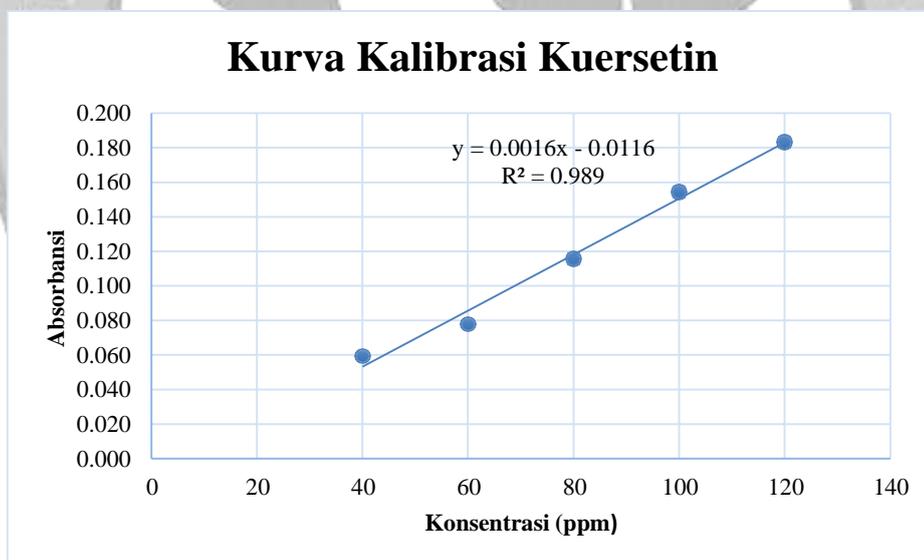
Penentuan kadar senyawa flavonoid total pada sampel batang Yakon, dilakukan dengan menggunakan kuersetin sebagai baku pembanding dengan mengukur 5 deret konsentrasi yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm pada panjang gelombang λ 439 nm seperti pada Tabel 4. 3 penggunaan deret konsentrasi bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid menggunakan metode persamaan kurva baku untuk mendapatkan persamaan garis linear yang digunakan

untuk menghitung konsentrasi flavonoid. Warna yang diperoleh dari larutan standar kuersetin berwarna kuning. Hal ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang terdapat pada larutan standar (Chang, *et al.*, 2002).

4.4.4 Hasil Kurva Baku Pemanding Kuersetin

Kurva standar diperoleh dengan menghubungkan nilai absorbansi larutan kuersetin sebagai baku pembanding sebagai koordinat (y) dan konsentrasi larutan tersebut sebagai absis (x) yang terdapat pada tabel dibawah ini sehingga dihasilkan persamaan regresi dan koefisien korelasi. Diperoleh kurva kalibrasi kuersetin yang dinyatakan pada Tabel 4. 4 sebagai berikut:

Tabel 4. 4 Kurva Kalibrasi Kuersetin

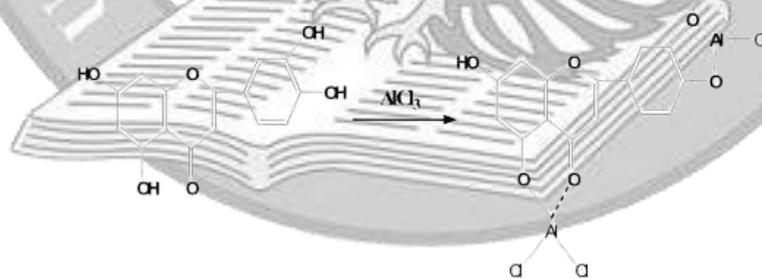


Pengukuran absorbansi pada larutan baku pembanding kuersetin untuk pembuatan kurva kalibrasi, yang bertujuan untuk menentukan kadar senyawa flavonoid melalui persamaan regresi linier. Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan

dengan cara menghubungkan nilai konsentrasi larutan standar kuersetin dengan nilai absorbansi larutan standar kuersetin, sehingga diperoleh persamaan regresi linier yang dinyatakan pada Tabel 4. 4 yaitu $y = 0,0016x - 0,0116$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,989$. Nilai r yang mendekati satu menunjukkan bahwa kurva kalibrasi adalah linier.

4.4.5 Kandungan Senyawa Flavonoid Total

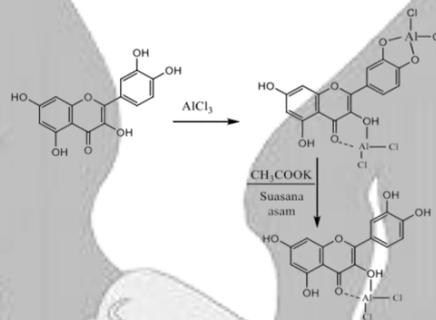
Penentuan kadar flavonoid pada penelitian berikut yaitu dengan menggunakan metode kolorimetri. Prinsip dari metode kolorimetri yaitu terbentuknya kompleks asam yang stabil dengan penambahan $AlCl_3$ pada C-4 gugus keton, serta C-3 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Selain itu, kompleks asam juga terbentuk dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau pada cincin B dari senyawa-senyawa flavonoid sehingga memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang λ 439 nm (Chang *et al*, 2002). Reaksi yang diperoleh dinyatakan pada Gambar 4. 8 sebagai berikut:



Gambar 4. 8 Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid- $AlCl_3$

Sumber: (Chang *et al*, 2002)

Perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel yaitu menambahkan AlCl_3 pada larutan sampel ekstrak etanol 70% batang Yakon. Penambahan AlCl_3 agar dapat membentuk kompleks, sehingga larutan menghasilkan warna yang lebih kuning yang menandakan pergerakan panjang gelombang ke arah visible (tampak). Panjang gelombang yang dihasilkan perlu dipertahankan agar tetap stabil pada daerah visible dengan cara menambahkan kalium asetat (Wang *et al.*, 2018). Adapun reaksi yang terjadi dinyatakan dalam Gambar 4. 9 sebagai berikut:



Gambar 4. 9 Reaksi Flavonoid dengan AlCl_3

Sumber: (Lindawati & Ma'ruf 2020)

Perlakuan inkubasi selama 40 menit sebelum pengukuran bertujuan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga indeks warna yang dihasilkan lebih maksimal. Sehingga hasil yang diperoleh dari pengukuran absorbansi pada sampel ekstrak etanol 70% batang Yakon pada panjang gelombang λ 439 nm. Hasil kadar senyawa flavonoid total yang terukur dapat dilihat pada Tabel 4. 5 sebagai berikut:

Tabel 4. 5 Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Batang Yakon

Replikasi	Kadar Terukur (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata (mgQE/g ekstrak)	± SD	% KV
1	83,750	84,125	0,38	0,4%
2	84,125			
3	84,500			

Kadar senyawa flavonoid yang terukur pada Tabel 4. 5 dari ekstrak etanol 70% batang Yakon yaitu sebesar $84,125 \pm 0,38$ mgQE/g ekstrak dengan nilai koefisien variasi sebesar 0,4% hasil tersebut memenuhi persyaratan persen koefisien variasi yaitu $\leq 2\%$ dan membuktikan bahwa data pada analisis penentuan kadar senyawa flavonoid total ekstrak etanol 70% batang Yakon memiliki tingkat ketelitian kerja yang baik dari 3 kali pengulangan.

Jenis flavonoid yang terkandung pada bagian daun Yakon menurut Lee (2008) yaitu golongan flavonol dan khalkon yang memiliki peran melindungi sel tubuh dari radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada sel sehingga mencegah proses peradangan atau inflamasi pada tubuh. Sedangkan, menurut penelitian Tekenaka (2003) kandungan senyawa flavonoid yang terkandung pada daun Yakon yaitu quercetine yang merupakan salah satu flavonoid golongan flavonol.

Penelitian serupa telah dilakukan oleh Nugraha *et al* (2017) pada ekstrak etanol 95% daun Yakon dan diperoleh kadar senyawa flavonoid total sebesar 98,229 mgQE/g ekstrak, hasil tersebut kemudian digunakan untuk pengujian selanjutnya yaitu uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% daun Yakon diperoleh nilai IC50 sebesar 106,57 $\mu\text{g/mL}$ yang masuk dalam rentang sedang dalam aktivitas antioksidan, maka dapat disimpulkan bahwa kandungan flavonoid lebih tinggi ditemukan pada bagian daun Yakon. Penelitian yang telah dilakukan memiliki keterbatasan pada waktu pengerjaan dan instrument yang terbatas sehingga penelitian lebih lanjut terkait analisis senyawa fitokimia lain dan uji aktivitas belum dapat dilanjutkan.

