

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAHE MERAH DENGAN
PELARUT NADES KOMBINASI BETAIN : ASAM**

SKRIPSI

Oleh:

ADINDA ELSAM NURBAETI

066119032



PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS PAKUAN

BOGOR

2023

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAHE MERAH DENGAN
PELARUT NADES KOMBINASI BETAIN : ASAM**

SKRIPSI

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi Pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan
Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor**

Oleh :

Adinda Elsam Nurbaeti

066119032



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah
Dengan Pelarut Nades Kombinasi Betain : Asam
Nama : Adinda Elsam Nurbaeti
NPM : 066119032
Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan
Bogor, November 2023

Pembimbing Pendamping



Usep Suhendar, M.Farm.

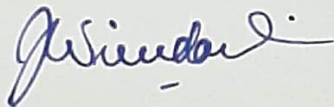
Pembimbing Utama



Yuditania, M.Farm.

Disetujui,

Ketua Program Studi Farmasi



Apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyelesaikan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, November 2023



Adinda Elsam Nurbaeti

**SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI
PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Nama : Adinda Elsam Nurbaeti

NPM : 066119032

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAHE MERAH
DENGAN PELARUT NADES KOMBINASI BETAIN : ASAM

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal dari atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam bentuk taks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir dari tugas akhir ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, November 2023



Adinda Elsam Nurbaeti

066119032

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh
Alhamdulillah segala puji bagi Allah Subhanahu wa ta'ala Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, juga shalawat serta salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad shalallahu 'alaihi wasallam, berkat rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Tiada lembar skripsi yang paling indah dalam skripsi ini kecuali lembar persembahan. Dengan rasa syukur ucapan terimakasih skripsi ini saya persembahkan untuk :

Ayah dan Bunda Tercinta

Terimakasih kepada kedua manusia yang do'a, rasa cinta serta sayang dan campur tanganya selalu ada juga tidak terputus didalam hidup putri bungsu dari tiga bersaudara yang cengeng dan manja, yaitu cinta pertama saya Ayahku (Sampara Bado) juga Wanita tangguh dan tulus yang mendampingiya yaitu Bundaku (Elis Nurnaningsih). Terimakasih atas support ayah yang sudah meyakinkan putri bungsunya untuk terus melanjutkan pendidikan di bidang kesehatan, juga terimakasih bunda yang sudah mengatur kebutuhan yang tidak sedikit selama kuliah di bidang ini. Terimakasih sudah mengadahi dan melangitkan setiap do'a yang kalian punya untuk saya kepada pemilik alam semesta ini setiap malam. Saya persembahkan karya tulis sederhana ini dan gelar dibelakang nama saya teruntuk ayah dan bunda sebagai tanda bakti juga hormat saya. Atas do'a kalian anak ayah dan bunda bisa mendapatkan gelar yang diharapkan. Semoga Allah subhanahu wa ta'ala selalu melindungi kalian dan kita semua dapat berkumpul kembali disurga-Nya Allah subhanahu wa ta'ala, aamiin allahumma aamiin. *Finally we did it* bun yah.

Keluarga Besar Tersayang

Kakak tersayang yaitu Andi Elsam Anusopati, Andina Elsam Dahlia, Chikka Anggia Nandriisa, Dien Mulyono, dan Tammie Adzkie Nandriisa, juga adik tercinta lynka Agisti Nandriisa dan Shidqia Alysha Shafira. Terimakasih sudah menjadi kaka dan adik yang selalu memberikan support juga menjadi tempat pulang ternyaman untuk mendengarkan segala cerita yang saya punya dengan rasa penuh antusias, juga selalu memberikan saran terbaik dari sudut pandang kalian masing-masing untuk menjalani hidup dan menyelesaikan studi. Terimakasih sudah banyak memberikan semangat untuk harapan terakhir keluarga satu ini. Keponakan ateu

tersayang, Dira Anugrah Pratama, Damara Ramadhan, Asma' Rafiqah Sya'ban, Hafshah 'Aliyya Muharram, Maryam Khayra Rabiluna, dan Dayyan Rashdan Assyafiq, terimakasih sudah memberikan semangat untuk menyelesaikan studi ateu, juga menjadi penghibur melalui tingkah lucu dan polos kalian. Terimakasih sudah menjadikan ateu sebagai panutan untuk kalian. Keluarga besar Baso, Ratna dan keluarga besar H. Bado, Hj. Satting yang senantiasa mendoakan dan mendukung saya dalam menyelesaikan studi.

Ibu Yulianita, M.Farm dan Bapak Usep Suhendar, M.Si

Terimakasih kepada kedua pembimbinga atas segala arahan, bimbingan, dukungan, dan memberikan pengalaman yang sangat berarti, untukmu yang telah bersedia membimbing hingga mengantarkan saya mengantungi gelar sarjana farmasi ini. Terimakasih kepada seluruh dosen farmasi, yang telah berbagi ilmu dan mengajari saya selama masa kuliah, terimakasih juga kepada staff jurusan dan staff laboratorium yang membantu meperlancar apa yang menjadi tanggung jawab saya.

Sahabat-Sahabat Tersayang

Terimakasih kepada sahabat-sahabatku, Angelia Puspitasari, Melda Putri, Ibitza Zema, Selfi Puji, Siti Zahara, Intan Rahmawati, Dhea Erisanty, Anita Andini, Berliana Vidia, Febby Melya, Amalia Ambarwati, dan Lumcau. Termakasih sudah memberikan dukungan, *jokes* receh, bantuan dengan sangat tulus, juga menjadi telinga disetiap keluh kesah saya. Termakasih kepada Rahni Sulaikania sudah sangat sabar, sangat perhatian dalam menemani saya dan menjadi tempat berkeluh kesah serta teman berdiskusi selama masa perkuliahan, Termakasi atas segala hal baik, rasa gembira, suka maupun duka yang selalu kalian bagi dan hadapi. Semoga selalu bertemu hal baik di kehidupan kalian yaa.

Diri Saya Sendiri

Selamat sudah sampai pada tahap ini, mari merayakan semuanya bersama diri sendiri. Terimakasih sudah bertahan sejauh ini, kamu lebih berharga untuk dirimu sendiri. Semoga bisa mencintai diri sendiri yaa.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAHE MERAH DENGAN PELARUT NADES KOMBINASI BETAIN : ASAM”**. Skripsi ini sebagai salah satu syarat guna mendapatkan gelar sarjana farmasi dari Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak mungkin akan terwujud apabila tidak ada bantuan dari berbagai pihak, melalui kesempatan ini. Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Yulianita, M.Farm, selaku dosen pembimbing utama dan Usep Suhendar, M.Si selaku dosen pempdamping yang telah meluangkan waktu dan pikiran didalam memberikan bimbingan kepada penulis.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
3. Seluruh dosen dan Staff Program Studi Farmasi yang telah membantu dalam kelancaran selama masa perkuliahan.
4. Kepada kedua orang tua, keluarga, teman-teman yang sudah banyak membantu dan Rahni Sulaikania selaku Team NADES yang selalu memberikan saran serta semangat.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar penulis senantiasa melakukan penyempurnaan pada penulisan skripsi ini.

Bogor, November 2023

Adinda Elsam Nurbaeti

RIWAYAT HIDUP



ADINDA ELSAM NURBAETI, Lahir di Bogor pada 13 November 2000. Penulis adalah putri ketiga dari tiga bersaudara yang terlahir dari pasangan Bapak Sampara Bado dan Ibu Elis Nurnaningsih. Penulis memulai pendidikan formalnya di Sekolah Dasar Negeri Cantang Jaya, Kabupaten Bogor dan lulus pada tahun 2012. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 15, Kota Bogor dan lulus pada tahun 2015 dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Kejuruan di SMK Farmasi Bogor, Kota Boogor pada tahun 2018. Semenjak tahun 2019 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Penulis mendapatkan gelar Sarjana Farmasi pada tanggal 16 November 2023. Selama masa kuliah penulis aktif dalam organisasi serta pernah menjabat sebagai Sekertaris Umum 2 Badan Eksekutif Mahasiswa FMIPA UNPAK Periode 2022-2023, dan untuk mengisi waktu kosong selama masa kuliah penulis menjadi asisten dosen pada mata kuliah Farmasi Fisika, Teknologi Farmasi Sediaan Steril, Kosmetologi Dasar, Kosmetologi Bahan Alam, Kosmetologi Dekoratif dan Biofarmasi Farmakokinetik. Penulis memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) setelah melakukan penelitian dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah dengan Pelarut NADES Kombinasi Betain : Asam”**

RINGKASAN

ADINDA ELSAM NURBAETI. 066119032. 2023. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAHE MERAH (*Zingiber Officinale var. rubrum*) DENGAN PELARUT NADES KOMBINASI BETAIN : ASAM. Di Bawah Bimbingan : Yulianita dan Usep Suhendar

Jahe merah merupakan tumbuhan rimpang yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan secara empiris. Jahe merah banyak digunakan sebagai bumbu dapur, mengurangi rasa nyeri, mengurangi kadar gula pada penderita diabetes juga sebagai antioksidan alami yang mampu menghambat radikal bebas dalam tubuh. Jahe merah mempunyai kandungan total fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan varietas lain, sehingga dapat menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi yaitu pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic*). Pelarut ini memiliki banyak keuntungan antara lain tidak toksik, *biodegradable* dan biokompatibel sehingga lebih mudah dalam pembuangan limbah serta tidak merusak lingkungan.

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak jahe merah menggunakan pelarut NADES kombinasi Betain : Asam (Asam Sitrat, Asam Tartrat, Asam Malat, Asam Laktat, dan Asam Asetat). Preparasi NADES dilakukan untuk menentukan kombinasi Betain : Asam paling baik dalam hal fisik dan stabilitasnya. Preparasi NADES dilakukan dengan mencampurkan HBA (*Hydrogen Bond Acceptor*) dan HBD (*Hydrogen Bond Donor*) dengan rasio yang sudah ditentukan. Selanjutnya kombinasi Betain : Asam terbaik (Betain Hidroklorida : Asam Sitrat dan Betain Hidroklorida : Asam Tartrat). dilanjutkan ke tahap skrining untuk menentukan aktivitas antioksidan terbaik menggunakan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) dengan kontrol positif yang digunakan yaitu asam askorbat. Hasil skrining menunjukkan kombinasi paling baik yaitu Betain hidroklorida : Asam sitrat dengan rasio molar 1:1. Tahap selanjutnya dilakukan optimasi dengan RSM (*Respon surface methodology*) menggunakan desain CCD (*Central composite design*). Optimasi dilakukan dengan 3 variabel yaitu suhu (35 °C, 45 °C dan 55 °C), waktu (20 menit, 40 menit, dan 60 menit), dan rasio nades (50%, 60%, dan 70%). Analisis data optimasi dilakukan menggunakan *design expert 12*. Kemudian dilakukan tahap verifikasi.

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} terbaik pada tahap skrining yaitu 289,0901 ppm menggunakan kombinasi Betain hidroklorida : Asam sitrat. Hasil optimasi ekstraksi dengan nilai IC_{50} terbaik yaitu sebesar 255,998 ppm dengan kombinasi variabel suhu 55 °C, waktu 20 menit dan rasio nades 70%. Hasil verifikasi tahap optimasi ekstraksi dengan kombinasi variabel yang dipilih menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 282,0897 ppm dengan kategori lemah. Sedangkan kontrol positif asam askorbat menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 4,5823 ppm.

Kata kunci : Pelarut NADES, Jahe merah, Aktivitas antioksidan

SUMMARY

ADINDA ELSAM NURBAETI. 066119032. 2023. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RED GINGER EXTRACT (*Zingiber Officinale var. rubrum*) USING BETAIN : ACID BASED DEEP EUTECTIC SOLVENT. Supported by : Yulianita dan Usep Suhendar

Red ginger is a rhizome plant that is widely used as an empirical treatment. Red ginger is widely used as a seasoning, relieves pain, as well as a natural antioxidant that can inhibit free radicals in the body. Red ginger has a higher total phenolic and flavonoid content compared to other varieties, so red ginger can produce better antioxidant activity. The solvent used in the extraction is NADES solvent (Natural Deep Eutectic) . This solvent has many advantages including non-toxic, biodegradable and biocompatible so that it is easier to dispose of waste and does not destroy the environment.

This aim of study was used to determine the highest antioxidant activity of red ginger extract using NADES solvent in combination with Betaine: Acid (Citric Acid, Tartaric Acid, Malic Acid, Lactic Acid and Acetic Acid). NADES preparation was conducted to determine the best combination of Betain: Acid combination is best in terms of physical and stability. NADES preparation was done by mixing HBA (Hydrogen Bond Acceptor) and HBD (Hydrogen Bond Donor) with a pre-selected ratio. Then, the combination of Betaine:Acid (Betaine Hydrochloride : Citric Acid and Betaine Hydrochloride: Tartaric acid) is continued to screening step for determine the best antioxidant activity using the value of IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%) with the positive control used is ascorbic acid. The screening results showed the best combination was Betaine hydrochloride: Citric acid with a molar ratio of 1:1. The next step was optimization with RSM (Response surface methodology) using design of Central composite design (CCD) . Optimization was carried out with 3 variables, including temperature (35°C, 45°C and 55°C), time (20 minutes, 40 minutes, and 60 minutes), and NADES solvent ratio (50%, 60%, and 70%). Optimization data analysis was performed using design expert 12. Then the verification stage was applied.

The research showed the best IC₅₀ value at the screening step was 289.0901 ppm using a combination of Betaine Hydrochloride: Citric acid. The optimization results of extraction with the best IC₅₀ value of 255.998 ppm with a combination of temperature variables 55 °C, time 20 minutes and 70% nades ratio. The verification results of the extraction optimization stage with the selected variable combination resulted in an IC₅₀ value of 282.0897 ppm with a low category. While the positive control of ascorbic acid showed an IC₅₀ value of 4.5823 ppm.

Keyword : NADES Solvent, Red Ginger, Antioxidant Activity

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	ii
SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
RIWAYAT HIDUP	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Jahe Merah.....	4
2.1.1. Deskripsi Tanaman	4
2.1.2. Morfologi Tanaman	4
2.1.3. Kandungan Tanaman	5
2.1.4. Manfaat Tanaman	6
2.2. Ekstraksi UAE (<i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>).....	6
2.3. NADES (<i>Natural Deep Eutectic Solvents</i>)	7
2.4. Antioksidan.....	10
2.5. Metode DPPH (<i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>).....	12
2.6. Metode RSM (<i>Response Surface Methodology</i>).....	13
2.7. Spektrofotometri UV-Vis	14
BAB III METODE PENELITIAN	17

3.1.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2.	Alat dan Bahan.....	17
3.2.1.	Alat.....	17
3.2.2.	Bahan	17
3.3.	Pengumpulan Bahan Baku.....	17
3.4.	Pembuatan Serbuk Simplisia Jahe Merah.....	18
3.5.	Uji Parameter Spesifik dan Non Spesifik Serbuk Simplisia Jahe Merah.....	19
3.5.1.	Parameter Spesifik	19
3.5.2.	Parameter Non Spesifik	19
3.6.	Ekstraksi Jahe Merah Pelarut Etanol 70% sebagai Pembanding...	20
3.7.	Preparasi NADES (<i>Natural Deep Eutectic Solvents</i>)	20
3.8.	Skrining NADES (<i>Natural Deep Eutectic Solvents</i>)	20
3.9.	Design Eksperimen menggunakan RSM (<i>Response Surface Methodology</i>).....	21
3.10.	Optimasi Ekstraksi Jahe Merah dengan Metode UAE	22
3.11.	Verifikasi Hasil Optimasi	22
3.12.	Uji Fitokimia.....	23
3.12.1.	Uji Flavonoid	23
3.12.2.	Uji Alkaloid	23
3.12.3.	Uji Tanin	23
3.12.4.	Uji Saponin	23
3.12.5.	Uji Steroid Dan Triterpenoid	24
3.13.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	24
3.13.1.	Pembuatan Larutan DPPH 1 mM	24
3.13.2.	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	24
3.13.3.	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum	24
3.13.4.	Pembuatan Larutan Blanko DPPH.....	25
3.13.5.	Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat Konsentrasi 100 ppm	25
3.13.6.	Pembuatan Deret Larutan Pembanding Asam Askorbat	25

3.13.7.	Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Jahe Merah Konsentrasi 1000 ppm	25
3.13.8.	Pembuatan Deret Larutan Sampel Ekstrak Jahe Merah	26
3.13.9.	Pengukuran Absorbansi	26
3.13.10.	Perhitungan Inhibisi (%)	26
3.13.11.	Perhitungan Nilai IC ₅₀	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		27
4.1.	Hasil Pengumpulan Bahan Baku dan Determinasi Tanaman	27
4.2.	Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia Jahe Merah	27
4.3.	Hasil Uji Parameter Spesifik dan Non Spesifik Serbuk Jahe Merah	28
4.3.1.	Hasil Uji Parameter Spesifik.....	28
4.3.2.	Hasil Uji Parameter Non Spesifik.....	29
4.4.	Hasil Analisis Antioksidan	31
4.4.1.	Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maximum DPPH	31
4.4.2.	Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	32
4.4.3.	Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	32
4.4.4.	Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah	33
4.5.	Hasil Uji Fitokimia	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		48
5.1.	Kesimpulan	48
5.2.	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN.....		62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rimpang Jahe Merah & Tanaman Jahe	4
2. Struktur Betain Anhidrat dan Betain Hidroklorida	9
3. Variasi Asam yang digunakan sebagai HBA	10
4. Struktur DPPH	12
5. Serbuk Rimpang Jahe Merah	29
6. Hasil Panjang Gelombang Maximum	31
7. Hasil Waktu Inkubasi Optimum.....	32
8. Hasil Kurva Kalibrasi Standar Asam Askorbat	33
9. Hasil Preparasi NADES	34
10. Grafik Interaksi antar Variabel terhadap Respon IC_{50}	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kombinasi betain asam	8
2. Kategori Nilai IC_{50} dapat dikategorikan seperti :.....	13
3. Rasio Preparasi NADES	20
4. Variabel Optimasi Ekstraksi Jahe Merah.....	21
5. Rancangan Optimasi Ekstraksi	22
6. Hasil Uji Makroskopik.....	29
7. Hasil Pengujian Susut Pengerinan	29
8. Hasil Pengujian Kadar Abu.....	30
9. Hasil uji aktivitas antioksidan skrining NADES.....	35
10. Hasil uji lanjut duncan	37
11. Kombinasi suhu, waktu dan rasio antar variabel	39
12. Hasil Nilai IC_{50} Rancangan Optimasi RSM.....	40
13. Hasil Optimasi dengan Uji ANOVA	40
14. Hasil Formula Verifikasi.....	43
15. Hasil Verifikasi dengan Nilai IC_{50}	44
16. Hasil Prediksi vs Hasil Sebenarnya.....	44
17. Hasil Uji Fitokimia.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Penelitian	62
2. Hasil Pengujian Determinasi Rimpang Jahe Merah.....	64
3. Hasil Rendemen Serbuk.....	65
4. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan	66
5. Hasil Perhitungan Kadar Abu	66
6. Preparasi NADES.....	68
7. Skrining NADES.....	73
8. Perhitungan Pereaksi DPPH.....	75
9. Penentuan Panjang Gelombang Maximum.....	76
10. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum	76
11. Larutan Pembanding Asam Askorbat 100 ppm	77
12. Perhitungan Deret Pembanding Asam Askorbat.....	77
13. Perhitungan % inhibisi dan nilai IC ₅₀ Asam Askorbat.....	78
14. Larutan Induk Ekstrak Jahe Merah 1000 ppm	80
15. Perhitungan Deret Larutan Ekstrak Jahe Merah	81
16. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Skrining NADES	82
17. Hasil Analisis SPSS Skrining NADES	97
18. Hasil Perhitungan Rasio Air Optimasi NADES.....	100
19. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Optimasi NADES	101
20. Hasil Perhitungan Rasio Air Verifikasi NADES	106
21. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Verifikasi NADES	107

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jahe merah (*Zingiber Officinale var. rubrum*) merupakan jenis tanaman rimpang yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi dan digunakan sebagai bumbu masakan atau minuman penghangat tubuh, (Munadi, 2020). Jahe merah mengandung senyawa kimia yaitu flavonoid, fenol, dan terpenoid (Widiastuti & Pramestuti, 2018). Jahe merah mengandung senyawa fenolik bermanfaat sebagai antioksidan (Susanti & Panunggal, 2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh jahe merah memiliki aktivitas antioksidan terkuat 70,83%, selanjutnya jahe emprit 70,43 % dan jahe gajah 61,70% (Mahmudati dkk., 2020). Sehingga jahe merah mempunyai senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan lebih banyak dibandingkan dengan varietas jahe lainya.

Senyawa metabolit sekunder yang ada pada jahe merah seperti senyawa fenolik dan flavonoid dapat diambil menggunakan proses ekstraksi (Nur dkk., 2020). Metode ekstraksi modern lebih banyak digunakan pada saat ini karena memiliki beberapa keuntungan seperti memiliki waktu ekstraksi yang relatif cepat, penggunaan pelarut yang sedikit sehingga lebih ramah lingkungan dan mendapatkan hasil yang lebih baik (Tri dkk., 2022). Salah satu metode ekstraksi modern yang banyak digunakan yaitu metode UAE karena waktu ekstraksi yang singkat dibandingkan dengan ekstraksi yang dilakukan secara tradisional. Metode ini juga menggunakan suhu yang rendah sehingga tidak merusak metabolit yang tidak tahan panas (Zou *et al.*, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kent dkk, (2016) ekstraksi jahe putih menggunakan metode tradisional yaitu ekstraksi maserasi yang dilakukan selama 72 jam menghasilkan persen aktivitas antioksidan sebesar 21,853%, dibandingkan dengan penelitian Murphy *et al*, (2020) ekstrasi jahe putih menggunakan metode modern yaitu metode UAE yang dilakukan selama 10 - 30 menit menghasilkan nilai % aktivitas antioksidan yang lebih baik sebesar 54,5 %. Hal tersebut menunjukkan waktu ekstraksi yang dibutuhkan pada ekstraksi dengan metode UAE

lebih singkat serta menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan metode maserasi. Sehingga penggunaan metode ekstraksi modern lebih baik dibandingkan dengan metode konvensional (Tri dkk., 2022)

Selain metode ekstraksi pemilihan pelarut juga merupakan faktor yang paling penting. Hal tersebut dapat mempengaruhi kadar senyawa yang dihasilkan dikarenakan pengaruh dari keporalan pelarut yang digunakan terhadap senyawa metabolit yang diinginkan (Hasanah & Fatmawati, 2022). Pelarut yang umum dipakai yaitu pelarut organik (heksana, etil asetat, etanol, metanol, aseton, kloroform, dan petroleum eter). Namun, penggunaan pelarut organik dapat menimbulkan pencemaran lingkungan serta residu berbahaya yang ditinggalkan dalam ekstrak (Duan *et al.*, 2016). Sehingga penggunaan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) dapat digunakan sebagai alternatif karena pelarut NADES tidak beracun dan bersifat ramah lingkungan (Rizki, 2021).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Tung dkk, (2017) ekstraksi jahe putih (*Zingiber officinale var. roscoe*) menggunakan pelarut etanol dengan suhu 40°C selama 3 jam menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 20,18 ppm dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tzani *et al.*, (2021) ekstraksi jahe putih menggunakan pelarut NADES selama 23 menit menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan kombinasi betain sebagai HBA (*Hydrogen Bonding Acceptor*) dan asam laktat sebagai HBD (*Hydrogen Bonding Donor*) dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,16 ppm. Nilai IC₅₀ yang baik dimana semakin kecil nilai IC₅₀ yang didapatkan, maka semakin kuat aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Wiendarlina & Sukaesih, 2019). Nilai IC₅₀ digunakan sebagai parameter untuk menilai aktivitas antioksidan (Munadi, 2020). Aktivitas antioksidan dapat dilihat menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dengan pengukuran absorbansi (Nastiti dkk., 2021).

Belum adanya data serta keterbatasan penelitian terkait aktivitas antioksidan pada jahe merah menggunakan pelarut nades dengan kombinasi betain : asam. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah pada pelarut NADES kombinasi betain sebagai HBA dan asam sebagai HBD dengan ekstraksi UAE menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*)

serta dilakukan optimasi ekstraksi menggunakan rancangan RSM dengan metode UAE terhadap suhu, lama ekstraksi dan rasio air yang ditambahkan pada kombinasi HBA dan HBD yang dipilih.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) dengan kombinasi betain : asam.
2. Menentukan keadaan optimum ekstraksi UAE pada suhu, waktu dan rasio NADES terhadap ekstrak jahe merah menggunakan metode RSM (*Response Surface Methodology*).

1.3 Hipotesis

1. Diperoleh aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) kombinasi betain : asam.
2. Diperoleh keadaan optimum ekstraksi UAE dengan suhu, waktu dan rasio NADES yang tepat sehingga diperoleh aktivitas antioksidan kuat terhadap ekstrak jahe merah menggunakan metode RSM (*Response Surface Methodology*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jahe Merah

2.1.1. Deskripsi Tanaman

Jahe merah termasuk dalam suku *Zingiberaceae* dengan nama latin *Zingiber officinale* Rosc Var. *Rubrum* (Depkes RI, 2017). Jahe merah masuk ke dalam kelompok temu-temuan. Jahe merah banyak digunakan sebagai pengobatan secara alamiah. Jahe merah hidup di dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 0 sampai 1500 meter dari permukaan laut (Munadi, 2020).

Jahe merah sudah digunakan secara turun-temurun sebagai bumbu dapur, pengobatan mual, gangguan pencernaan seperti perut kembung, kolik, diare serta dispepsia (M. Zhang *et al.*, 2016).

2.1.2. Morfologi Tanaman

Rimpang jahe merah berukuran kecil dengan warna merah muda sampai jingga. Berbentuk bulat, kecil, batang yang keras dan tinggi tanamannya 14,05 sampai 48,23 cm (D. Sari & Nasuha, 2021). Rimpang jahe merah memiliki diameter 12,50 cm. Masa panen rimpang jahe merah yaitu saat tua, hal ini dikarenakan pada saat sudah tua rimpang jahe mengandung minyak atsiri yang berlimpah. Daun dari rimpang jahe merah berada berselang-seling dan teratur, bentuknya lancet dengan warna hijau muda sampai hijau tua. Lebar dan Panjang daun yaitu 27-31 cm dan 25 cm. Akar dari rimpang jahe merah memiliki diameter 2,9 -5,71 cm dengan ukuran Panjang 40 cm (Hapsoh dkk., 2010).



Gambar 1. Rimpang Jahe Merah & Tanaman Jahe
Sumber : (S. Zhang *et al.*, 2022)

2.1.3. Kandungan Tanaman

Senyawa kimia yang ada didalam jahe merah secara umum mengandung minyak menguap (*Volatile*) dan minyak tidak menguap (*Non Volatile*) dimana kandungan ini memiliki kelarutan yang rendah dalam air dengan aroma yang khas. Senyawa minyak menguap yang ada didalam jahe merah yang paling tinggi yaitu *Zingiberene* sedangkan senyawa terbesar kedua yaitu *zingerone* yang berperan sebagai antioksidan alami yang ada dalam rimpang jahe merah (Nur dkk., 2020).

Sedangkan senyawa minyak tidak menguap yaitu oleoresin yang terdiri dari campuran resin dan minyak atsiri dengan warna coklat tua dan konsentrasi 25 – 35 %. Oleoresin mengandung gingerol dan shogaol (Saptiwi *et al.*, 2018). Gingerol merupakan senyawa aktif yang ada pada jahe merah segar sedangkan shogaol merupakan senyawa aktif yang terbentuk setelah jahe merah mengalami pemanasan dan jahe merah menjadi kering (Hapsoh dkk., 2010). Jahe merah segar memiliki rasa pedas dikarenakan adanya senyawa gingerol sedangkan pada jahe merah kering rasa pedas dikarenakan adanya senyawa shogaol. (Nurhayati *et al.*, 2022). Gingerol dan shogaol dalam jahe merah memiliki aktivitas sebagai antioksidan, selain bermanfaat sebagai antioksidan senyawa tersebut juga dapat berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik dan antitumor (Munadi, 2020). Gingerol yang dihasilkan dari jahe merah lebih tinggi dibandingkan dengan jenis jahe lainnya (Srikandi dkk., 2020).

Senyawa metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam jahe merah yaitu flavonoid, fenol, terpenoid serta minyak atsiri (Munadi, 2020). Tingginya kandungan total fenolik dan flavonoid dalam jahe merah dibandingkan dengan jahe dengan jenis lain, menunjukkan jahe merah memiliki potensi yang kuat sebagai antioksidan yang bermanfaat untuk menangkal radikal bebas dalam tubuh (Susanti & Panunggal, 2015). Mekanisme flavonoid pada jahe merah sebagai aktivitas antioksidan dengan menyumbangkan hidrogen dari gugus hidroksil yang terkandung dalam flavonoid untuk bereaksi dengan radikal bebas, menyebabkan radikal bebas kehilangan reaktivitasnya (Herawati & Saptarini, 2020).

2.1.4. Manfaat Tanaman

Secara empiris jahe merah digunakan untuk mengobati radang, batuk, luka, dan alergi yang disebabkan oleh gigitan serangga serta digunakan sebagai bumbu masakan atau minuman penghangat tubuh (Munadi, 2020).

Secara farmakologis jahe merah dapat mengurangi kadar gula darah pada penderita diabetes yang diberikan rebusan jahe merah karena jahe merah mengandung senyawa flavonoid dan fenol sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang berperan untuk menghambat radikal bebas yang ada pada pankreas (Dewi & Afrioza, 2022). Jahe merah juga berperan untuk mengurangi rasa nyeri dengan menghambat pembentukan prostaglandin hal tersebut dikarenakan jahe mengandung senyawa gingerol dan minyak atsiri (Athallah & Lianda, 2021). Jahe merah memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Safruddin *et al.*, 2022), *Escherichia coli* (Yang & Rahmawati, 2022) dan *Streptococcus Mutans* (Handayani *et al.*, 2018). Antioksidan yang terkandung dalam fenolik dan flavonoid yang ada dalam jahe merah dapat menghambat radikal bebas dengan memberikan elektron terhadap radikal bebas (Sandrasari *et al.*, 2019). Selain itu jahe merah juga bermanfaat sebagai anti kanker, antitumor, antihiperlipidemik, antihipertensi immunodulator, dan nueroprotektif karena senyawa yang terkandung dalam jahe merah (S. Zhang *et al.*, 2022).

2.2. Ekstraksi UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*)

Ekstraksi UAE atau *Ultrasound-assited extraction* yaitu suatu metode ekstraksi non konvensional dengan bantuan energi ultrasonik. Gelombang ultrasonic merupakan gelombang suara yang mempunyai frekuensi ≥ 20 kHz. Metode ini banyak digunakan sebagai metode ekstraksi untuk mendapatkan senyawa fenolik yang bermanfaat sebagai antioksidan dengan waktu yang singkat dengan suhu yang dapat diatur. Ekstraksi dengan ultrasonic lebih mudah diaadptasikan ke berbagai aplikasi karena bersifat *non destructive* dan *non-invasive* (Sholihah dkk., 2017).

Prinsip ekstraksi UAE yaitu adanya gelombang kavitasi dengan meningkatkan permeabilitas dinding sel dibawah titik didih pelarut yang

menyebabkan kerusakan pada sel sehingga kandungan senyawa aktif dapat keluar dengan waktu yang relatif singkat dan cepat (Andriani dkk., 2019). Gelombang ultrasonic dapat menyebabkan getaran pada sampel, getaran tersebut akan memberikan efek pengadukan yang intensif selama proses ekstraksi hal ini juga dapat meningkatkan tekanan osmosis antara sampel dan pelarut sehingga proses ekstraksi lebih cepat. Suhu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan kandungan fenolik berkurang terhadap hasil ekstraksi (D. K. Sari dkk., 2011).

Ekstraksi dengan menggunakan UAE dapat mempersingkat waktu dan mengurangi jumlah pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi dibandingkan dengan metode konvensional seperti maserasi. Waktu ekstraksi senyawa fenolik berkurang hingga 87% dan aktivitas antioksidan meningkat sebesar 22% dengan metode ekstraksi pada kulit buah delima dengan ultrasonik dibandingkan dengan metode konvensional (Pan *et al.*, 2012). Penggunaan metode ekstraksi dengan ultrasonik menghasilkan senyawa fenolik yang sangat stabil dengan kehilangan senyawa hanya 10% dalam keadaan gelap dengan suhu penyimpanan 4°C dibandingkan dengan metode non konvensional lainnya (Medina-Torres *et al.*, 2017). Kekurangan dari ekstraksi dengan ultrasonik yaitu terjadinya inaktivasi senyawa aktif dari sampel karena adanya gelombang ultrasonik. Degradasi senyawa dapat terjadi karena reaksi dari radikal bebas di permukaan gelembung kavitas. Radikal bebas tersebut dapat terbentuk pada senyawa karena suhu dan tekanan tinggi. Penggunaan alat sonikator dapat memberikan efek negative terhadap penggunaannya karena paparan gelombang ultrasonik terutama pada sistem syaraf dan telinga, serta kavitas yang terjadi selama proses ekstraksi dapat meningkatkan suhu tubuh (Zia *et al.*, 2020).

2.3. NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*)

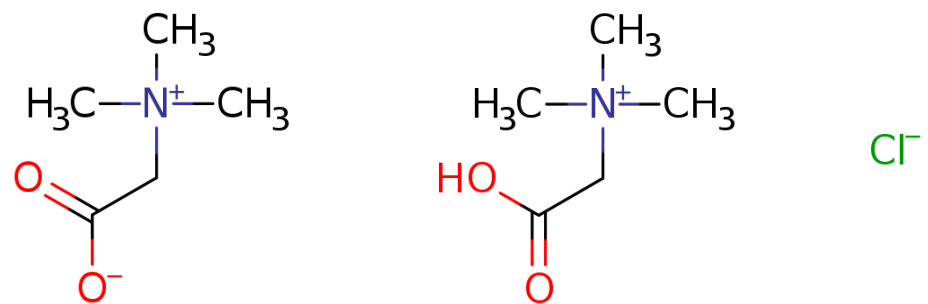
NADES atau *Natural Deep Eutectic Solvents* merupakan pelarut hijau yang terdiri dari HBA (*Hydrogen Bonding Acceptor*) dan HBD (*Hydrogen Bonding Donor*), kedua komponen tersebut akan membentuk ikatan hidrogen antara HBA dengan satu atau lebih molekul dari HBD (Ahmad dkk., 2020). NADES merupakan

pelarut dengan campuran yang mempunyai titik leleh lebih rendah dibandingkan masing-masing komponen, mempunyai tingkat kekentalan yang tinggi sehingga dapat menyulitkan dalam penggunaannya terutama dalam proses difusi. Namun, kekentalan dapat diturunkan dengan peningkatan donor ikatan hidrogen selain itu juga dapat ditambahkan dengan *co-solvent* atau air (Skarpalezos *et al.*, 2019).

Tabel 1. Kombinasi betain asam

Komponen	Rasio	Sumber
Betaine : Asam Benzoat	1 : 1,5	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Mandelat	1 : 1	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Glikolat	1 : 2	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Oksalat	1 : 2	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Sitrat	1 : 1,5	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Sitrat	1 : 1	(Xia <i>et al.</i> , 2021)
Betaine : Asam Tartrat	1 : 1	(Mišan <i>et al.</i> , 2020)
Betaine : Asam Malat	1 : 1	(Xia <i>et al.</i> , 2021)
Betaine : Asam Laktat	1 : 1	(Xia <i>et al.</i> , 2021)
Betaine : Asam Laktat	1 : 2	(Tzani <i>et al.</i> , 2021)
Betaine : Asam Asetat	1 : 2	(Hao <i>et al.</i> , 2020)

NADES mampu menjadi pelarut yang sangat baik dan dapat meningkatkan kelarutan untuk senyawa dengan polaritas rendah dalam air serta mempunyai sifat kepolaran yang sama dengan metanol. Hal ini karena NADES memiliki gugus fungsi seperti amino, hidroksil atau karboksil yang dapat bereaksi dan membentuk ikatan hidrogen (Dai *et al.*, 2013). Ikatan hidrogen yang kuat pada komponen NADES dengan senyawa yang di ekstraksi mampu meningkatkan hasil ekstrak dibandingkan dengan pelarut organik (Tzani *et al.*, 2021). Komponen penyusun dari HBA dapat berasal dari garam ammonium kuarterner non toksik atau asam amino seperti alanin, prolin, glisin dan betain. Sedangkan komponen penyusun HBD berasal dari asam organik nabati alami seperti asam laktat, asam malat, asam amino, dsb atau dapat digunakan karbohidrat seperti glukosa fruktosa, maltose, dsb (Tzani *et al.*, 2021).



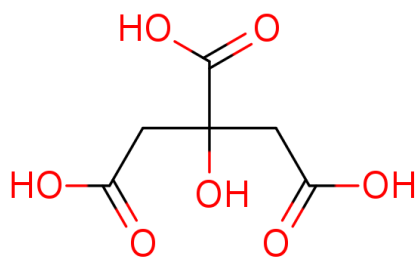
Betaine Anhidrat

Betain Hidroklorida

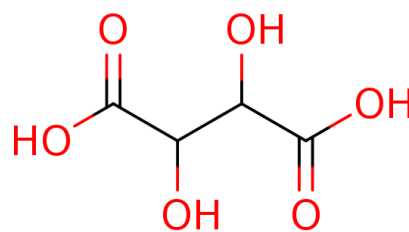
Gambar 2. Struktur Betain Anhidrat dan Betain HidrokloridaSumber : (Aisha *et al.*, 2023)

Gula bit atau *Beta vulgaris* merupakan sumber utama senyawa betaine dan tersedia secara komersial. Betain stabil, tidak beracun dan memiliki kelarutan yang baik dalam air (Day & Kempson, 2016). Betain digunakan dalam kombinasi pelarut NADES sebagai HBA karena senyawa golongan ammonium kuartener zwitterionic yang sangat cocok sebagai bahan makanan sehingga dinilai aman dan tidak toksik digunakan sebagai ekstraksi (Tzani *et al.*, 2021).

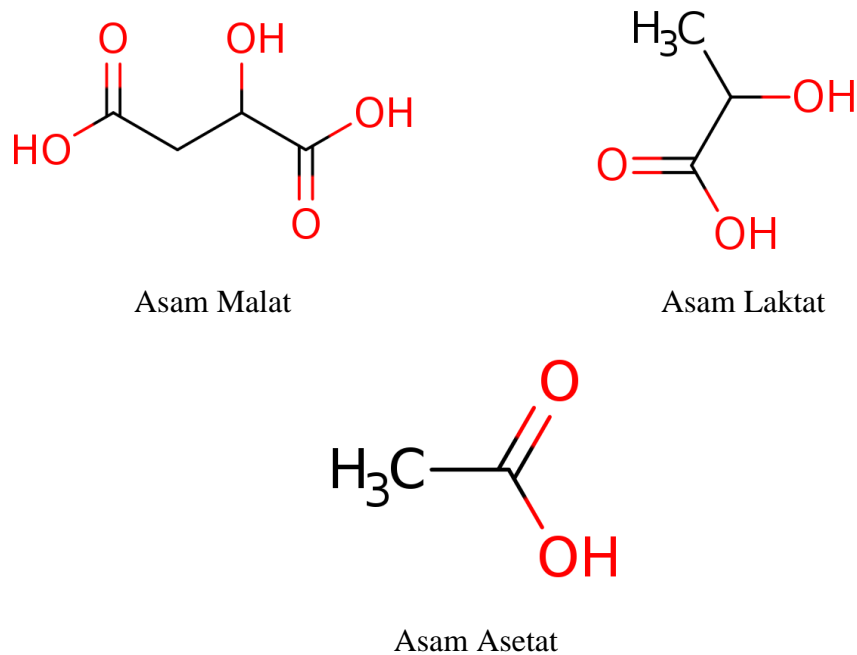
Selain itu betain lebih murah dan memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan kolin klorida, memiliki sturuktur yang asimetris dengan gugus polar sehingga betaine memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan eutektik dengan HBD (Krisanti *et al.*, 2019). Penggunaan betain juga bermanfaat bagi kesehatan seperti mengurangi jumlah lemak di hati, pengatur homosistein dalam darah yang jika kadarnya terlalu tinggi dalam darah dapat mengakibatkan homosisteinemia (Teslić *et al.*, 2022).



Asam Sitrat



Asam Tartrat



Gambar 3. Variasi Asam yang digunakan sebagai HBA
Sumber : (Huang *et al.*, 2019)

Asam yang digunakan sebagai HBA dalam NADES memiliki efisiensi ekstraksi yang baik karena menghasilkan nilai total flavonoid lebih tinggi dari pelarut NADES menggunakan basis polialkohol. Hal tersebut dikarenakan asam yang digunakan sebagai basis dalam pelarut NADES lebih polar dibandingkan dengan basis gula atau polialkohol (Oktaviyanti *et al.*, 2019).

Faktor yang dapat mempengaruhi sifat dari NADES yaitu reaksi antara ikatan hidrogen, polaritas, pH dan viskositas (Huang *et al.*, 2019). Keunggulan penggunaan pelarut NADES sebagai ekstraksi yaitu memiliki sifat yang baik (cair dalam suhu kamar), viskositas yang dapat disesuaikan dengan mudah, aman, bersifat biodegradable dan biokompatibel sehingga pembuangan limbah mudah serta tidak merusak lingkungan (Paiva *et al.*, 2014). Selain itu NADES bersifat tidak toksik sehingga dapat ditambahkan kedalam makanan untuk pembuatan formulasi tanpa permunian (Waszczyński *et al.*, 2019).

2.4. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mencegah proses oksidasi dari radikal bebas sehingga penyakit yang disebabkan oleh paparan radikal bebas

dapat dicegah. Senyawa flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam tanaman dapat menangkap radikal bebas sehingga memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Rukhayyah dkk., 2022).

Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak mempunyai elektron berpasangan sehingga memiliki reaktivitas yang tinggi dalam mencari pasangan elektron dengan penyerangan serta pengikatan elektron di lingkungan sekitarnya. Reaksi tersebut menyebabkan kerusakan didalam sel yang mengakibatkan timbulnya penyakit. Radikal bebas dapat diredam dengan mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil, hal tersebut dilakukan dengan memberikan satu atau lebih elektron dari senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan terhadap senyawa radikal bebas. Hal tersebut dapat melindungi sel dari kerusakan akibat molekul yang tidak stabil (Wiendarlina & Sukaesih, 2019).

Antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan 2 fungsi yaitu sebagai pemberi atom hidrogen dan menghambat kerja autooksidasi. Mekanisme pemberi atom hidrogen (antioksidan primer) dengan pemberian atom hidrogen dengan proses yang cepat terhadap lipid atau membentuk senyawa yang kurang reaktif (stabil). Sedangkan mekanisme menghambat kerja autooksidasi dengan mengubah radikal lipid menjadi bentuk yang lebih stabil melalui mekanisme diluar pemutusan rantai autooksidasi (Wiendarlina & Sukaesih, 2019).

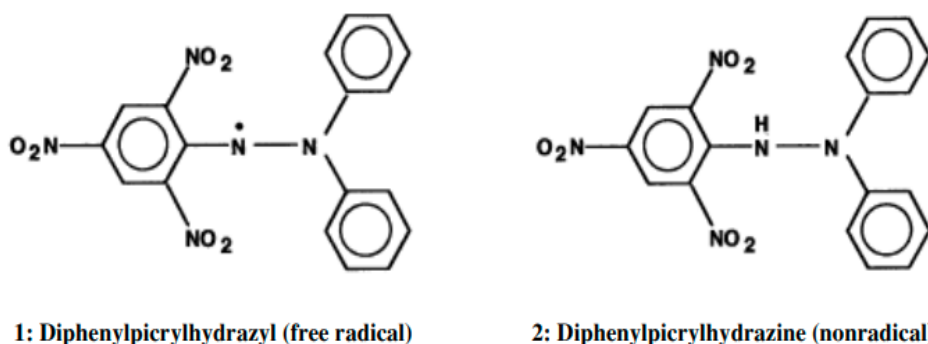
Sifat antioksidan yang mudah teroksidasi, menyebabkan sel terlindungi dari radikal bebas akibat reaksi oksidasi yang terjadi antara radikal bebas dan antioksidan. Jumlah radikal bebas yang sedikit didalam tubuh dapat dihambat oleh antioksidan endogen yang terdapat dari dalam tubuh, jika jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebihan maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh (Rukhayyah dkk., 2022).

Antioksidan yang bisa didapatkan dari luar tubuh ada antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik sudah lama digunakan untuk mencegah proses oksidasi yaitu BHT (*butylated hydroxytoluene*), BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan TBHQ (*tert-butylated hydroxyquinone*). Namun, penggunaan antioksidan sintetik dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan racun dan bersifat karsinogenik bagi tubuh (Handito dkk., 2022). Antioksidan alami berasal

dari alam, karena berasal dari alam maka aman jika digunakan dalam jangka waktu yang lama karena tidak beracun. Antioksidan alami mempunyai banyak senyawa alami yang berperan untuk menghambat radikal bebas. Senyawa yang terkandung dalam tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu senyawa fenolik atau polifenol yang berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam fungsional. Flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, katekin dan kalkon dari golongan flavonoid juga berkontribusi sebagai antioksidan (Daud dkk., 2011). Kandungan minyak tidak menguap, minyak menguap serta metabolit aktif seperti flavonoid dan fenolik pada jahe merah berperan sebagai antioksidan (Oboh *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid menghambat reaksi berantai radikal bebas dengan berperan sebagai reduktor (mendonorkan elektron), hal tersebut dapat dilakukan karena flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin karbon aromatik (Suhendra dkk., 2019).

2.5. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode DPPH atau (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah suatu metode untuk menguji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. Metode DPPH banyak digunakan sebagai pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, hemat biaya, dapat dilakukan dengan suhu ruang, pengukuran dapat dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis (Munteanu & Apetrei, 2021).



Gambar 4. Struktur DPPH
Sumber : (Molyneux, 2004)

DPPH merupakan senyawa berwarna ungu gelap, panjang gelombang maksimum 517nm menghasilkan absorbansi kuat dan mengandung senyawa organik yang tidak stabil. Warna kuning akan muncul jika DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan menjadi senyawa yang lebih stabil. Perubahan warna tersebut merupakan hasil reaksi resonansi struktur DPPH yang dijadikan syarat dari pengukuran pada spektrofotometri (Molyneux, 2004). Sampel yang akan diuji akan direaksikan dengan DPPH, dibiarkan dalam suhu ruang selama 5-30 menit agar sampel dan DPPH bereaksi sempurna, lama waktu bervariasi tergantung dari laju reaksi antara senyawa (Molyneux, 2004)

Nilai absorbansi yang muncul dari alat spektrofotometri digunakan sebagai nilai persen inhibisi senyawa antioksidan pada sampel yang digunakan. Parameter utama aktivitas antioksidan tidak dapat dinilai berdasarkan nilai persen inhibisi, karena nilai tersebut tidak dapat menggambarkan aktivitas antioksidan terbaik dari seluruh sampel yang diujikan sehingga hasil nilai tersebut tidak spesifik (Daud dkk., 2011).

Nilai IC_{50} dapat digunakan sebagai parameter utama untuk menilai aktivitas antioksidan dari hasil pengujian menggunakan metode DPPH. Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% radikal bebas (Molyneux, 2004).

Tabel 2. Kategori Nilai IC_{50} dapat dikategorikan seperti :

Nilai IC_{50}	Kategori
< 50 $\mu\text{g/mL}$	Sangat Kuat
50 $\mu\text{g/mL}$ – 100 $\mu\text{g/mL}$	Kuat
101 $\mu\text{g/mL}$ – 150 $\mu\text{g/mL}$	Sedang
> 150 $\mu\text{g/mL}$	Lemah

Sumber : (Molyneux, 2004)

2.6. Metode RSM (*Response Surface Methodology*)

RSM (*Response Surface Methodology*) yaitu suatu teknik matematik serta statistik yang berguna sebagai model dan analisis permasalahan pada respon yang dapat dipengaruhi oleh berbagai variable yang bertujuan untuk pengoptimalan

respon tersebut (Rosalinda dkk., 2021). Metode RSM dinilai efektif sebagai optimasi suatu prosedur, formula, ataupun gabungan dari keduanya. Metode ini dapat digunakan sebagai optimasi dari proses ekstraksi, evaluasi hasil dari setiap variable, dan interaksi variable terhadap respon yang dihasilkan (Azharini dkk., 2022). RSM digunakan untuk memperkecil jumlah eksperimen sehingga metode ini dapat digunakan sebagai metode yang signifikan untuk menguji variable proses berganda dengan sedikit percobaan eksperimental (Ananingsih dkk., 2020).

Jenis design eksperimen RSM yaitu CCD (*Composite Central Design*) dan BBD (*Box Behken Design*). Kedua jenis design eksperimen RSM tersebut dibedakan dari jumlah faktorial pada BBD jumlah faktor eksperimen yang digunakan minimal memiliki 3 faktor sedangkan pada CCD dapat digunakan minimal 2 faktor (Isa dkk., 2022). Jenis design RSM yang umum digunakan yaitu CCD, Metode ini mampu menggambarkan model statistik serta mampu mempresentasikanya dalam bentuk grafis dan response surface (Ananingsih dkk., 2020). Tahapan yang dilakukan pada aplikasi RSM terdiri atas 4 tahapan yaitu rancangan formulasi, tahap formulasi, analisis respo dan analisis data (Hardjono dkk., 2020).

2.7. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah suatu metode analisa spektroskopi menggunakan alat spektrofotometer dengan sumber radiasi elektromagnetik UV (190-380) dan visible (380-780). Metode spektrofotometri ini sangat umum digunakan sebagai analisis kuantitatif (Noviyanti, 2020). Radiasi elektromagnetik yang digunakan sebagai sumber radiasi merupakan campuran listrik dan magnet yang berinteraksi dan meluas melalui media yang dapat berpindah energi dari satu tempat ke tempat lain (Khaldun, 2018). Prinsip spektrofotometri yaitu transmisi sinar yang melewati sampel sehingga penyerapan sinar oleh sampel akan dicatat oleh detektor dan dibaca oleh perangkat lunak komputer (Wonoharadjo, 2020).

Komponen alat spektrofotometer terdiri atas spektrofotometer dan fotometer. Fotometer merupakan alat mengukur intensitas sinar yang ditransmisikan atau diserap sedangkan spektrofotometer merupakan alat untuk

membuat sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu. Konsentrasi larutan yang ada didalam kuvet merupakan nilai absorbansi dari cahaya yang diabsorpsi (Noer & Ritonga, 2021). Prinsip dari spektrofotometer yaitu penerusan cahaya yang bersumber dari lampu melalui lensa ke monokromator, lalu cahaya diubah dari polikromatis menjadi monokromatis. Sampel dengan konsentrasi tertentu akan dilewati oleh berkas cahaya, detektor akan menerima cahaya tersebut dan dihitung. Banyaknya serapan cahaya oleh sampel menggambarkan konsentrasi zat dalam sampel (Noer & Ritonga, 2021). Jenis-jenis spektrofotometer terbagi menjadi 2 :

1. Spektrofotometer sinar tunggal (*single beam*)

Penggunaan sinar tunggal sering dipakai pada daerah spektrum ultra ungu dan cahaya yang terlihat. Pada pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer sinar tunggal larutan standar dan larutan sampel diukur secara bergantian dengan sel yang sama (Noer & Ritonga, 2021).

2. Spektrofotometer sinar ganda (*double beam*)

Penggunaan sinar ganda sering dipakai pada daerah spektrum ultra ungu dan cahaya yang terlihat serta pada daerah inframerah. Pada pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer sinar ganda, larutan standar dan larutan sampel diukur secara bersamaan karena spektrofotometer sinara ganda mempunyai berkas sinar ganda selain itu absorbansi otomatis digunakan sebagai fungsi panjang gelombang (Noer & Ritonga, 2021).

Pemilihan Pelarut yang digunakan pada pengukuran dengan spektrofotometer merupakan faktor penting agar hasil yang didapatkan pada saat pengukuran optimal. Penggunaan pelarut sebaiknya, tidak memiliki warna serta terdapat ikatan rangkap terkonjugasi di struktur molekulnya serta memiliki tingkat kemurnian yang tinggi. Pelarut yang umum digunakan pada pengukuran yaitu pelarut yang tembus cahaya (transparan) pada spektrum UV seperti air, etanol, metanol dan n-heksan (Suhartati, 2017).

Hukum lambert-beer digunakan untuk menggambarkan hubungan konsentrasi dan absorbansi. Hukum lambert-beer mengatakan “besarnya cahaya yang diserap ole molekul berbanding lurus dengan panjang sinar yang melewati

konsentrasi zat” (Khaldun, 2018). Sehingga semakin besar sinar yang diserap oleh sampe dengan panjang gelombang tertentu, maka semakin tinggi nilai absorbansi yang dihasilkan (Suhartati, 2017). Berikut persamaan dari hukum lambert beer (Khaldun, 2018) :

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \text{ atau } A = a \cdot b \cdot c$$

Keterkaitan antara a dan ε adalah :

$$\varepsilon = a \cdot M_r$$

Dimana :

A	=	absorbansi
ε	=	Absorptivitas molar ($\text{L.cm}^{-1}.\text{mol}^{-1}$)
a	=	Absroptivitas ($\text{L.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)
b	=	panjang lintasan (cm)
c	=	konsentrasi (mol.L^{-1})
M_r	=	massa molekul relatif (g.mol^{-1})

Kurva kalibrasi yang dihasilkan antara absrobansi terhadap konsentrasi akan menunjukkan grafik linear melewati titik (0,0). Tetapi adanya grafik garis non linear serta tidak melewati titik (0,0) menunjukkan bahwa pada hasil pengukuran terdapat penyimpangan, sehingga untuk mengurangi penyimpangan tersebut maka perlu diperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran yaitu konsentrasi zat harus encer, selama proses pengukuran zat reaksi kimia tidak boleh terjadi dalam sampel maupun standar, larutan harus tidak berwarna (transparan), sinar yang digunakan harus sinar monokromatis (Khaldun, 2018).

Spektrofotometri UV-Vis banyak digunakan karena metodenya yang sederhana, mampu menentukan konsentrasi zat dengan sampel yang sedikit serta hasil yang akurat dengan nilai yang dicatat oleh detektor dan muncul pada perangkat komputer berupa angka digital maupun grafik yang diregresikan (Noer dkk., 2021). Selain itu penggunaan spektrofotometri UV-Vis dapat mengurangi biaya karena harganya relative murah (Suhartati, 2017).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Mei sampai Juli 2023 di Laboratorium Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam dan Matematika Universitas Pakuan Bogor.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu Alat-Alat Gelas (Pyrex®), Alat Sonikator (Sonica®), Ayakan Mesh 40, Desikator, Grinder, Kertas Saring, Kurs Silikat, Oven (Memert®), Pipet tetes, *Hot plate*, *Magnetic stirrer*, seperangkat alat Spektrofotometri UV-Vis (Jasco®), Tabung reaksi, Tanur (Daihan Scientific®), dan Timbangan Analitik (LabPro®).

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu Rimpang Jahe Merah, Betain Hidroklorida (≥ 99 %, Sigma-Aldrich), Etanol 70%, Metanol Pro analisa (SmartLab), Aqua Destilata, Asam Askorbat (Merck®), Asam Sitrat (Merck®), Asam Tartrat (Merck®), Asam Laktat (Ajax Chemicals), Asam Malat, Asam Sulfat (Merck®), Anhidrat asetat, Kloroform (Merck®), Pereaksi Bouchardat, Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Lieberman Burchard, HCl, Mg, Asam Klorida, Besi (III) Klorida 1%, dan DPPH (Himedia®).

3.3. Pengumpulan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan yaitu Jahe merah bagian rimpang yang di dapatkan dari Pasar Tradisional Ciluar, Kecamatan Sukaraja, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Rimpang Jahe merah yang diperoleh dilakukan proses determinasi untuk memastikan kebenaran identitas jahe merah yang sesuai dan seragam serta

menghindari adanya kesalahan dalam pengumpulan bahan baku yang digunakan pada penelitian. Determinasi dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jl. Raya Bogor No.970, Nanggewer Mekar, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor. Jawa Barat.

3.4. Pembuatan Serbuk Simplisia Jahe Merah

Jahe merah yang didapatkan sebanyak 2 kg dilakukan penyortiran basah untuk menghilangkan kotoran (tanah yang menempel, sisa tanaman dan gulma), memisahkan rimpang jahe yang baik (tidak rusak atau busuk). Jahe merah yang sudah di sortasi basah dilakukan proses pencucian untuk menghilangkan kotoran seperti tanah yang menempel atau kotoran lainnya. Pencucian dilakukan dengan menyikat rimpang secara pelan-pelan sambil di aliri dengan air lalu dibilas kembali dengan air bersih lalu ditiriskan dan di angin-aginkan agar air yang tersisa hilang.

Jahe merah segar yang sudah bersih kemudian dilakukan proses perajangan agar mempermudah proses pengeringan. Perajangan dilakukan menggunakan pisau dengan arah pemotongan melintang dengan ketebalan 3-5 mm. selanjutnya dilakukan proses pengeringan buatan menggunakan oven dengan suhu 50 °C selama 24 jam atau dikeringkan hingga kadar air yang diperoleh sebesar 10% ditandai dengan bunyi yang muncul saat jahe merah di patahkan. Setelah jahe merah kering dilakukan penyortiran akhir untuk memisahkan pengotor lain dan memastikan simplisia bebas dari pengotor. Setelah itu dilakukan proses penyerbukan dengan grinder lalu diayak menggunakan ayakan berukuran 40 mesh (Ermawati dkk., 2021). Hitung rendemen simplisia dalam % dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Rendemen serbuk} = \frac{\text{Berat serbuk simplisia (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.5. Uji Parameter Spesifik dan Non Spesifik Serbuk Simplisia Jahe Merah

3.5.1. Parameter Spesifik

a. Uji Makroskopik

Uji makroskopik atau dikenal dengan organoleptik merupakan pengujian yang bertujuan mengidentifikasi simplisia menggunakan pancaindra manusia. Uji organoleptik meliputi rasa, bau, dan warna (F. Handayani dkk., 2019). Hasil uji yang didapatkan dibandingkan dengan literature yang ada pada Farmakope Herbal Edisi II.

3.5.2. Parameter Non Spesifik

a. Susut Pengerinan

Susut pengerinan yaitu gambaran rentang maksimal senyawa yang hilang pada saat proses pengerinan. Susut pengerinan yaitu hasil pengurangan berat bahan setelah proses pengerinan. Susut pengerinan dilakukan dengan menimbang jahe merah serbuk sebanyak 2 gram dalam krus silikat yang sudah di panaskan dan ditara. Masukkan ke dalam pengering dengan suhu 105 °C selama 1 jam, setelah itu di dinginkan dalam desikator sampai suhu pada sampel turun menjadi suhu ruangan lalu ditimbang. Dilakukan pengerinan kembali pada suhu yang sama sampai berat konstan. Susut pengerinan dihitung dalam bentuk % dan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (DepKes RI, 2017) :

$$\text{Susut Pengerinan} = \frac{\text{Berat awal serbuk (g)} - \text{berat akhir serbuk (g)}}{\text{berat awal serbuk (g)}} \times 100\%$$

b. Penetapan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan dengan menimbang 2 gram serbuk jahe merah yang dimasukkan ke dalam krus silikat yang sudah dibakar diatas nyala api dan ditara. Bakar serbuk yang sudah ada didalam krus silikat menggunakan tanur dengan suhu 600 °C sampai arang yang digunakan habis, dinginkan dan dilakukan penimbangan dilakukan kembali pengerinan dengan nyala api sampai didapatkan berat konstan. Kadar abu dihitung terhadap berat simplisia dalam bentuk % dan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (DepKes RI, 2017) :

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat kurs isi (g)} - \text{berat kurs kosong (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.6. Ekstraksi Jahe Merah Pelarut Etanol 70% sebagai Pembanding

Eksraksi jahe merah menggunakan UAE dilakukan dengan menimbang serbuk jahe merah sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam elenmeyer. Selanjutnya di larutkan dengan pelarut organik yaitu etanol 70% sebanyak 10 mL, lalu di ekstraksi dengan sonikator pada suhu 45 °C selama 40 menit. Setelah proses ekstraksi selesai dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk dari hasil sentrifugasi diambil lalu ditambahkan dengan etanol 70% dalam labu ukur hingga volume 10 mL. Selanjutnya diukur aktivitas antioksidanya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan 3 kali pengulangan (Andriani dkk., 2019).

3.7. Preparasi NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*)

Preparasi Nades dengan mencampurkan HBA atau *Hydrogen Bond Acceptors* dan HBD atau *Hydrogen Bond Donor*. HBA yang digunakan dalam penelitian ini yaitu betain hidroklorida dengan HBD yang digunakan yaitu variasi asam. Proses pencampuran yang sangat umum digunakan yaitu metode pemanasan dan pengadukan. HBA, HBD dan air sebanyak 30% dicampurkan dengan bantuan *magnetic stirrer* diatas hot plate, suhu 100 °C dengan kecepatan 500 rpm hingga terbentuk larutan yang homogen (Gomes & Pastre, 2020)

Tabel 3. Rasio Preparasi NADES

Komponen	Rasio	Sumber
NADES 1 (Betain Hidroklorida : Asam Sitrat)	1 : 1	(Xia <i>et al.</i> , 2021)
NADES 2 (Betain Hidroklorida : Asam Tartrat)	1 : 2	(Teslić <i>et al.</i> , 2022)
NADES 3 (Betain Hidroklorida : Asam Malat)	1 : 1	(Xia <i>et al.</i> , 2021)
NADES 4 (Betain Hidroklorida : Asam Laktat)	1 : 2	(Tzani <i>et al.</i> , 2021)
NADES 5 (Betain Hidroklorida : Asam Asetat)	1 : 2	(Hao <i>et al.</i> , 2020)

3.8. Skrining NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*)

Skrining NADES dilakukan dengan menimbang serbuk jahe merah sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam elenmeyer. Selanjutnya di larutkan dengan

NADES sebanyak 10 mL, lalu di ekstraksi menggunakan sonikator dengan suhu 45 °C selama 40 menit. Setelah proses ekstraksi selesai dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk dari hasil sentrifugasi diambil lalu ditambahkan dengan NADES dalam labu ukur hingga volume 10 mL. Selanjutnya diukur aktivitas antioksidanya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan 3 kali pengulangan.

Hasil aktivitas antioksidan yang didapatkan dilakukan analisis secara statistik menggunakan SPSS dengan uji ANOVA. Selanjutnya hasil aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah dengan kombinasi pelarut NADES yang paling baik dilakukan optimasi menggunakan RSM.

3.9. Design Eksperimen menggunakan RSM (*Response Surface Methodology*)

Optimasi dilakukan menggunakan design eksperimen RSM untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang kuat pada kondisi optimal berdasarkan suhu, waktu, dan rasio air dalam ekstraksi jahe merah menggunakan pelarut NADES. Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling kuat dengan kombinasi pelarut NADES. Design CCD atau *Composite Central Design* digunakan dalam optimasi pada ekstraksi UAE. Pada design CCD menggunakan 3 variabel yaitu suhu (°C), waktu (menit) dan rasio NADES (%). Gambaran 3 faktor tersebut dapat ditunjukkan pada Tabel 4:

Tabel 4. Variabel Optimasi Ekstraksi Jahe Merah

Variabel	Satuan	Nilai Bawah	Nilai Tengah	Nilai Atas
Suhu (Maimulyanti <i>et al.</i> , 2023)	°C	35	45	55
Waktu (Maimulyanti <i>et al.</i> , 2023)	Menit	20	40	60
Rasio Nades (Maimulyanti <i>et al.</i> , 2023)	%	50	60	70

Tabel 5. Rancangan Optimasi Ekstraksi

Run	Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rasio Nades (%)
1	55	60	50
2	45	40	60
3	55	60	70
4	35	20	70
5	45	40	60
6	45	40	60
7	45	20	60
8	35	20	50
9	35	60	50
10	35	40	60
11	45	60	60
12	55	40	60
13	55	20	50
14	45	40	50
15	45	40	60
16	55	20	70
17	45	40	70
18	35	60	70
19	45	40	60
20	45	40	60

3.10. Optimasi Ekstraksi Jahe Merah dengan Metode UAE

Optimasi ekstraksi jahe merah dilakukan sesuai dengan prosedur yang tertulis pada sub bab 3.8 dengan kombinasi suhu, waktu dan rasio nades pada rancangan RSM yang tertera pada Tabel. 5. Selanjutnya diukur aktivitas antioksidanya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Data yang dihasilkan akan di analisa menggunakan *design expert* 12 untuk mendapatkan kondisi ekstrak jahe merah yang mempunyai aktivitas antioksidan paling kuat dengan kombinasi variabel yang tertera pada Tabel 5.

3.11. Verifikasi Hasil Optimasi

Verifikasi hasil optimasi dilakukan sesuai prosedur yang tertulis pada sub bab 3.8 dengan kombinasi suhu, waktu dan rasio pada kondisi ekstraksi yang optimal hasil analisa *design expert* 12. Selanjutnya diukur aktivitas antioksidanya menggunakan spektrofotometri UV-Vis sesuai dengan 6 kali pengulangan.

3.12. Uji Fitokimia

3.12.1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan memipet ekstrak jahe merah 1 mL lalu dicampurkan etanol 70% sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi, selanjutnya dilakukan pengocokan dan pemanasan. Filtrat yang didapatkan dicampurkan dengan serbuk Mg (Magnesium) sebanyak 0,1 gram dan HCl Pekat (Asam Klorida Pekat) 2 tetes. Hasil positif menunjukkan perubahan warna merah pada lapisan etanol (Srikandi dkk., 2020).

3.12.2. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan memipet 1 mL ekstrak jahe merah dan dicampurkan dengan 1 mL HCl (Asam Klorida) 2N dan *aqua destilata* dalam tabung reaksi, lalu dilakukan proses pemanasan diatas *water bath* dengan waktu 2 menit, didinginkan lalu dilakukan proses penyaringan dengan kertas saring. Hasil penyaringan dibagi dalam 3 bagian yang sama banyak dalam 3 tabung reaksi berbeda. Selanjutnya, dilakukan proses pengujian alkaloid dengan 3 pereaksi berbeda yaitu pereaksi mayer, pereaksi bouchardat dan pereaksi dragendroff (Purwoko dkk., 2020).

3.12.3. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan memipet ekstrak jahe merah sebanyak 1mL dicampurkan dengan 10 mL aqua dest didalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 2 – 3 tetes $FeCl_3$ (Besi III Klorida) dengan konsentrasi 1%. Hasil positif menunjukkan perubahan warna coklat atau biru kehitaman (Srikandi dkk., 2020).

3.12.4. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan ekstrak sebanyak 1mL dalam 10 mL air lalu dilakukan pemanasan selanjutnya dilakukan proses pengocokan didalam tabung reaksi dengan arah vertikal secara kuat. Hasil positif dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Lalu ditambahkan HCl (Asam klorida) 2N hasil positif menunjukkan buih yang terbentuk tidak hilang (I. S. Dewi dkk., 2021).

3.12.5. Uji Steroid Dan Triterpenoid

Uji sterol dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam etanol % 70 lalu hasil penyaringan diuji dengan pereaksi Liebermann burchard (asam asetat anhidrat). Hasil penyaringan dicampurkan dengan beberapa tetes asam asetat anhidrat lalu dihomogenkan dengan mengocok tabung reaksi selanjutnya ditambahkan 1 mL H₂SO₄ P (asam sulfat pekat) melalui dinding tabung. Hasil positif menunjukkan larutan berwarna ungu ke biru atau kehijauan untuk steroid dan cincin merah untuk triterpenoid (Srikandi dkk., 2020).

3.13. Uji Aktivitas Antioksidan

3.13.1. Pembuatan Larutan DPPH 1 mM

Larutan DPPH konsentrasi 1 mM dibuat dengan melarutkan DPPH padat yang sudah ditimbang sebanyak 19,71 mg dengan metanol pro analisa didalam labu ukur sampai volume 50 mL. Lalu labu ukur ditutup menggunakan alluminium foil serta disimpan diruang yang tidak bercahaya (Munadi, 2020).

3.13.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum DPPH diukur dengan memipet larutan DPPH 1 mM sebanyak 1 mL dimasukan kedalam labu ukur 10mL dan ditambahkan sampai ad tanda batas dengan metanol pro analisa, lalu dihomogenkan. Setelah itu diukur panjang gelombang dengan memasukan larutan kedalam kuvet dengan rentang panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur nilai absorbansi pada larutan blanko, larutan pembanding dan larutan sampel ekstrak jahe merah (Munadi, 2020).

3.13.3. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Waktu inkubasi optimum dilakukan dengan memipet larutan induk asam askorbat 100 ppm sebanyak 0,6 mL ditambahkan dengan larutan DPPH 1mM sebanyak 1mL kemudian di tambahkan metanol pro analisa ad tanda batas labu ukur dengan volume 10 mL. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum dengan Spektrofotometri UV-Vis dalam rentang waktu 60 menit, dimulai pengukuran pada 0 menit dan dilanjutkan pengukuran tiap selang

waktu 5 menit hingga 60 menit. Waktu inkubasi optimum ditentukan pada saat nilai absorbansi yang muncul mulai konstan (Nastiti dkk., 2021).

3.13.4. Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan blanko DPPH dibuat dengan memipet 1 mL larutan induk DPPH konsentrasi 1mM lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambahkan metanol pro analisa sampai tanda batas dan di homogenkan. Larutan dilapisi dengan alluminium foil, dan dibiarkan pada waktu inkubasi optimum yang didapatkan sebelum dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis (Sami & Rahimah, 2015).

3.13.5. Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat Konsentrasi 100

ppm

Larutan pembanding asam askorbat konsentrasi 100 ppm dibuat dengan melarutkan asam askorbat yang sudah ditimbang sebanyak 10 mg didalam labu ukur 100mL dengan metanol pro analisa ad tanda batas labu ukur setelah itu dihomogenkan (Munadi, 2020).

3.13.6. Pembuatan Deret Larutan Pembanding Asam Askorbat

Larutan asam askorbat dibuat deret dengan konsentrasi dari 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Deret konsentrasi dibuat dengan memipet larutan standar 100 ppm secara berturut-turut sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang didalamnya terisi larutan DPPH induk sebanyak 1 mL lalu di tambahkan metanol pro analisa sampai tanda batas. Larutan dilapisi dengan alluminium foil dan dibiarkan selama waktu inkubasi optimum yang didapatkan sebelum dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis (Munadi, 2020).

3.13.7. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Jahe Merah Konsentrasi

1000 ppm

Ekstrak NADES dan Etanol mempunyai konsentrasi sebesar 100.000 ppm. Larutan induk ekstrak jahe merah dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm dengan memipet ekstrak cair NADES dan Etanol masing-masing sebanyak 0.1 mL lalu dimasukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol Pa hingga tanda batas serta dihomogenkan (Munadi, 2020).

3.13.8. Pembuatan Deret Larutan Sampel Ekstrak Jahe Merah

Larutan uji ekstrak jahe merah dibuat deret konsentrasi dari 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm. Deret konsentrasi dibuat dengan memipet larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm secara berturut-turut sebanyak 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 mL yang dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang sudah terisi larutan DPPH sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 1 mM. selanjutnya di tambahkan metanol Pa sampai tanda batas. Larutan dilapisi dengan alluminium foil dan dibiarkan selama waktu inkubasi optimum yang didapatkan sebelum dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis (Munadi, 2020).

3.13.9. Pengukuran Absorbansi

Setelah semua larutan yang akan diujikan selesai disiapkan. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan terhadap larutan blanko, larutan pembanding asam askorbat dan larutan sampel ekstrak jahe merah yang sebelumnya sudah diinkubasi pada suhu ruangan selama waktu inkubasi optimum yang didapatkan.

3.13.10. Perhitungan Inhibisi (%)

Tingginya nilai % inhibisi dihitung menggunakan persamaan berikut (Sami & Rahimah, 2015) :

$$\% \text{ Penghambatan Radikal} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

3.13.11. Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ (50% *Inhibitory Concentration*) ditentukan dengan hasil persamaan regresi linear yang berfungsi sebagai penentuan kategori kekuatan antioksidan (Nastiti dkk., 2021). Persamaan regresi linear tersebut didapatkan dari kurva terhadap pemotongan garis antara konsentrasi sebagai sumbu x dan nilai penghambatan radikal sebagai sumbu y. Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persamaan regresi linear $y = a + bx$, Nilai $y = 50$ dan nilai $x = \text{nilai IC}_{50}$ (Qodriah dkk., 2021).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Pengumpulan Bahan Baku dan Determinasi Tanaman

Rimpang jahe merah yang digunakan sebagai sampel ada penelitian ini didapatkan dari Pasar Tradisional Ciluar, Kecamatan Sukaraja, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Selanjutnya dilakukan determinasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jl. Raya Bogor No.970, Nanggewer Mekar, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor. Jawa Barat. Hasil determinasi yang dilakukan pada sampel yang digunakan pada penelitian merupakan rimpang jahe merah dengan jenis (*Zingiber officinale* Roscoe) dan suku Zingiberaceae. Hasil determinasi rimpang jahe merah dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2. Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia Jahe Merah

Rimpang jahe merah yang didapatkan dari dari Pasar Tradisional Ciluar, Kecamatan Sukaraja, Kabupaten Bogor, Jawa Barat dilakukan pembuatan simplisia. Pembuatan simplisia dilakukan dengan beberapa tahap yaitu sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan. Sortasi basah dilakukan dengan memisahkan kotoran yang ada pada rimpang jahe merah seperti tanah, batu kerikil atau bahan asing lainnya. Selanjutnya dilakukan pencucian menggunakan sikat plastik untuk mempermudah penghilangan tanah yang menempel pada rimpang jahe merah. Pencucian juga dilakukan sebanyak 3-4 kali dibawah air mengalir. Setelah rimpang jahe merah selesai dicuci dilakukan perajangan untuk mempercepat proses pengeringan. Rimpang jahe merah dirajang secara melintang, hal ini dilakukan untuk mengurangi pecahnya sel dan laju penguapan yang terlalu cepat (Ermawati dkk., 2021). Selain itu ketebalan rimpang juga perlu diperhatikan ketebalan yang dipilih pada penelitian yaitu 3-5 mm hal tersebut dilakukan untuk menjaga senyawa yang ada pada rimpang jahe merah tidak berkurang atau menguap lebih cepat. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan didalam oven dengan suhu 50 °C selama 24 jam. Pengeringan dilakukan untuk memperpanjang waktu simpan rimpang jahe merah dengan menurunkan kadar air,

kadar air yang berkurang dapat mencegah laju reaksi enzimatik yang sehingga dapat meningkatkan mutu simplisia yang dihasilkan (Handoyo & Pranoto, 2020). Selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan pengotor lain yang masih tertinggal didalam simplisia jahe merah. Simplisia kemudian dihaluskan menggunakan grinder dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan dengan ukuran 40 mesh. Ukuran partikel yang terlalu kecil akan menyulitkan pelarut yang digunakan untuk membasahi bahan sehingga proses ekstraksi tidak optimal selain itu ukuran partikel yang terlalu kecil akan menurunkan rendemen (Anam, 2010).

Rimpang jahe merah segar yang digunakan dalam penelitian sebanyak 1920 gram. Rimpang jahe segar dikeringkan dan didapatkan bobot rimpang jahe merah kering sebanyak 394 gram dan bobot serbuk rimpang jahe merah sebanyak 365 gram. Setelah dilakukan perhitungan rendemen serbuk yang didapatkan sebesar 19,0104 %. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Cahyanto, (2021) rendemen serbuk simplisia jahe merah sebesar 10,9%. Perbedaan hasil rendemen tersebut dipengaruhi oleh ekologi tanaman jahe merah saat tumbuh. Menurut Hapsoh dkk, (2010) ketinggian dan lokasi penanaman jahe merah dapat mempengaruhi bobot rimpang yang didapatkan. Hasil rendemen berhubungan dengan besarnya kandungan metabolit sekunder dan metabolit primer yang terdapat dalam sampel, dimana semakin tinggi rendemen yang didapatkan maka semakin besar kandungan metabolit yang ada didalam sampel (Senduk dkk., 2020). Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3. Hasil Uji Parameter Spesifik dan Non Spesifik Serbuk Jahe Merah

4.3.1. Hasil Uji Parameter Spesifik

a. Uji Makroskopik

Uji makroskopik serbuk jahe merah dilakukan secara organoleptik menggunakan pancaindra manusia pengujian meliputi rasa, bau dan warna. Uji organoleptik dilakukan untuk mengidentifikasi bahwa serbuk yang digunakan yaitu serbuk yang dibuat dari jahe merah melalui pengujian dengan pancaindra manusia. Hasil tersebut merujuk pada literatur yaitu Farmakope Herbal Edisi II tahun 2017. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Makroskopik

Parameter	Hasil	Literatur (Departemen Kesehatan RI, 2017)
Warna	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan
Bau	Aromatik khas	Khas
Rasa	Pedas	Pedas

Hasil pengujian makroskopik menunjukkan bahwa serbuk simplisia jahe merah sesuai dengan literatur yang merujuk pada Farmakope Herbal Edisi II tahun 2017. Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kariem & Maesaroh (2022) bahwa warna, bau dan rasa seperti pada Tabel 6.

**Gambar 5.** Serbuk Rimpang Jahe Merah

Sumber : Dokumentasi Pribadi

4.3.2. Hasil Uji Parameter Non Spesifik

a. Susut Pengeringan

Susut pengeringan dilakukan untuk memberikan gambaran rentang maksimal senyawa yang hilang seperti air dan senyawa mudah menguap seperti minyak atsiri selama proses pengeringan berlangsung (Cahyanto, 2021). Hasil pengujian susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengujian Susut Pengeringan

Parameter	Ulangan	Hasil (%)	Rata -Rata (%) \pm Stdev
Susut Pengeringan	I	6,2572	6,5080 \pm 0,3546
	II	6,7587	

Hasil rerata susut pengeringan serbuk rimpang jahe merah yang dilakukan dengan 3 kali replikasi yaitu 6,5080 %. Hasil tersebut memenuhi syarat yang dicantumkan dalam Farmakope Herbal Edisi II, syarat susut pengeringan rimpang jahe merah tidak lebih dari 10%. Hasil susut pengeringan tersebut menyatakan bahwa serbuk simplisia mempunyai kualitas yang baik karena senyawa yang hilang masih didalam persyaratan yang tertera dalam Farmakope Herbal Edisi II tahun 2017 sehingga serbuk simplisia jahe merah mempunyai kandungan senyawa dalam jumlah yang cukup. Perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada Lampiran 4.

b. Kadar Abu

Kadar abu dilakukan untuk memberikan gambaran senyawa mineral yang ada pada rimpang jahe merah setelah pengabuan dengan suhu 600 °C. Senyawa yang akan menguap pada proses pengabuan yaitu senyawa organik, dan senyawa anorganik akan tertinggal menjadi abu. Kemurnian sampel yang digunakan dapat ditentukan menggunakan nilai kadar abu (Cahyanto, 2021). Hasil pengujian kadar abu dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pengujian Kadar Abu

Parameter	Ulangan	Hasil (%)	Rata -Rata (%) ± Stdev
Kadar abu	I	4,4624	4,5486 ± 0,1219
	II	4,6348	

Hasil rerata kadar abu serbuk rimpang jahe merah yang dilakukan dengan 3 kali replikasi yaitu 4,5486 %. Hasil tersebut memenuhi syarat yang dicantumkan dalam Farmakope Herbal Edisi II, syarat kadar abu rimpang jahe merah tidak lebih dari 5,6%. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Sa'diah dkk (2019) pengujian kadar abu serbuk jahe merah yang didapatkan sebesar 4,37 %.

Perbedaan nilai kadar abu dapat disebabkan oleh adanya unsur tanah yang tertinggal dalam jahe merah pada saat proses pembuatan simplisia sehingga terdapat cemaran logam yang dapat mempengaruhi hasil dari kadar abu. Selain itu hal yang dapat mempengaruhi nilai kadar abu diantaranya jenis bahan, waktu dan suhu yang digunakan selama proses pengeringan. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan penguraian molekul air oleh panas sehingga nilai kadar abu

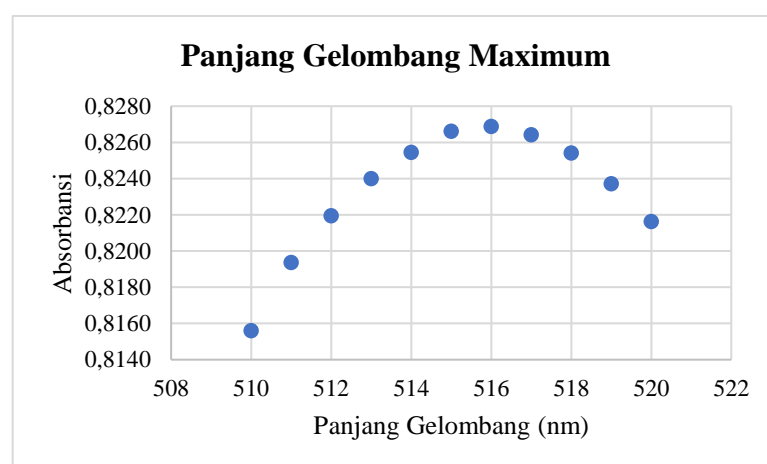
meningkat karena terjadi peningkatan mineral dalam sampel (Farrel dkk, 2020). Perbedaan ekologi jahe merah pada saat tumbuh juga dapat mempengaruhi hasil kadar abu yang didapatkan, dimana ekologi tempat tumbuh yang berbeda dapat memiliki hasil yang berbeda pula (Utami dkk., 2018) . Hasil Perhitungan kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.4. Hasil Analisis Antioksidan

Analisis antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Metode DPPH atau *2,2 difenil-1-pikrihidrazil* merupakan suatu metode yang didasarkan pada perubahan warna ungu ke warna kuning yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Rustiah & Umriani, 2018). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan senyawa radikal yaitu DPPH dengan memberikan proton terhadap senyawa radikal DPPH, sehingga kereaktifan radikal bebas dapat diredam dan menghasilkan senyawa radikal yang lebih stabil (Rukhayyah dkk., 2022).

4.4.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maximum DPPH

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Penentuan panjang gelombang maximum dengan mengukur larutan baku DPPH pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang sudah di tentukan yaitu 400-600 nm.



Gambar 6. Hasil Panjang Gelombang Maximum

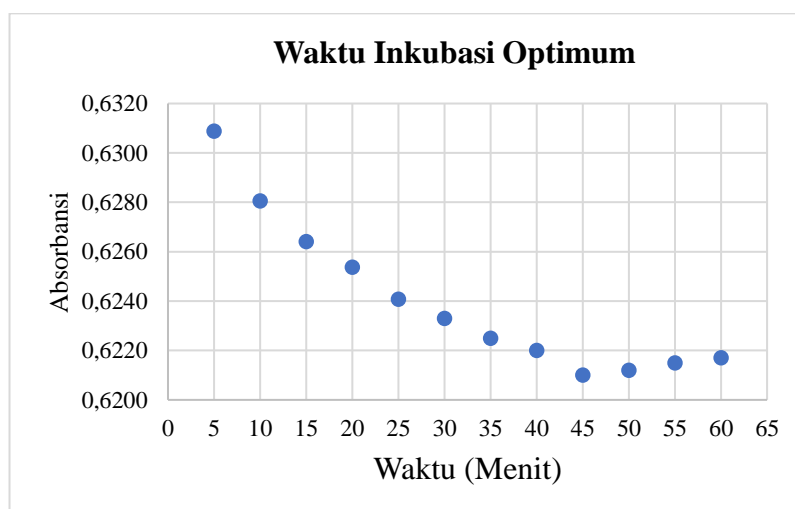
Panjang gelombang maximum yang didapatkan dengan nilai serapan tertinggi yaitu 516 nm. Hal tersebut telah sesuai, karena panjang gelombang

maximum larutan DPPH yang didapatkan berada diantara 515 nm dan 517 nm (Fauzi & Santoso, 2021; Wulan dkk., 2019)

Panjang gelombang maximum tersebut digunakan pada pengukuran sampel untuk meningkatkan kepekaan dan menurunkan resiko kesalahan hal tersebut dikarenakan besarnya perubahan absorbansi pada setiap konsentrasi (Winahyu dkk., 2019).

4.4.2. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan waktu inkubasi optimum dilakukan untuk memberikan gambaran rentang waktu yang dibutuhkan senyawa antioksidan untuk bereaksi dengan senyawa DPPH hingga senyawa DPPH menjadi senyawa yang lebih stabil.



Gambar 7. Hasil Waktu Inkubasi Optimum

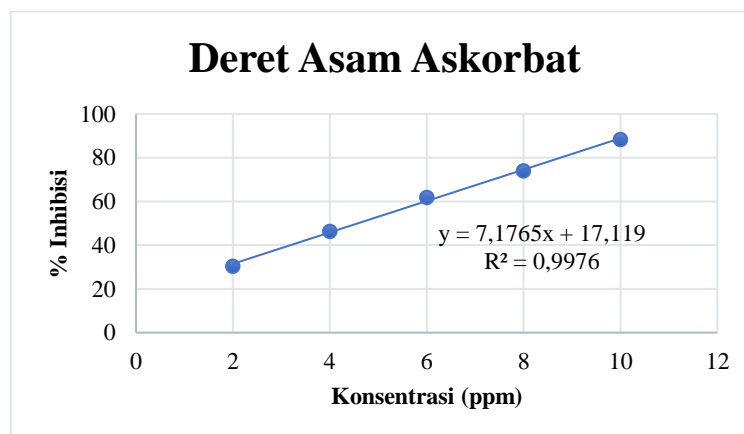
Hasil penentuan waktu inkubasi optimum yang didapatkan yaitu 45 menit. Hal tersebut ditunjukkan oleh grafik dimana pada waktu 45 menit grafik sudah mulai stabil menandakan bahwa sudah tidak ada lagi reaksi antara DPPH dan vitamin C (Dewi & Avif, 2023).

4.4.3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Pengukuran aktivitas antioksidan asam askorbat digunakan sebagai standar pada penelitian ini. Asam askorbat dipilih karena mudah larut dalam air, termasuk senyawa antioksidan alami yang mudah ditemukan, praktis serta memiliki aktivitas antioksidan kuat lebih baik dibandingkan dengan vitamin E dan A (Munadi, 2020).

Selain itu asam askorbat merupakan salah satu standar yang banyak digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004).

Pengukuran aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai standar dilakukan dengan teknik kurva kalibrasi. Asam askorbat dibuat deret konsentrasi untuk mendapatkan hasil yang linear. Semakin banyak deret yang digunakan maka hasil akan lebih akurat. Konsentrasi deret asam askorbat yang dibuat yaitu 2 ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm, dan 10 ppm. Hasil pengukuran pada spektrofotometri dibuat dalam kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi yaitu sebuah grafik hubungan konsentrasi (x) terhadap % inhibisi (y) yang akan menghasilkan garis linear.



Gambar 8. Hasil Kurva Kalibrasi Standar Asam Askorbat

Hasil dari pengukuran kurva kalibrasi didapatkan persamaan linear yang akan digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Persamaan garis linear yang didapatkan yaitu $y = 7,1765x + 17,119$ dengan nilai R^2 0,9976. Nilai R^2 atau koefisien determinasi $> 0,99$ menunjukkan linearitas yang baik (Nasution dkk., 2019). Nilai IC_{50} asam askorbat yaitu 4,5823 ppm. Hasil tersebut masuk kedalam kategori kuat. Asam askorbat mempunyai gugus polihidroksi dan gugus hidroksi bebas dimana gugus hidroksi dapat menangkap radikal bebas sedangkan gugus polihidroksi dapat meningkatkan potensi aktivitas antioksidan (Sami dkk., 2019). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan asam askorbat dapat dilihat pada Lampiran 13.

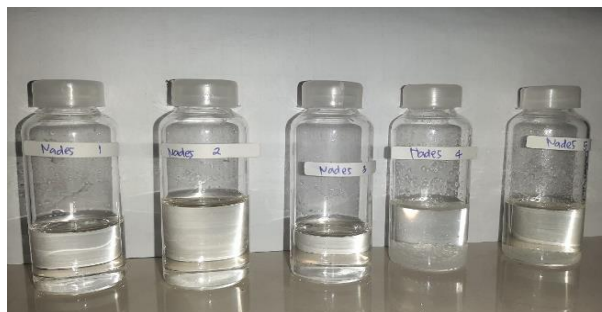
4.4.4. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah

Ekstraksi jahe merah menggunakan pelarut yang berbeda yaitu pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) dan Etanol 70% dengan metode

pengekstraksian yang sama yaitu menggunakan metode UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*). Pelarut etanol 70% dalam ekstraksi jahe merah digunakan sebagai pembandingan dalam pengukuran aktivitas antioksidan untuk mengetahui efektivitas penggunaan pelarut NADES terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak jahe merah. Sebelum pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah dilakukan proses preparasi NADES terlebih dahulu.

4.4.4.1. Hasil Preparasi NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*)

Preparasi NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) dilakukan dengan pencampuran kombinasi HBA (*Hydrogen Bond Acceptors*), HBD (*Hydrogen Bond Donor*) dan air hingga didapatkan larutan yang homogen. Telah diketahui bahwa pelarut NADES mempunyai viskositas yang tinggi akibat interaksi antar molekul yang kuat, terutama pada jaringan ikatan H dalam campuran eutektik. Sehingga penambahan air menyebabkan interaksi antar molekul berkurang menyebabkan viskositas dari pelarut NADES berkurang (Savi *et al.*, 2019). Hasil pelarut NADES dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 9. Hasil Preparasi NADES

Pelarut NADES yang terdiri dari komponen penyusun yang tepat akan membentuk larutan bening dan homogen. Pelarut NADES yang membentuk larutan bening dan homogen yaitu NADES 1 dan NADES 2. Rasio eutektik yang sesuai terbentuk karena ikatan campuran NADES yang seimbang, sehingga menghasilkan ikatan yang kuat antar molekul. Ikatan yang kuat antar molekul tersebut membuat kristal tidak terbentuk (Savi *et al.*, 2019).

Sedangkan NADES 3, NADES 4, dan NADES 5 membentuk kristal. Pembentukan kristal tersebut terjadi karena penurunan titik beku yang berkaitan dengan interaksi antara HBA dan HBD. Interaksi antara HBA dan HBD memiliki

keterkaitan antara struktur, sifat dan rasio molar pelarut NADES yang dipilih (Qin *et al.*, 2020). Kombinasi pelarut NADES tersebut tidak dilanjutkan ke tahap skrining dan pengujian aktivitas antioksidan

4.4.4.2. Hasil Skrining NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*)

Skrining NADES dilakukan dengan mengekstraksi serbuk jahe merah dengan pelarut NADES. Ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES yang dipilih di analisis aktivitas antioksidannya dan dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah pembanding yaitu ekstrak dengan pelarut etanol 70%. Ekstraksi jahe merah menggunakan metode UAE (*Ultrasonnd Assisted Extraction*) yaitu suatu metode dengan efek kavitasi yang dapat meningkatkan hasil ekstraksi didalam pelarut. Efek kavitasi ini terbentuk karna pecahnya gelembung mikroskopik didalam larutan yang disebabkan oleh energi ultrasonik (Deora *et al.*, 2013). Metode UAE dipilih karena dapat mengurangi banyaknya pelarut dan menurunkan suhu yang digunakan, sehingga waktu ekstraksi lebih cepat, penggunaan listrik yang rendah juga biaya yang lebih efisien (Tao *et al.*, 2014).

Nilai IC_{50} yang didapatkan dari skrining NADES dilakukan analisa data. Analisa data tersebut dengan membandingkan nilai IC_{50} NADES dengan kontrol dan nilai IC_{50} tanpa kontrol menggunakan uji *T Test independent*. Uji *T test independent* dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antara 2 kelompok yang tidak berpasangan. Hasil uji aktivitas antioksidan skrining NADES dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji aktivitas antioksidan skrining NADES

Komponen	IC_{50} (ppm)		Kategori
	Tanpa Kontrol	Dengan Kontrol	
NADES 1 (Betain Hidrokloria : Asam Sitrat)	274, 8860	289,0901	Lemah
NADES 2 (Betain Hidroklorida : Asam Tartrat)	491,0714	520,5304	Lemah

Hasil uji *T test independent* aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} menunjukkan nilai significant (2-tailed) sebesar 0,000 hasil ini lebih kecil dari 0,05

sehingga ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tanpa kontrol dan kelompok dengan kontrol. Berdasarkan hasil perbandingan tersebut nilai IC_{50} tanpa kontrol menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan nilai IC_{50} dengan kontrol. Sehingga pelarut NADES mempunyai potensi sebagai antioksidan. Kelompok tanpa kontrol yang digunakan yaitu campuran pelarut NADES yang ditambahkan dengan pereaksi DPPH tanpa ekstrak dengan prosedur sesuai Sub bab 3.8. Perhitungan uji aktivitas antioksidan skrining NADES pada Lampiran 16.

Lemahnya aktivitas antioksidan pada kelompok dengan kontrol dapat disebabkan karena donor metil universal dari betain sebagai reaksi metilasi, sehingga penarikan senyawa antioksidan dari jahe merah tidak optimal. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kresnawaty & Zainuddin, (2020) adanya perubahan aktivitas antioksidan daun gambir pada ekstrak kasar dan ekstrak yang telah melalui reaksi metilasi, dimana esktraksi kasar menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 13,41 ppm sedangkan pada ekstrak yang dimetilasi menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 121,81 ppm. Reaksi metilasi yang terjadi pada flavonoid dapat melemahkan aktivitas antioksidan dengan mengubah atom -H menjadi gugus metil ($-CH_3$) sehingga sumber proton untuk penangkapan radikal bebas berkurang.

Selanjutnya dilakukan analisa data aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah menggunakan SPSS untuk mengetahui adanya pengaruh dari kombinasi pelarut NADES yang dipilih terhadap aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} . Sebelum melakukan uji *one way anova*, dilakukan analisa data uji homogenitas dan uji normalitas. Uji *levene's statistic* digunakan sebagai parameter uji homogenitas yang menyatakan bahwa data berdistribusi homogen dengan nilai sig 0,090 > 0,05. Sedangkan uji *Shapiro wilk* digunakan sebagai parameter uji normalitas. Hasil uji *shapiro wilk* menyatakan data berdistribusi normal dengan nilai sig 0,319 untuk NADES 1; 0,065 untuk NADES 2; dan 0,736 untuk etanol dimana semua hasil sig > 0,05.

Hasil analisa data *one way anova* menunjukkan nilai sig 0,000 < 0,05 maka, terdapat pengaruh yang signifikan antara jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah. Sehingga diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut duncan. Hasil analisa SPSS dengan uji lanjut duncan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji lanjut duncan

Komponen	IC₅₀ (ppm)	Kategori
NADES 1 (Betain Hidrokloria : Asam Sitrat)	289,0901 ^a	Lemah
NADES 2 (Betain Hidroklorida : Asam Tartrat)	520,5304 ^b	Lemah
Etanol 70%	673,3107 ^c	Lemah

Keterangan : huruf dengan *superscript* yang berbeda antar kolom menunjukkan adanya perbedaan nyata pada tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) Berdasarkan uji lanjut duncan

Hasil analisa data uji lanjut duncan terhadap aktivitas antioksidan antara ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES 1, NADES 2 dan Etanol 70% menyatakan bahwa ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES 1 mempunyai pengaruh yang berbeda signifikan dengan NADES 2 dan Etanol 70%. Serta ekstrak jahe merah dengan NADES 2 juga mempunyai pengaruh yang berbeda signifikan dengan NADES 1 dan Etanol 70%. Hal tersebut juga berlaku untuk etanol 70%.

Pengujian aktivitas antioksidan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm dengan hasil nilai serapan peredaman radikal bebas yang berinteraksi dengan ekstrak. Nilai serapan tersebut dihitung % penghambatan radikal bebas atau % inhibisi. Lalu di regresikan dengan nilai konsentrasi terhadap % inhibisi untuk menghasilkan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menyatakan besarnya konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat radikal sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan hasil penghambatan radikal bebas, dimana semakin tinggi nilai penghambatan radikal maka nilai IC₅₀ akan semakin kecil (Molyneux, 2004). Senyawa fenolik yang terkandung dalam jahe merah mengandung gugus hidroksi (-OH) yang bereaksi dengan pereaksi DPPH sebagai radikal bebas menghasilkan senyawa DPPH-H (Rukhayyah dkk., 2022).

Hasil pengujian skrining ekstrak jahe merah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan paling baik diperoleh dengan kombinasi NADES 1 (Betain Hidroklorida – Asam sitrat) dengan nilai IC₅₀ paling kecil sebesar 289,0901 ppm. Hasil ini masuk dalam kategori antioksidan yang lemah. Hal tersebut dapat

disebabkan oleh penomoran serta posisi gugus hidroksil dari senyawa dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Semakin banyak gugus hidroksil yang ada didalam NADES maka aktivitas antioksidannya akan sebanding dengan jumlah gugus hidroksil penyusun tersebut. (Pratami *et al.*, 2023). Senyawa yang ada dalam jahe merah belum murni karena ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak cair sehingga hasil tersebut merupakan akumulasi dari pelarut dan senyawa yang ada dalam jahe merah (Susanto dkk, 2018).

Selain itu asam sitrat merupakan senyawa yang bersifat polar mempunyai kepolaran yang mirip dengan etanol 70% (Pratami *et al.*, 2023). Sehingga dapat mengekstraksi senyawa fenolik lebih baik. Penambahan air pada NADES yang terbentuk selain untuk menurunkan viskositas bertujuan untuk melakukan transportasi masa senyawa dalam jahe merah keluar lalu bercampur dengan pelarut, sehingga meningkatkan kepolaran yang dapat memberikan hasil ekstraksi menjadi lebih banyak (Altunay *et al.*, 2019). Hasil skrining ekstraksi jahe merah pelarut NADES kombinasi (Betain Hidroklorida – Asam sitrat) mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES 2 dan etanol 70%, maka pelarut NADES kombinasi (Betain Hidroklorida – Asam sitrat) dilanjutkan ke tahap optimasi dan verifikasi untuk mendapatkan kondisi yang optimal dari proses ekstraksi.

Hasil skrining aktivitas antioksidan jahe merah yang diekstraksi dengan UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*) menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 289,0901 ppm. Jika dibandingkan dengan hasil nilai IC_{50} dengan pelarut etanol 70%. Sebesar 673,3107 ppm. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak cair NADES mampu menghambat radikal bebas lebih baik dibandingkan dengan ekstrak cair dengan pelarut etanol 70%.

4.4.4.3. Hasil Optimasi Metode RSM (*Response Surface Methodology*)

Optimasi ekstraksi jahe merah pelarut NADES 1 (Betain Hidroklorida – Asam sitrat) dilakukan dengan metode RSM (*Response Surface Methodology*). Metode RSM digunakan untuk melakukan optimasi dari proses ekstraksi yang digunakan, mengevaluasi efek dari setiap faktor dan pengaruhnya terhadap respon (Azharini dkk., 2022). Optimasi metode ekstraksi UAE dilakukan dengan 3 variabel

yaitu suhu, waktu, dan rasio NADES. Kombinasi antar variabel dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Kombinasi suhu, waktu dan rasio antar variabel

Variabel	Satuan	Nilai Bawah	Nilai Tengah	Nilai Atas
Suhu	°C	35	45	55
Waktu	Menit	20	40	60
Rasio Nades	%	50	60	70

Senyawa Fenolik adalah senyawa yang mudah terdegradasi karena sifatnya yang sangat sensitif dan tidak stabil. Hal tersebut dapat terjadi karena faktor suhu (D. K. Sari dkk., 2012). Naiknya suhu dan lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan kelarutan senyawa fenol dalam pelarut yang semakin tinggi dan proses ekstraksi akan lebih efektif. Namun, naiknya suhu yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama akan mengalami penurunan senyawa fenolik yang dihasilkan karena adanya kerusakan pada strukturnya. (Andriani dkk., 2019). Aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu sampel. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh bahwa suhu yang tinggi dapat meningkatkan senyawa antioksidan, namun suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan senyawa antioksidan sehingga aktivitas antioksidan menurun (Wicaksono & Zubaidah, 2015).

Betain hidroklorida sebagai zwitterion akan berinteraksi dengan air membentuk ikatan hidrogen. Sehingga rasio nades betain hidroklorida dengan air akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Penambahan lebih dari 50% harus dihindari dikarenakan akan menghancurkan ikatan hidrogen yang terbentuk antar HBA dan HBD (Syarifah *et al.*, 2023). Karena alasan yang sudah dijabarkan tersebut, variabel suhu, waktu dan rasio NADES dipilih sesuai dengan kombinasi yang dapat dilihat pada Tabel 12.

Setelah variabel dan rentang dari variabel di tentukan, dilakukan perhitungan aktivitas antioksidan dari tiap rancangan. Hasil serapan dari rancangan RSM serta % aktivitas antioksidanya dapat dilihat pada Lampiran 19. Selanjutnya nilai IC₅₀ yang didapatkan dari tiap rancangan optimasi di analisis anova

menggunakan *design expert* 12 dengan RSM. Hasil nilai IC₅₀ dari rancangan optimasi dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Nilai IC₅₀ Rancangan Optimasi RSM

Run	Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rasio NADES (%)	IC ₅₀ (ppm)
1	55	60	50	438,733
2	45	40	60	456,308
3	55	60	70	270,152
4	35	20	70	319,301
5	45	40	60	375,063
6	45	40	60	371,943
7	45	20	60	459,070
8	35	20	50	398,876
9	35	60	50	352,244
10	35	40	60	371,279
11	45	60	60	387,632
12	55	40	60	283,309
13	55	20	50	324,902
14	45	40	50	573,645
15	45	40	60	499,841
16	55	20	70	255,998
17	45	40	70	283,184
18	35	60	70	329,143
19	45	40	60	351,575
20	45	40	60	482,146

Hasil optimasi dengan NADES 1 (Betain Hidroklorida - Asam Sitrat) yaitu kombinasi suhu 55, waktu 20 dan rasio NADES 70% menghasilkan nilai IC₅₀ paling baik sebesar 255,998 ppm dibandingkan dengan kombinasi variabel lain. Selanjutnya hasil optimasi di analisa dengan uji ANOVA menggunakan *design expert* 12. Hasil optimasi yang di analisa dengan uji ANOVA dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Optimasi dengan Uji ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	5.344E-06	9	5.938E-07	4.06	0.0197	<i>significant</i>
A-SUHU	5.223E-07	1	5.223E-07	3.57	0.0881	
B-WAKTU	1.322E-08	1	1.322E-08	0.0904	0.7699	
C-RASIO	2.365E-06	1	2.365E-06	16.17	0.0024	
Residual	1.462E-06	10	1.462E-07			

Lanjutan

Tabel 13. Hasil Optimasi dengan Uji ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Lack of Fit	8.023E-07	5	1.605E-07	1.22	0.4178	<i>not significant</i>
Pure Error	6.601E-07	5	1.320E-07			
Cor Total	6.806E-06	19				

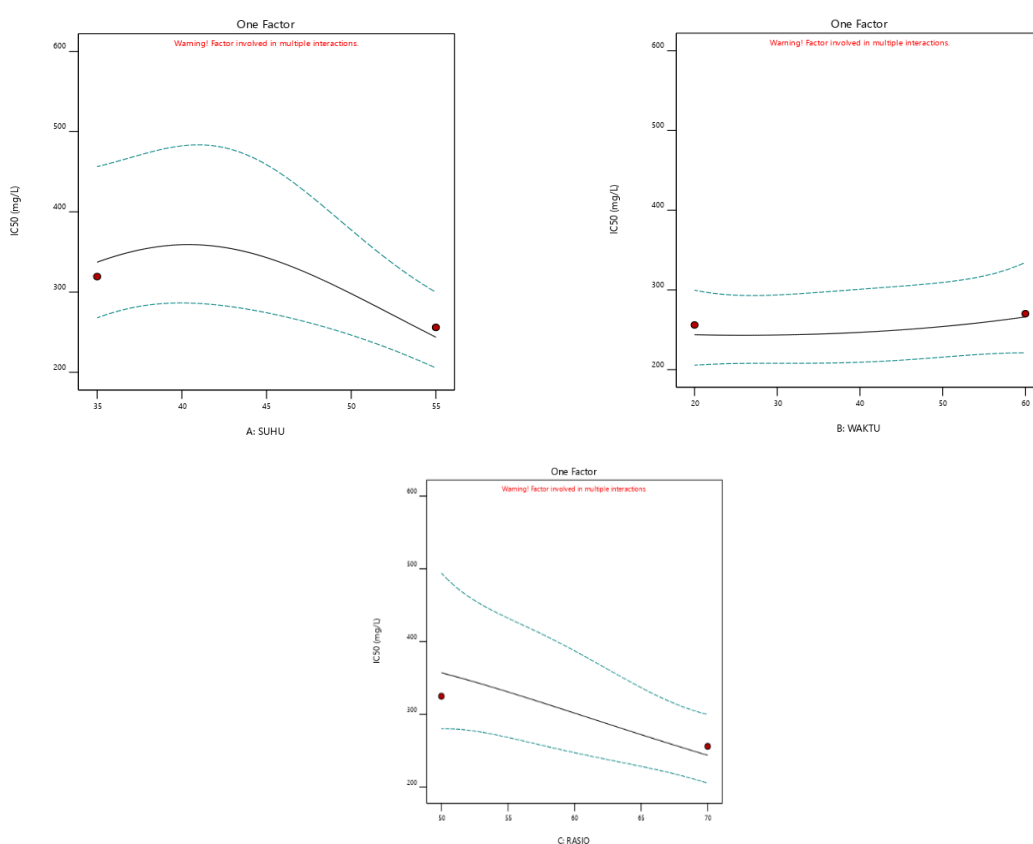
Model signifikan ditunjukkan oleh model *quadratic* sehingga model *quadratic* dipilih dalam analisa uji ANOVA. Hasil dari uji ANOVA menunjukkan signifikansi model dengan nilai P kurang dari 0,05. Nilai tersebut menyatakan bahwa model yang didapatkan signifikan (Rosalinda dkk., 2021). Nilai P *value* kurang dari 0,05 ditunjukkan oleh suhu dan rasio dari NADES, sehingga suhu dan rasio NADES merupakan variable yang berpengaruh terhadap respon. Sedangkan waktu ekstraksi menghasilkan nilai P *value* lebih besar dari 0,05, sehingga waktu tidak berpengaruh terhadap respon. Hasil *lack of fit* yang diperoleh yaitu tidak signifikan dengan nilai P *value* lebih dari 0,05 yaitu 0,4178. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat penyimpangan pada data sehingga adanya kecocokan antara data respon dengan model, dengan demikian analisis data dianggap valid. Nilai R² yang didapatkan pada analisa data uji ANOVA yaitu 0,7851. Nilai tersebut menyatakan bahwa suhu dan rasio nades pada proses ekstraksi memberikan pengaruh sebesar 78,51% terhadap respon, dan faktor lain yang tidak termasuk dalam model sebesar 21,49%. Sedangkan nilai R² *adequate precision* menunjukkan nilai yang baik sebesar 7,5437 atau lebih besar dari 4.

Persamaan matematis dari RSM pada proses optimasi ekstraksi terhadap respon aktivitas antioksidan :

$$\frac{1}{IC_{50}} = \frac{1}{0,019066 - 0,000603S + 0,000051W - 0,000200R - (7,75926E - 07)SW + (1,78337E - 06)SR + (1,05224E - 07)WR + (6,11232E - 06)S^2 - (3,03203E - 07)W^2 + (1,36933E - 06)R^2}$$

Persamaan diatas menggunakan transformasi invers. Transformasi invers digunakan untuk memodifikasi model pada analisis data eksperimental.

Sehingga didapatkan hasil analisis data yang lebih baik . Berdasarkan persamaan diatas nilai IC_{50} akan bermakna berbanding terbalik terhadap respon, dimana nilai positif akan menyatakan bahwa respon menurun berbanding terbalik dengan interaksi dengan rasio, interaksi dengan waktu dan interaksi dengan suhu. Sedangkan nilai negative akan menyatakan bahwa respon akan meningkat berbanding lurus dengan suhu, waktu dan rasio. Selanjutnya, interaksi antar faktor dengan grafik. Grafik interaksi antar variabel dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 10. Grafik Interaksi antar Variabel terhadap Respon IC_{50}

Hasil grafik interaksi antar variabel menunjukkan pada grafik A dengan suhu sebagai faktor menyatakan semakin tinggi suhu yang digunakan akan menghasilkan nilai IC_{50} yang semakin kecil hal tersebut digambarkan dengan turunya grafik pada suhu 50 °C. Pada grafik B dengan waktu sebagai faktor tidak terlihat hasil yang berbeda antara waktu 20 menit atau 55 menit pada grafik karena grafik yang terbentuk landai, hal tersebut menunjukkan bahwa waktu tidak

berpengaruh terhadap nilai IC_{50} . Selanjutnya pada grafik C dengan rasio sebagai faktor menunjukkan semakin sedikit air yang ditambahkan pada pelarut NADES maka semakin kecil nilai IC_{50} , hal tersebut digambarkan dengan grafik yang makin menurun pada penambahan air 30%.

Kondisi optimal pada proses ekstraksi telah diperoleh, maka tahap selanjutnya yaitu verifikasi. Tahap verifikasi menggunakan kombinasi terbaik dari NADES 1 dengan nilai IC_{50} terbaik yang dapat dilihat pada Tabel 13. Formula verifikasi yang sudah dirancang dengan *Design expert* 12 dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil Formula Verifikasi

Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rasio NADES (%)	IC_{50} (ppm)	Desirability
55	20	70	241,709	1.000

Hasil formulasi verifikasi menunjukkan kombinasi 3 variabel terbaik dengan nilai desirability yang tinggi mendekati atau sama dengan 1 yaitu suhu 55 °C dengan lama waktu ekstraksi 20 menit dan rasio NADES 70% akan menghasilkan nilai IC_{50} terbaik sebesar 241,709. Nilai desirability mendekati angka 1 atau sama dengan 1 menyatakan bahwa kombinasi variabel tersebut merupakan perlakuan yang paling baik yang akan menghasilkan respon 100% serta menunjukkan nilai dari target optimasi (Rosalinda dkk., 2021).

4.4.4.4. Hasil Verifikasi

Tahap verifikasi dilakukan untuk memberikan gambaran model persamaan kuadrat yang digunakan dengan ketepatan prediksi. Hasil dari prediksi tersebut memberikan gambaran adanya hubungan praduga yang tepat antar nilai prediksi dengan nilai verifikasi (Yeni dkk., 2014). Nilai IC_{50} yang dihasilkan jika ekstraksi dilakukan sesuai kombinasi variabel yang telah ditentukan dari nilai prediksi yaitu sebesar 241,709 ppm. Nilai IC_{50} hasil dari tahap verifikasi dengan ekstraksi yang dilakukan sesuai dengan kombinasi variabel pada sampel jahe merah yaitu menggunakan suhu 55 °C selama 20 menit dengan rasio NADES 70% dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil Verifikasi dengan Nilai IC₅₀

Verifikasi	IC ₅₀ (ppm)	Rerata	Keterangan
1	282.1801		
2	289.6786		
3	286.5629	282.0897 ± 5,1329	Lemah
4	278.9420		
5	278.9420		
6	276.2324		

Tabel 16. Hasil Prediksi vs Hasil Sebenarnya

IC ₅₀ (ppm)	Predicted Mean	Predicted Median	Std Dev	95% CI low for Mean	95% CI high for Mean
	243,775	241,709	22,5321	205,292	299,797

Hasil verifikasi aktivitas antioksidan menggunakan nilai IC₅₀ dengan 6 kali ulangan yang didapatkan masuk kedalam rentang 95% *confidence interval*. Nilai yang masuk dalam rentang 95% *confidence interval* menggambarkan bahwa ekstrak jahe merah memiliki aktivitas antioksidan yang berada pada rentang tersebut dalam selang kepercayaan 95%. Hasil verifikasi sebenarnya masih didalam rentang prediksi sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi perlakuan ekstraksi yang di rancang oleh RSM menghasilkan nilai yang baik (Fauzi dkk., 2022). Hasil aktivitas antioksidan dari verifikasi dengan nilai IC₅₀ sebesar 282,0897 ppm dengan kategori lemah. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Sarastri dkk (2023) ekstraksi jahe putih dengan metode ekstraksi UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*) menggunakan pelarut etanol menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 51,463 ppm dengan kategori kuat.

Perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan karena perbedaan jenis ekstrak yang dihasilkan. Pada penelitian ini ekstrak yang dibuat yaitu ekstrak cair, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Sarastri dkk., 2023) ekstrak yang dihasilkan yaitu ekstrak kental. Sehingga ekstrak cair yang dihasilkan pada penelitian ini terdiri dari campuran komponen yang ada pada pelarut dan senyawa

didalam jahe merah (Sami & Rahimah, 2015). Selain itu gugus Cl⁻ yang terdapat pada sturuktur betain hidroklorida dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Gugus -OH dalam flavonoid yang terkandung dalam jahe merah yang bereaksi dengan gugus Cl⁻ pada betain hidroklorida dapan menurunkan aktivitas antioksidan (Septiani dkk., 2020). Lemahnya aktivitas antioksidan pada kelompok kontrol yang dihasilkan dapat terjadi karena bentuk flavonoid yang ada dalam sampel merupakan flavonoid terglisosida dalam jahe merah. Glikosida yang terdapat pada senyawa flavonoid dalam sampel dapat menyebabkan turunya aktivitas antioksidan (Sami dkk., 2019)

Waktu inkubasi juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES dimana pada penelitian yang dilakukan oleh Tzani *et al* pada tahun 2021 aktivitas antioksidan ekstrak jahe putih menunjukkan adanya perbedaan nilai IC₅₀ antara 15 menit dengan nilai IC₅₀ 120 menit. Nilai IC₅₀ pada waktu 15 menit senilai 69,07 ppm sedangkan nilai IC₅₀ pada waktu 120 menit senilai 18,16 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya waktu yang dibutuhkan senyawa yang terkandung di dalam jahe untuk bereaksi dengan radikal bebas menghasilkan senyawa radikal yang lebih stabil.

Dari hasil verifikasi yang telah dilakukan variabel suhu, waktu dan rasio NADES mempunyai pengaruh terhadap respon yaitu aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀. Suhu dan waktu mempunyai pengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Hal tersebut terjadi karena semakin tinggi suhu yang digunakan dan semakin lama ekstraksi yang dilakukan akan terjadi reaksi dekomposisi senyawa yang terdapat pada sampel sehingga aktivitas antioksidan menurun (Fauzi dkk., 2022). Selain itu getaran yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik pada metode UAE akan memberikan pengadukan yang intensif serta akan menaikkan suhu , sebanding dengan lama waktu ekstraksi, karena paparan gelombang ultrasonik yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan (D. K. Sari dkk., 2012). Rasio NADES yang dipilih yaitu 70% dipilih karena banyaknya air yang ditambahkan pada nades akan menurunkan viskositas, menaikkan polaritas dari pelarut serta memperkuat ikatan hidrogen antara HBA dan

HBD, tetapi penambahan air yang berlebihan dapat menyebabkan rusaknya ikatan hidrogen antara HBA dan HBD (Altunay *et al.*, 2019).

4.5. Hasil Uji Fitokimia

Metabolit sekunder yang ada pada ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES yang sudah dioptimasi diidentifikasi dengan uji fitokimia. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak jahe merah dengan pelarut NADES yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid melalui uji fitokimia. Hasil fitokimia tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Srikandi dkk., (2020) bahwa ekstrak jahe merah mengandung senyawa metabolit sekunder yang sedikit berbeda yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan terpenoid. Perbedaan tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi senyawa yang terlalu sedikit didalam sampel. Selain itu ukuran partikel pada sampel, waktu dan jenis pelarut dapat menyebabkan perbedaan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan (Akasia dkk., 2021). Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil Uji Fitokimia

Uji	Pereaksi	Hasil Positif	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih atau Kuning	+
	Bouchardat	Endapan Coklat atau Hitam	+
Flavonoid	Serbuk Mg + Hcl	Merah atau Jingga	+
Saponin	Air Panas + Hcl	Terbentuknya Buih	+
Terpenoid	Liebermen Burchard	Cincin Merah	+
Steroid		Cincin Biru Kehijauan	-

Hasil skrining fitokimia yang didapatkan yaitu positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Suatu sample dinyatakan mengandung alkaloid jika pada proses pengujianya menghasilkan 2 hasil yang positif pada reaksi pengendapan dari uji alkaloid (Srikandi dkk., 2020). Hasil pengujian alkaloid menunjukkan adanya endapan putih atau kuning dengan pereaksi mayer. Hal

tersebut disebabkan adanya ikatan kalium dan alkaloid membentuk endapan kalium-alkaloid, dimana nitrogen pada alkaloid akan membentuk reaksi dengan kalium tetraiodomercurat yang mengandung ion logam K^+ (Forestryana & Arnida, 2020). Hasil pengujian alkaloid lainnya yaitu dengan pereaksi dragendroff yang menunjukkan hasil yang positif karena adanya endapan hitam, Hal tersebut disebabkan karena adanya pencegahan reaksi hidrolisis pada bismuth nitrat yang ditambahkan dengan HCl. Kalium iodide akan bereaksi dengan ion Bi^{3+} menghasilkan senyawa kalium tetraiodobismutat lalu senyawa tersebut membentuk reaksi dengan alkaloid menghasilkan endapan hitam kalium-alkaloid (Iskandar, 2020).

Hasil pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna menjadi jingga. Hal tersebut disebabkan oleh reaksi antara logam Mg dan HCl pekat membentuk garam favilium (Purbaya dkk., 2018). Hasil pengujian saponin menyatakan hasil yang positif dengan timbulnya busa dengan air, hal tersebut disebabkan adanya glikosida yang terkandung dalam saponin. Glikosida tersebut akan terhidrolisis menjadi glukosa atau senyawa lainya (Kumalasari & Andiarna, 2020). Uji kestabilan busa dilakukan dengan penambahan senyawa HCl. Larutnya saponin didalam air disebabkan adanya gugus hidrofil yang membentuk ikatan hidrogen dengan air (Iskandar, 2020). Hasil pengujian steroid dan terpenoid menunjukkan hasil positif pada pengujian terpenoid dan hasil yang negative pada steroid. Hasil positif pada terpenoid ditunjukkan dengan adanya cincin merah pada antara permukaan. Aroma khas pada jahe merah disebabkan karna adanya senyawa terpenoid didalam jahe merah (Srikandi dkk., 2020).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan :

1. Aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} 289,0901 ditunjukkan oleh ekstrak jahe merah menggunakan pelarut NADES 1 yaitu kombinasi Betain Hidroklorida dan Asam Sitrat dengan kategori Lemah.
2. Kondisi optimum ekstraksi UAE terhadap suhu, waktu dan rasio NADES yang didapatkan yaitu dengan kombinasi variabel suhu 55 °C selama 20 menit dengan rasio NADES 70% menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 255,9980 ppm.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, maka peneliti menyarankan :

1. Mengganti pelarut NADES dengan kombinasi HBA (*Hydrogen Bond Acceptors*) atau HBD (*Hydrogen Bond Donors*) lain yang mampu menarik senyawa antioksidan yang ada didalam jahe merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Yusniah, A., Nur, Y., Prabowo, W. C., & Herman. (2020). Pengayaan Polifenol Total dari Daun Kadamba Menggunakan Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Berbasis Pelarut Hijau. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(2), 338–346.
- Aisha, F., Zahrina, I., & Sunarno. (2023). Glycerolysis of stearic acid using green catalyst. *Materials Today: Proceedings*, 1(1), 1–8.
- Akasia, A. I., Putra, I. D. N. N., & Putra, I. N. G. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16–22.
- Altunay, N., Elik, A., & Gürkan, R. (2019). Natural deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted-microextraction for extraction, pre-concentration and analysis of methylmercury and total mercury in fish and environmental waters by spectrophotometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(7), 1079–1097.
- Anam, C. (2010). Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu. *Jurnal Pertanian MAPETA*, 12(2), 101–110.
- Ananingsih, V. K., Budianto, V., & Soedarini, B. (2020). Optimasi Suhu, Waktu, Dan Rasio Bahan Pada Ultrasound Assisted Extraction Butter Biji Pala (*Myristica fragrans*). *Jurnal Teknologi Pangan Dan Giz*, 19(2), 126–134.
- Andriani, M., Permana, I. D. G. M., & Rai, W. W. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330–340.
- Athailah, & Lianda, S. O. (2021). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Balsem Stik dari Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc) sebagai Pereda Nyeri Otot dan Sendi. *Journal of Pharmaceutical and Sciences (JPS)*, 4(1), 34–40.
- Azharini, R., Widyasanti, A., & Nurhasanah, S. (2022). Optimasi Proses Ekstraksi

- Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Berbantu Gelombang Mikro Menggunakan Aplikasi Response Surface Methodology. *Jurusan Teknologi Hasil Pertanian*, 14(1), 88–96.
- Cahyanto, H. A. (2021). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Rosch . Var Rubrum) dari Lahan Gambut Kubu Raya , Kalimantan Barat. *Jurnal Borneo Akcaya*, 7(2), 49–55.
- Dai, Y., Spronsen, J. Van, & Witkamp, G. (2013). Analytica Chimica Acta Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61–68.
- Daud, M. F., Sadiyah, E. R., & Rismawati, E. (2011). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L .) Berdaging Buah Putih. *Prosiding SNaPP: Sains, Teknologi*, 2(1), 55–62.
- Day, C. R., & Kempson, S. A. (2016). Betaine Chemistry, Roles, and Potential Use In Liver Disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1860(6), 1098–1106.
- Deora, N. S., Misra, N. N., Deswal, A., Mishra, H. N., Cullen, P. J., & Tiwari, B. K. (2013). Ultrasound for Improved Crystallisation in Food Processing. *Food Engineering Reviews*, 5(1), 36–44.
- Dewi, A. O. T., & Avif, A. N. (2023). Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 132–139.
- Dewi, F., & Afrioza, S. (2022). Pengaruh Air Rebusan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) Terhadap Kadar Gula Darah Pasien Diabetes Melitus Di Desa Mekarjaya. *Nusantara Hasana Journal*, 2(4), 148–155.
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav .). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 4(1), 1210–1218.
- Duan, L., Dou, L. L., Guo, L., Li, P., & Liu, E. H. (2016). Comprehensive Evaluation of Deep Eutectic Solvents in Extraction of Bioactive Natural Products. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(4), 2405–2411.

- Ermawati, D., Prihastanti, E., & Hastuti, E. D. (2021). Pengaruh Arah dan Tebal Irisan Rimpang Terhadap Rendemen Flavonoid , Berat Kering dan Performa Simplisia Umbi Garut (*Maranta arundinacea* L .) Setelah Pengeringan. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 6(2), 131–137.
- Farrel, R., Aulawi, T., & Darmawi, A. (2020). Analisis Mutu Simplisia Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dengan Suhu Pengeringan yang Berbeda. *Jurnal Pertanian Tropik*, 7(1), 136–143.
- Fauzi, M. N., & Santoso, J. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.)Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1–8.
- Fauzi, R. A., Widyasanti, A., Dwiratna, S., Perwitasari, N., & Nurhasanah, S. (2022). Optimasi Proses Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Menggunakan Metode Respon Permukaan. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 23(1), 9–22.
- Forestryana, D., & Arnida. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L .). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113–124.
- Gomes, G. R., & Pastre, J. C. (2020). Microwave-assisted HMF production from water-soluble sugars using betaine-based natural deep eutectic solvents (NADES). *Sustainable Energy and Fuels*, 4(4), 1891–1898.
- Handayani, F., Apriliana, A., & Natalia, H. (2019). karakterisasi dan skrining fitokimia simplisia daun selutu puku (*Tabernaemontana macracarpa* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 49–58.
- Handayani, H., Achmad, H., Suci, A. D., Firman, M., Mappangara, S., Rahmadhany, S., Pratiwi, R., & Wulansari, D. P. (2018). Analysis of Antibacterial Effectiveness of Red Ginger Extract (*Zingiber Officinale* Var Rubrum) Compared to White Ginger Extract (*Zingiber Officinale* Var. Amarum) In Mouth Cavity Bacterial Streptococcus Mutans (In-Vitro). *Journal of International Dental and Medical Research*, 11(3), 1636–1639.
- Handito, D., Basuki, E., Saloko, S., Dwikasari, L. G., & Triani, E. (2022). Analisis Komposisi Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Antioksidan Alami Pada

- Produk Pangan. *Prosiding SAINTEK*, 4(1), 64–70.
- Handoyo, Di. L. Y., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) The Effect Of Drying Temperature Variation On The Simplicia Of Mimba Leaf (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54.
- Hao, C., Chen, L., Dong, H., Xing, W., Xue, F., & Cheng, Y. (2020). Extraction of flavonoids from scutellariae radix using ultrasound-assisted deep eutectic solvents and evaluation of their anti-inflammatory activities. *ACS Omega*, 5(36), 23140–23147.
- Hapsoh, Hasanah, Y., & Julianti, E. (2010). Budidaya dan Teknologi Pasca Panen Jahe. In *USU Press medan* (Vol. 3).
- Hardjono, H., Lusiani, C. E., Wibowo, A. A., & Iswara, M. A. I. (2020). Aplikasi Response Surface Methodology pada Optimasi Penambahan Blast Furnace Slag Terhadap Waktu Pengikatan dan Kuat Tekan Semen. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 4(1), 61–67.
- Hasanah, N., & Fatmawati, S. (2022). Metabolit Sekunder, Metode Ekstraksi, Dan Bioaktivitasnya Cabai (*Capsicum*). *Akta Kimia Indonesia*, 7(1), 14–61.
- Herawati, I. E., & Saptarini, N. M. (2020). Studi Fitokimia pada Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe Var. Sunti Val). *Majalah Farmasetika.*, 4(1), 22–27.
- Huang, J., Guo, X., Xu, T., Fan, L., Zhou, X., & Wu, S. (2019). Ionic deep eutectic solvents for the extraction and separation of natural products & Journal of Chromatography A, 1598(1), 1–19.
- Isa, N., Seng, Noor-Soffalina SofianMustapha, W. A. W., Markom, M., & Azhari, N. A. M. A. (2022). Pengoptimuman Pengekstrakan Lemak Biji Mangga (*Mangifera indica* L.) Jeruk menggunakan Kaedah Respons Permukaan dan Analisis Lipid. *Sains Malaysiana*, 51(8), 2713–2724.
- Iskandar, D. (2020). Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun Uncaria Tomentosa Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan Teh. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 12(2), 153–158.
- Kariem, V. El, & Maesaroh, I. (2022). Standarisasi Mutu Simplisia Jahe (*Zingiber*

- Officinale* Roscoe) Dengan Pengeringan Sinar Matahari Dan Oven. *Herbapharma : Journal of Herb Farmacological*, 4(1), 1–10.
- Kent, A., Rahmadani, A., & Rusli, R. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari Rimpang Jahe Balikpapan (*Etilengera Balikpapanensis*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 4(1), 15–20.
- Khaldun, I. (2018). *Kimia Analisa Instrumen* (1st ed.). Syiah Kuala University Press Darussalam.
- Kresnawaty, I., & Zainuddin, A. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Antiobakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 15(4), 145.
- Krisanti, E. A., Saputra, K., Arif, M. M., & Mulia, K. (2019). Formulation and Characterization of Betaine-Based Deep Eutectic Solvent for Extraction Phenolic Compound from Spent Coffee Grounds. *AIP Conference Proceedings*, 2175(1), 1–9.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39–44.
- Mahmudati, N., Wahyono, P., & Djunaedi, D. (2020). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Three Varieties of Ginger (*Zingiber officinale*) in Decoction and Infusion Extraction Method. *Journal of Physics: Conference Series*, 1567(1), 1–6.
- Maimulyanti, A., Nurhidayati, I., Mellisani, B., Amelia Rachmawati Putri, F., Puspita, F., & Restu Prihadi, A. (2023). Development of natural deep eutectic solvent (NADES) based on choline chloride as a green solvent to extract phenolic compound from coffee husk waste. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(4), 104634.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(47), 1–19.
- Mišan, A., Nađpal, J., Stupar, A., Pojić, M., Mandić, A., Verpoorte, R., & Choi, Y.

- H. (2020). The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2564–2592.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Munadi, R. (2020). Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc . Var rubrum). *Analisis Komponen Kimia Dan Uji Antioksidan Ekstrak Rimpang Merah (Zingiber Offinale Rosc.Var Rubrum)*, 2(1), 1–6.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(7), 1–30.
- Murphy, A., Norton, E., Montgomery, F., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2020). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from ginger (*Zingiber officinale*) and evaluation of its antioxidant and antimicrobial properties. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 6(2), 88–96.
- Nastiti, K., Noval, N., & Kurniawati, D. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Infusa Daun Sirih (*Piper betle* L), Ekstrak Etanolik Tanaman Bundung (*Actinuscirpus grossus*) dan Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 115–122.
- Nasution, A. Y., Mardhiyani, D., Putriani, K., Ananda, D., & Saputro, V. (2019). Perbandingan Kadar Vitamin C Pada Nanas Segar dan Keripik Nanas Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 3(1), 15–20.
- Noer, Z., & Ritonga, S. I. (2021). *Alat-Alat Laboratorium Tingkat Universitas Kategori II*. Guepedia.
- Noviyanti, F. (2020). *Penetapan Kadar Ketoprofen dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. CV. Media Sains Indonesia.
- Nur, Y., Cahyatomo, A., Nanda, & Fistoro, N. (2020). Profil GC-MS Senyawa Metabolit Sekunder dari Jahe Merah (*Zingiber officinale*) dengan Metode Ekstraksi Etil Asetat, Etanol dan Destilasi Yuspian. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(3), 198–204.

- Nurhayati, A. P. D., Ersandy, A. R. D., Saa'dah, N. N., Setiawan, E., Ashari, N. M., Indiani, A. M., Wahyudi, A., Rintaningrum, R., & Wayan, N. (2022). Diversifikasi Produk Herbal Serbuk Instan Jahe Merah dalam Upaya Peningkatan Produktivitas Masyarakat Desa Oro-Oro Ombo , Kota Batu. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 6(4), 397–404.
- Oboh, G., Akinyemi, A. J., & Ademiluyi, A. O. (2012). Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. Rubra) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(1), 31–36.
- Oktaviyanti, N. D., Kartini, & Mun'im, A. (2019). Application and optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvent for the extraction of new skin-lightening cosmetic materials from *Ixora javanica* flower. *Heliyon*, 5(1), 1–8.
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R. L., & Duarte, A. R. C. (2014). Natural deep eutectic solvents - Solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2(5), 1063–1071.
- Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G. G., & McHugh, T. H. (2012). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(2), 365–372.
- Pratami, D. K., Eksadita, N. E., Sahlan, M., Im, A. M., Bayu, A., & Mahira, K. F. (2023). Comparison of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Indonesian Propolis Extracted with Various Solvents (Perbandingan Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Propolis Indonesia yang Diekstraksi dengan Berbagai Pelarut). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 21(1), 121–129.
- Purbaya, S., Aisyah, L. S., Jasmansyah, J., & Arianti, W. E. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. sunti) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kartika Kimia*, 1(1), 29–34.
- Purwoko, M. L. Y., Syamsudin, & Simanjutak, P. (2020). Standardisasi Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Asal Kabupaten Blora. *Sainstech Farma Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13(2), 124–129.

- Qin, H., Hu, X., Wang, J., Cheng, H., Chen, L., & Qi, Z. (2020). Overview of acidic deep eutectic solvents on synthesis, properties and applications. *Green Energy and Environment*, 5(1), 8–21.
- Qodriah, R., Simanjuntak, P., & Putri, D. A. E. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* L.) varietas Iraqi Menggunakan Metode Ekstraksi Sonikasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 14(2), 114–120.
- RI, D. K. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II* (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (ed.)).
- Rizki, I. F. (2021). Pengembangan Metode Ekstraksi Fitonutrien Crude Palm Oil (CPO) Ramah Lingkungan Untuk Industri Pangan dan Farmasi. *Warta Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 26(3), 132–141.
- Rosalinda, S., Aulia, H. A., Widyasanti, A., & Mardawati, E. (2021). Optimasi Kondisi Ekstraksi Ultrasonikasi Pada Vitamin C Buah Delima (*Punica granatum* L.) Menggunakan Respon Permukaan. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian Dan Biosistem*, 9(2), 143–158.
- Rukhayyah, K. K., Kawareng, T. A., & Sastyarina, Y. (2022). Studi Literatur: Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) Menggunakan Metode 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 15(1), 242–245.
- Rustiah, W., & Umriani, N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Kawista (*Limonia Acidissima*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Indo. J. Chem. Res.*, 6(1), 22–25.
- Sa'diah, S., Anwar, E., Jufri, M., & Cahyaningsih, U. (2019). Perbandingan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Roscoe. Var. Rubrum), Gingerol dan Shogaol sebagai Anti-Toksoplasma terhadap Parasit Toxoplasma Gondii Secara In-Vitro. *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(3), 93–102.
- Safruddin, Nuranisa, Hassanudin, A. R. P., Asri, & Salnus, S. (2022). Comparison of the Effectiveness of Red Ginger Extract with Emprit Ginger against the Growth of Staphylococcus Aureus Bacteria Abstract : *South Asian Research Journal of Nursing and Healthcare*, 4(6), 84–88.
- Sami, F. J., & Rahimah, S. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol

- Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L . var . Italica) Dengan Metode (2 , 2 azinobis (3-etilbenzotiazolin) -6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107–110.
- Sami, F. J., Soekamto, N. H., Firdaus, F., & Latip, J. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Alga Coklat *Sargassum Polycystum* Dan *Turbinaria Deccurens* Asal Pulau Dutungan Sulawesi Selatan Terhadap Radikal DPPH. *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 1–6.
- Sandrasari, D. A., Sabariman, M., & Azni, I. N. (2019). Determination of potential level of Indonesian rhizomes as an antioxidant based on phenolic compound and antioxidant activity Determination of potential level of Indonesian rhizomes as an antioxidant based on phenolic compound and antioxidant activity. *IOP Conf*, 383(1), 1–7.
- Saptiwi, B., Sunarjo, L., & Rahmawati, H. (2018). Perasan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*. *Jurnal Riset Kesehatan*, 7(2), 61–65.
- Sarastri, D., Rohana, E., & Saraswati, I. (2023). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystric* Dc.). *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 3(1), 45–54.
- Sari, D. K., Wardhani, D. H., & Prasetyaningrum, A. (2011). Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Prosiding SNST Fakultas Teknik*, 1(1), 40–44.
- Sari, D. K., Wardhani, D. H., & Prasetyaningrum, A. (2012). Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus Alvarezzi* Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Prosiding Seminar Sains Nasional Dan Teknologi*, 1(1), 40–44.
- Sari, D., & Nasuha, A. (2021). Kandungan Zat Gizi , Fitokimia , dan Aktivitas Farmakologis. *Journal of Biological Science*, 1(2), 11–18.
- Savi, L. K., Dias, M. C. G. C., Carpine, D., Waszczynskyj, N., Ribani, R. H., & Haminiuk, C. W. I. (2019). Natural deep eutectic solvents (NADES) based on citric acid and sucrose as a potential green technology: a comprehensive study

- of water inclusion and its effect on thermal, physical and rheological properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(3), 898–907.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua *Mangrove Sonneratia alba* (The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15.
- Septiani, Fatimah-muis, S., & Anjani, G. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Kadar Aloin Pada Lidah Buaya (*Aloe Vera Chinensis*). *Jurnal Medika Indonesia*, 1(2), 17–24.
- Sholihah, M., Ahmad, U., & Budiastara, I. W. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 5(2), 161–168.
- Skarpalezos, D., Detsi, A., & Des, D. E. S. (2019). Deep Eutectic Solvents as Extraction Media for Valuable Flavonoids from Natural Sources. *Applied Sciences*, 9(19), 1–23.
- Srikandi, S., Humaeroh, M., & Sutamihardja, R. (2020). Kandungan Gingerol Dan Shogaol Dari Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Roscoe) Dengan Metode Maserasi Bertingkat. *Al-Kimiya*, 7(2), 75–81.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. AURA CV. Anugrah Utama Raharja.
- 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.
- Susanti, T. M. I., & Panunggal, B. (2015). Analisis Antioksidan, Total Fenol Dan Kadar Kolesterol Pada Kuning Telur Asin Dengan Penambahan Ekstrak Jahe. *Journal of Nutrition College*, 4(2), 636–644.
- Susanto, A., Ratnaningtyas, I., & Ekowati, N. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tubuh Buah Jamur Paha Ayam (*Coprinus comatus*) dengan Pelarut

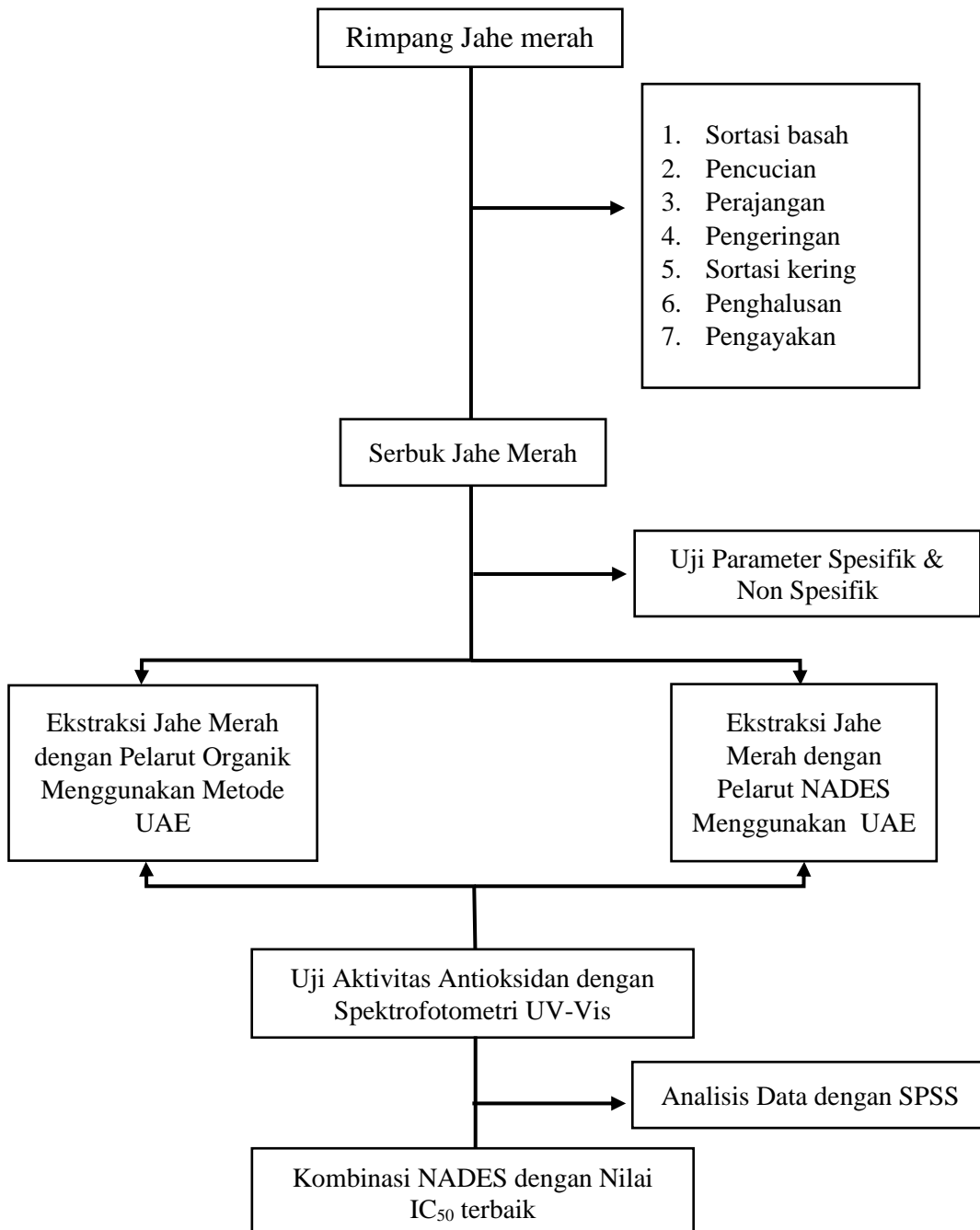
- Berbeda. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 35(2), 63–68.
- Syarifah, A. N., Suryadi, H., Hayun, H., Simamora, A., & Mun'im, A. (2023). Detoxification of comfrey (*Symphytum officinale* L.) extract using natural deep eutectic solvent (NADES) and evaluation of its anti-inflammatory, antioxidant, and hepatoprotective properties. *Frontiers in Pharmacology*, 1(1), 1–13.
- Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 706–715.
- Teslić, N., Santos, F., Oliveira, F., Stupar, A., Pojić, M., Mandić, A., Pavlić, B., Kljakić, A. C., Duarte, A. R. C., & Paiva, A. (2022). Simultaneous Hydrolysis of Ellagitannins and Extraction of Ellagic Acid from Defatted Raspberry Seeds Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). *Antioxidants*, 11(2), 254.
- Tri, R., Yasni, S., Muhandri, T., & Yuliani, S. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kualitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Jurnal Unitek*, 15(2), 198–211.
- Tung, B. T., Thu, D. K., Thu, N. T. K., & Hai, N. T. (2017). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of ginger root (*Zingiber officinale* Roscoe) extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(4), 1–7.
- Tzani, A., Kalafateli, S., Tatsis, G., Rozaria, A., Pontillo, N., Detsi, A., Bairaktari, M., & Kostopoulou, I. (2021). Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as Alternative Green Extraction Media for Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Sustainable Chemistry*, 2(4), 576–598.
- Utami, N. F., Nhestricia, N., Maryanti, S., Tisya, T., & Maysaroh, S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* P.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi Di Pulau Jawa. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 67–72.
- Waszczyński, N., Kamradt, L., Carpin, D., Ribani, R. H., Windson, C., & Haminiuk, I. (2019). Influence of temperature , water content and type of organic acid on the formation , stability and properties of functional natural

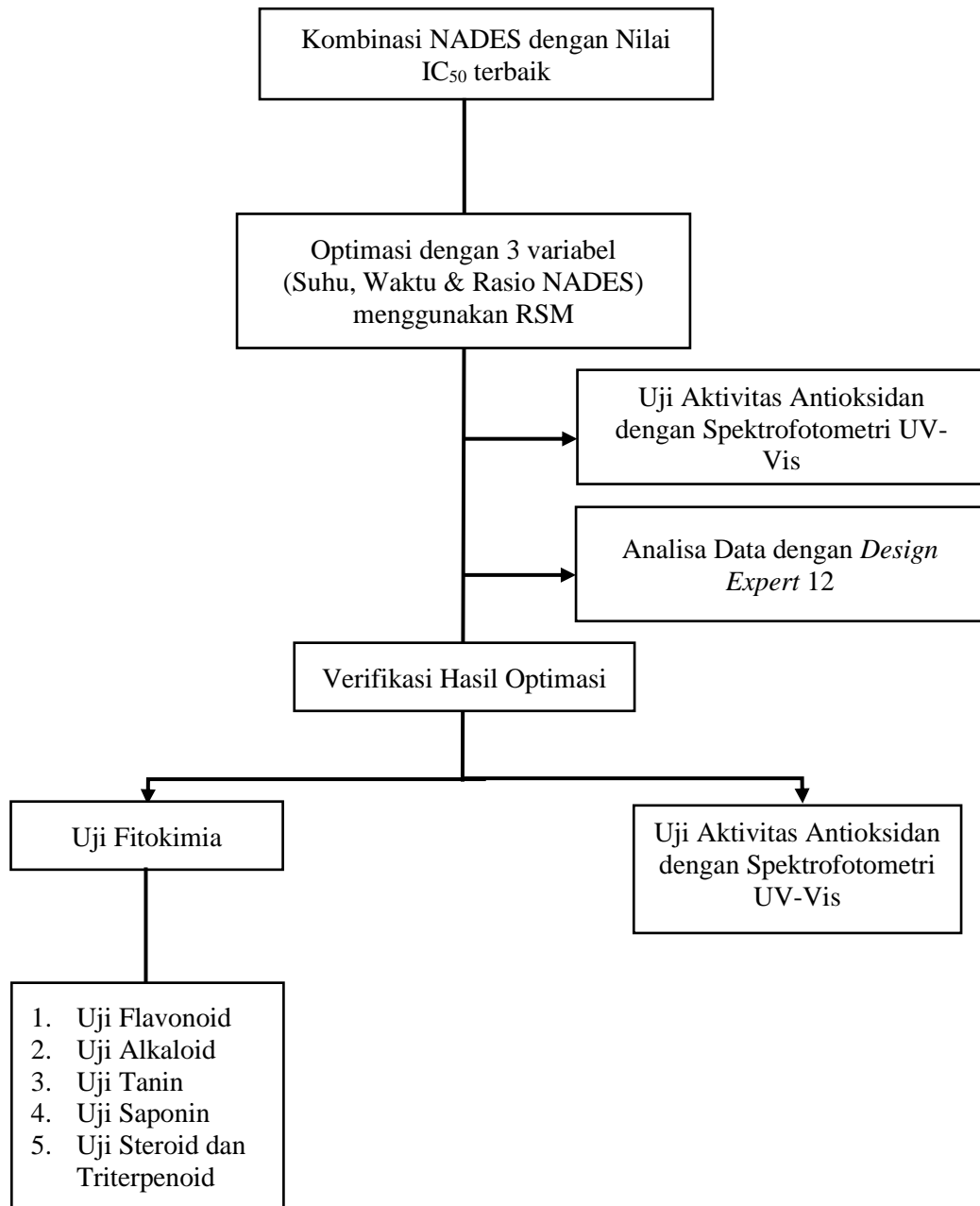
- deep eutectic solvents. *Fluid Phase Equilibria*, 488(1), 40–47.
- Wicaksono, G. S., & Zubaidah, E. (2015). Pengaruh Karagenan Dan Lama Perebusan Daun Sirsak Terhadap Mutu Dan Karakteristik Jelly Drink Daun Sirsak. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(1), 281–291.
- Widiastuti, D., & Pramestuti, N. (2018). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Kesehatan*, 5(2), 43–49.
- Wiendarlina, I. Y., & Sukaesih, R. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) Dalam Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih Dan Korelasinya Dengan Kadar Fenol Dan Vitamin C. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(1), 315–324.
- Winahyu, D. A., Retnaningsih, A., & Aprillia, M. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid pada Kulit Batang Kayu Raru (*Cotylelobiummelanoxylopn*) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Analisis Farmasi*, 4(1), 29–36.
- Wonoharadjo, S. (2020). *Pengantar Kimia Analitik Modern*. Andi.
- Wulan, Yudistira, A., & Rotinsulu, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun *Mimosa pudica* Linn. Menggunakan Metode DPPH. *Pharmacon*, 8(1), 106.
- Xia, G. H., Li, X. H., & Jiang, Y. hang. (2021). Deep eutectic solvents as green media for flavonoids extraction from the rhizomes of *Polygonatum odoratum*. *Alexandria Engineering Journal*, 60(2), 1991–2000.
- Yang, J. J., & Rahmawati, F. (2022). Antimicrobial effects of various red ginger (*Zingiber officinale*) extract concentrations on *Escherichia coli* bacteria. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 10(2), 63–67.
- Yeni, G., Sa'id, E. G., Syamsu, K., & Mardliyati, E. (2014). Penentuan kondisi terbaik ekstraksi antioksidan dari gambir menggunakan metode permukaan respon. *Jurnal Litbang Industri*, 4(1), 39–48.
- Zhang, M., Viennois, E., Prasad, M., Zhang, Y., Wang, L., Zhang, Z., Han, M. K., Xiao, B., Xu, C., Srinivasan, S., & Merlin, D. (2016). Edible ginger-derived

- nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Biomaterials*, *101*(1), 321–340.
- Zhang, S., Kou, X., Zhao, H., Mak, K. K., Balijepalli, M. K., & Pichika, M. R. (2022). *Zingiber officinale* var. rubrum: Red Ginger's Medicinal Uses. *Molecules*, *27*(3), 1–31.
- Zia, S., Khan, M. R., Shabbir, M. A., Aslam Maan, A., Khan, M. K. I., Nadeem, M., Khalil, A. A., Din, A., & Aadil, R. M. (2020). An Inclusive Overview of Advanced Thermal and Nonthermal Extraction Techniques for Bioactive Compounds in Food and Food-related Matrices. *Food Reviews International*, *38*(6), 1166–1196.
- Zou, T. Bin, Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., & Li, H. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves using response surface methodology. *Molecules*, *19*(2), 1411–1421.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian





Lampiran 2. Hasil Pengujian Determinasi Rimpang Jahe Merah



BRIN
BADAN RISET
DAN INOVASI NASIONAL

DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA: +62811 1064 6760; Surel: dit-pki@brin.go.id

Laman: www.brin.go.id

Nomor : B-477/II.6.2/IR.01.02/3/2023
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

29 Maret 2023

Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Adinda Elsam N**
Universitas Pakuan

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Jahe Merah	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,
Badan Riset dan Inovasi Nasional

 TT ELEKTRONIK

Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSRF, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 3. Hasil Rendemen Serbuk

- Bobot Rimpang Jahe Merah Segar 1920 Gram
- Bobot Serbuk Jahe Merah 365 gram

$$\% \text{ Rendemen serbuk} = \frac{\text{Berat serbuk simplisia (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen serbuk} = \frac{1920 \text{ gram}}{394 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 19,01 \%$$

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Susut Pengerinan

Ulangan	Bobot Cawan Kosong (gr)	Bobot Awal Simplisia (gr)	Bobot Cawan & Sampel Sebelum Panas (gr)	Bobot Cawan & Sampel Sesudah Panas (gr)	Susut pengeringan (%)	Rata-Rata Susut Pengerinan (%)
I	53,4706	2,0025	55,4731	55,4228	6,2572	6,5080 ± 0,3546
				55,3528		
				55,3478		
II	46,8571	2,0063	48,8634	48,9278	6,7587	6,5080 ± 0,3546
				48,7328		
				48,7278		

Perhitungan :

- A1 : Bobot Cawan Kosong (gr)
- A2 : Bobot Cawan & Sampel Sebelum Panas (gr)
- A3 : Bobot Cawan & Sampel Sesudah Panas (gr)
- A4 : Bobot Awal Simplisia (gr)

$$\text{Susut Pengerinan (\%)} = \frac{(A2-A1)-(A3- A1)}{A4} \times 100\%$$

$$\text{Ulangan I (\%)} = \frac{(55,4731-53,4706)-(55,3478-53,4706)}{2,0025} \times 100\% = 6,2572\%$$

$$\text{Ulangan II (\%)} = \frac{(48,8634-46,8571)-(48,7278-46,8571)}{2,0063} \times 100\% = 6,7578\%$$

Lampiran 5. Hasil Perhitungan Kadar Abu

Ulangan	Bobot Kurs Kosong (gr)	Bobot Awal Simplisia (gr)	Bobot Kurs Isi (gr)	Kadar Abu (%)	Rata-Rata Kadar Abu (%)
I	37,0893	2,0079	37,2769	4,4624	4,5486 ± 0,1219
			37,1829		
			37,1789		
II	38,5356	2,0044	38,7185	4,6348	
			38,6335		
			38,6285		

Perhitungan :

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat kurs isi (g)} - \text{berat kurs kosong (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Ulangan I (\%)} = \frac{37,1789 - 37,0893}{2,0079} \times 100\% = 4,4624 \%$$

$$\text{Ulangan II (\%)} = \frac{38,5356 - 38,6285}{2,0044} \times 100\% = 4,6348 \%$$

Lampiran 6. Preparasi NADES

1. NADES 1

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Sitrat (1:1)

- Betain Hidroklorida (Mr = 153,61 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Sitrat (Mr = 192,12 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 192,12 \text{ g/mol} = 192,12 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 1 menjadi 0,04 : 0,04

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Sitrat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 192,12 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{192,12 \times 0,04}{1} = 7,68 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 1 (Betain Hidroklorida : Asam sitrat)

$$6,14 \text{ gram} + 7,68 \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{13,82}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 19,74 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 19,74 = 5,92 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 1

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Sitrat	= 7,68 gram
	Air	= 5,92 gram

2. NADES 2

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Tartrat (1:2)

- Betain Hidroklorida ($M_r = 153,61 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{M_r} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times M_r \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Tartrat ($M_r = 150,1 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{M_r} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times M_r \\ &= 1 \text{ Mol} \times 150,1 \text{ g/mol} = 150,1 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 2 menjadi 0,04 : 0,08

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Tartrat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 150,1 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{150,1 \times 0,08}{1} = 12,01 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 2 (Betain Hidroklorida : Asam Tartrat)

$$6,14 \text{ gram} + 12,01 \text{ gram} = 18,15 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 18,15 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{18,15}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 25,93 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 25,93 = 7,78 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 2

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Tartrat	= 12,01 gram
	Air	= 7,78 gram

3. NADES 3

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Malat (1:1)

- Betain Hidroklorida (Mr = 153,61 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Malat (Mr = 134 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 134 \text{ g/mol} = 134 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 1 menjadi 0,04 : 0,04

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Malat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 134 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{134 \times 0,04}{1} = 5,36 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 3 (Betain Hidroklorida : Asam Malat)

$$6,14 \text{ gram} + 5,36 \text{ gram} = 11,50 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 11,50 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{11,50}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 16,42 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 16,42 = 4,92 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 3

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Malat	= 5,36 gram
	Air	= 4,92 gram

4. NADES 4

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Laktat (1:2)

- Betain Hidroklorida (Mr = 153,61 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Laktat (Mr = 90,8 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 90,08 \text{ g/mol} = 90,08 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 2 menjadi 0,04 : 0,08

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Laktat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 90,08 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{90,08 \times 0,08}{1} = 7,21 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 4 (Betain Hidroklorida : Asam Laktat)

$$6,14 \text{ gram} + 7,21 \text{ gram} = 13,35 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 13,35 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{13,35}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 19,07 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 19,07 = 5,72 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 4

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Laktat	= 7,21 gram
	Air	= 5,72 gram

5. NADES 5

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Asetat (1:2)

- Betain Hidroklorida ($M_r = 153,61 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{M_r} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times M_r \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Asetat ($M_r = 60,05 \text{ g/mol}$)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{M_r} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times M_r \\ &= 1 \text{ Mol} \times 60,05 \text{ g/mol} = 60,05 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 2 menjadi 0,04 : 0,08

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Asetat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 60,05 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{60,05 \times 0,08}{1} = 4,80 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 5 (Betain Hidroklorida: Asam Asetat)

$$6,14 \text{ gram} + 4,80 \text{ gram} = 10,94 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 10,94 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{10,94}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 15,63 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 15,63 = 4,69 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 5

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Asetat	= 4,80 gram
	Air	= 4,69 gram

Lampiran 7. Skrining NADES

1. NADES 1

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Sitrat (1:1)

- Betain Hidroklorida (Mr = 153,61 g/mol)

$$\text{Mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$$

$$\text{Gram} = \text{Mol} \times \text{Mr}$$

$$= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram}$$

- Asam Sitrat (Mr = 192,12 g/mol)

$$\text{Mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$$

$$\text{Gram} = \text{Mol} \times \text{Mr}$$

$$= 1 \text{ Mol} \times 192,12 \text{ g/mol} = 192,12 \text{ gram}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 1 menjadi 0,04 : 0,04

- Betain Hidroklorida

$$1 \text{ Mol} = 153,61 \text{ gram}$$

$$0,04 \text{ Mol} = X$$

$$X = \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram}$$

- Asam Sitrat

$$1 \text{ Mol} = 192,12 \text{ gram}$$

$$0,04 \text{ Mol} = X$$

$$X = \frac{192,12 \times 0,04}{1} = 7,68 \text{ gram}$$

- Kombinasi NADES 1 (Betain Hidroklorida : Asam sitrat)

$$6,14 \text{ gram} + 7,68 \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\text{NADES} = \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

$$\alpha \text{ gram} = \frac{13,82}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 19,74 \text{ gram}$$

- Air

$$\text{Air} = \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram}$$

$$= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 19,74 = 5,92 \text{ gram}$$

- NADES 1

$$\text{Kombinasi : Betain Hidroklorida} = 6,14 \text{ gram}$$

$$\text{Asam Sitrat} = 7,68 \text{ gram}$$

$$\text{Air} = 5,92 \text{ gram}$$

2. NADES 2

Rasio Betain Hidroklorida : Asam Tartrat (1:2)

- Betain Hidroklorida (Mr = 153,61 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 153,61 \text{ g/mol} = 153,61 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Tartrat (Mr = 150,1 g/mol)

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \\ \text{Gram} &= \text{Mol} \times \text{Mr} \\ &= 1 \text{ Mol} \times 150,1 \text{ g/mol} = 150,1 \text{ gram} \end{aligned}$$

Penyederhanaan Rasio NADES 1 : 2 menjadi 0,04 : 0,08

- Betain Hidroklorida

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 153,61 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{153,61 \times 0,04}{1} = 6,14 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Asam Tartrat

$$\begin{aligned} 1 \text{ Mol} &= 150,1 \text{ gram} \\ 0,04 \text{ Mol} &= X \\ X &= \frac{150,1 \times 0,08}{1} = 12,01 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Kombinasi NADES 2 (Betain Hidroklorida : Asam Tartrat)

$$6,14 \text{ gram} + 12,01 \text{ gram} = 18,15 \text{ gram}$$

Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\begin{aligned} \text{NADES} &= \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 18,15 \text{ gram} \\ \alpha \text{ gram} &= \frac{18,15}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 25,93 \text{ gram} \end{aligned}$$
- Air

$$\begin{aligned} \text{Air} &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} \\ &= \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 25,93 = 7,78 \text{ gram} \end{aligned}$$
- NADES 2

Kombinasi :	Betain Hidroklorida	= 6,14 gram
	Asam Tartrat	= 12,01 gram
	Air	= 7,78 gram

Lampiran 8. Perhitungan Pereaksi DPPH

DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) BM 394,32

DPPH 1mMol ~ 0,001 mol / L

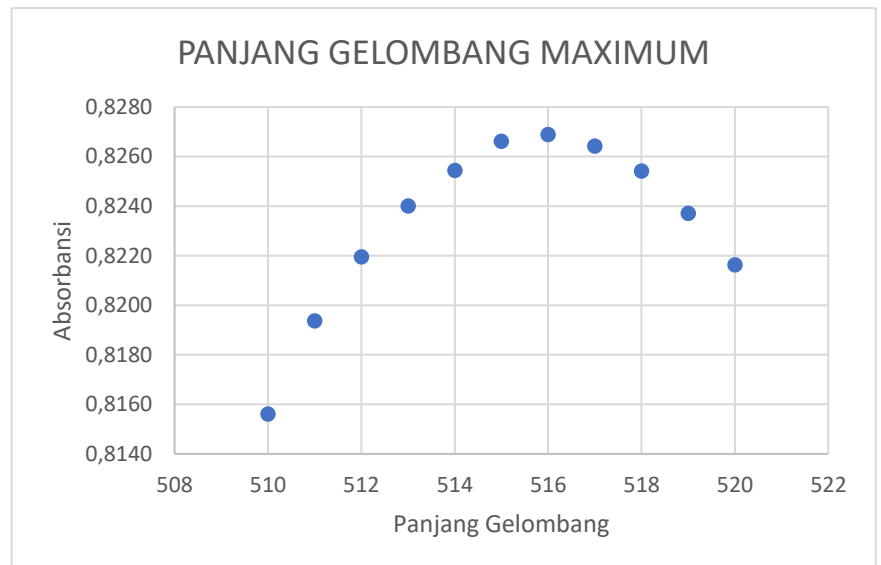
0,001 mol / L ~ 0,0001 mol / 100 mL ~ 0,00005 mol / 50 mL

$$\begin{aligned}\text{DPPH yang akan ditimbang (gr)} &= \text{BM} \times \text{Mol} \\ &= 394,32 \times 0,00005 = 0,0197 \text{ gram} \\ &= 19,71 \text{ mg}\end{aligned}$$

DPPH ditimbang sebanyak 19,71 mg dilarutkan dengan metanol Pa dalam labu ukur 50 mL hingga tanda batas, sehingga konsentrasi pereaksi DPPH 1 mMol.

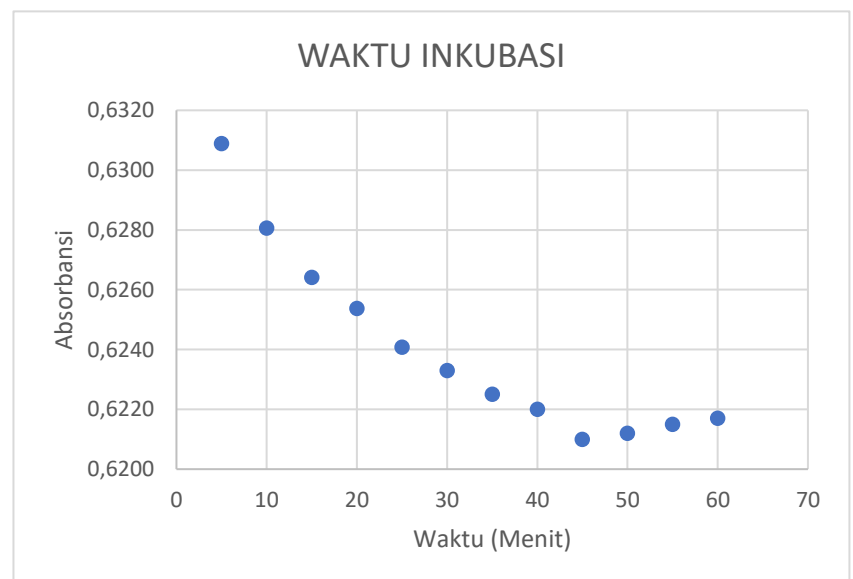
Lampiran 9. Penentuan Panjang Gelombang Maximum

Panjang Gelombang (nm)	Abs
510	0.8156
511	0.8194
512	0.8219
513	0.8240
514	0.8254
515	0.8266
516	0.8269
517	0.8264
518	0.8254
519	0.8237
520	0.8216



Lampiran 10. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Waktu	Abs
5	0.6309
10	0.6281
15	0.6264
20	0.6254
25	0.6241
30	0.6233
35	0.6225
40	0.6220
45	0.6210
50	0.6212
55	0.6215
60	0.6217



Lampiran 11. Larutan Pembanding Asam Askorbat 100 ppm

Larutan induk asam askorbat dibuat 100 ppm

Ditimbang asam askorbat 10 mg dilarutkan dalam 100 mL metanol Pa

$$\frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ ppm}$$

Lampiran 12. Perhitungan Deret Pembanding Asam Askorbat

Larutan induk asam askorbat dengan konsentrasi 100 ppm

- 2 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 2 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 4 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 4 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,4 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 6 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 6 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,6 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 8 ppm

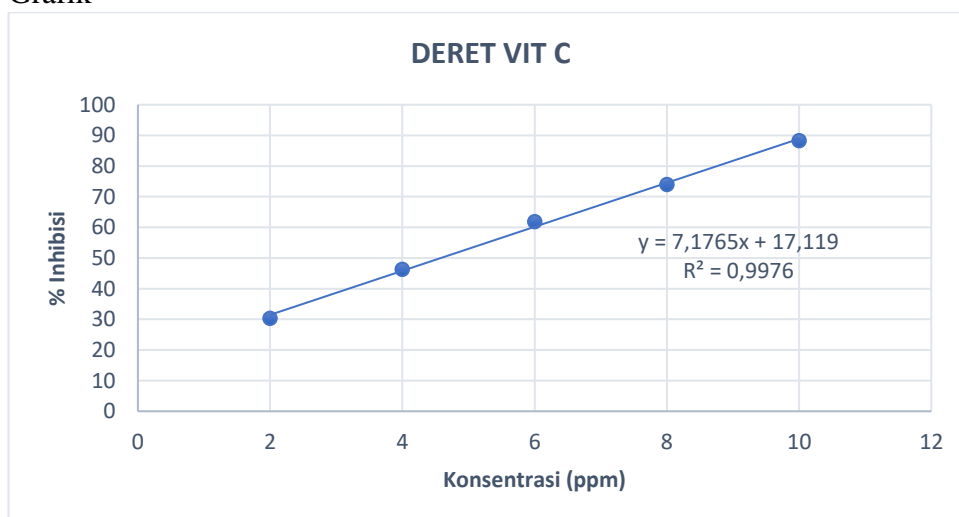
$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 8 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,8 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 10 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan % inhibisi dan nilai IC₅₀ Asam Askorbat

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
0,2	10	2	0,8679	0,6045	0,3035	30,3491	4,5823	Sangat kuat
0,4	10	4	0,8679	0,4654	0,4638	46,3763		
0,6	10	6	0,8679	0,3312	0,6184	61,8389		
0,8	10	8	0,8679	0,2256	0,7401	74,0062		
1	10	10	0,8679	0,1015	0,8831	88,3051		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

- 2 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,6045)}{0,8679} \times 100\% = 30,3591\%$

- 4 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,4654)}{0,8679} \times 100\% = 46,3763\%$

- 6 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,3312)}{0,8679} \times 100\% = 61,8389\%$

- 8 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,2256)}{0,8679} \times 100\% = 74,0062\%$

- 10 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,1015)}{0,8679} \times 100\% = 88,3051\%$

- Perhitungan IC₅₀
 - Nilai Regresi $y = 7,1765x + 17,119$
 - $Y = 50$
 - $b = 7,1765$
 - $a = 17,119$
 - $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
 - $IC_{50} = \frac{50-17,119}{7,1765}$
 - $= 4,5823 \text{ ppm}$

Lampiran 14. Larutan Induk Ekstrak Jahe Merah 1000 ppm

Konsentrasi Ekstrak NADES-UAE dan Etanol-UAE 100.000 ppm

Larutan induk ekstrak jahe merah dibuat 1000 ppm

- 1000 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 1000 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 1000 \text{ ppm}}{100000 \text{ ppm}} \\ &= 0,1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet ekstrak jahe merah 0,1 mL dilarutkan dalam 10 mL metanol Pa

Lampiran 15. Perhitungan Deret Larutan Ekstrak Jahe Merah

Larutan induk ekstrak jahe merah dengan konsentrasi 1000 ppm

- 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 150 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 150 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 1,5 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 200 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 200 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 250 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 250 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 2,5 \text{ mL} \end{aligned}$$
- 300 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \cdot 300 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 300 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 3 \text{ mL} \end{aligned}$$

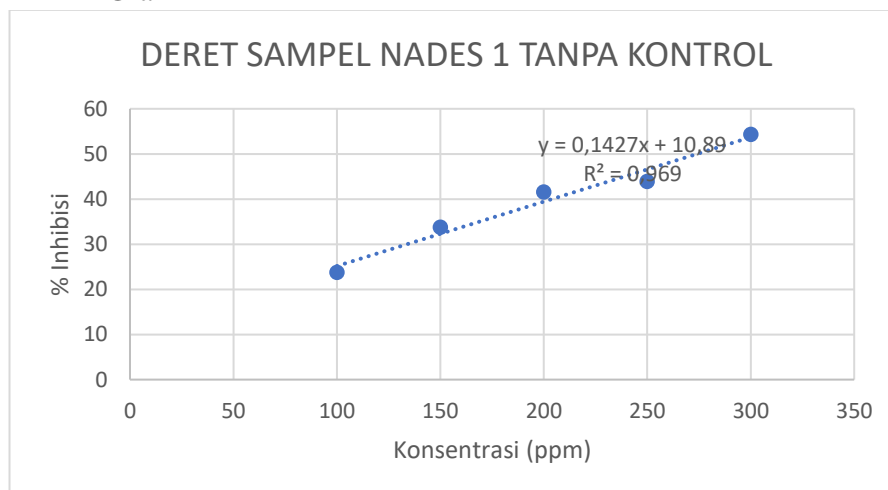
Lampiran 16. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Skrining NADES

1. NADES 1 (Betain Hidroklorida + Asam Sitrat)

a. Tanpa Kontrol

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8558	0,6527	23,7322	23,7322	274,0298	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8558	0,5674	33,6995	33,6995		
2	10	200	0,8558	0,5002	41,5518	41,5518		
2,5	10	250	0,8558	0,4805	43,8537	43,8537		
3	10	300	0,8558	0,3908	54,3351	54,3351		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

- 100 ppm = $\frac{(0,8558 - 0,6527)}{0,8558} \times 100\% = 23,7322 \%$

- 150 ppm = $\frac{(0,8558 - 0,5674)}{0,8558} \times 100\% = 33,6995 \%$

- 200 ppm = $\frac{(0,8558 - 0,5002)}{0,8558} \times 100\% = 41,5518 \%$

- 250 ppm = $\frac{(0,8558 - 0,4805)}{0,8558} \times 100\% = 43,8537 \%$

- 300 ppm = $\frac{(0,8558 - 0,3908)}{0,8558} \times 100\% = 54,3351 \%$

- Perhitungan IC₅₀
 - Nilai Regresi $y = 0,1427x + 10,8904$
 - Y = 50
 - b = 0,1427
 - a = 10,8904
 - IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
 - IC₅₀ = $\frac{50-10,8904}{0,1427}$
 - = 274,0298 ppm

b. Dengan Kontrol
Replikasi 1

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8679	0,6032	0,30499	30,4989	291,9838	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8679	0,5378	0,38034	38,0343		
2	10	200	0,8679	0,5178	0,40339	40,3387		
2,5	10	250	0,8679	0,5016	0,42205	42,2053		
3	10	300	0,8679	0,4058	0,53243	53,2435		

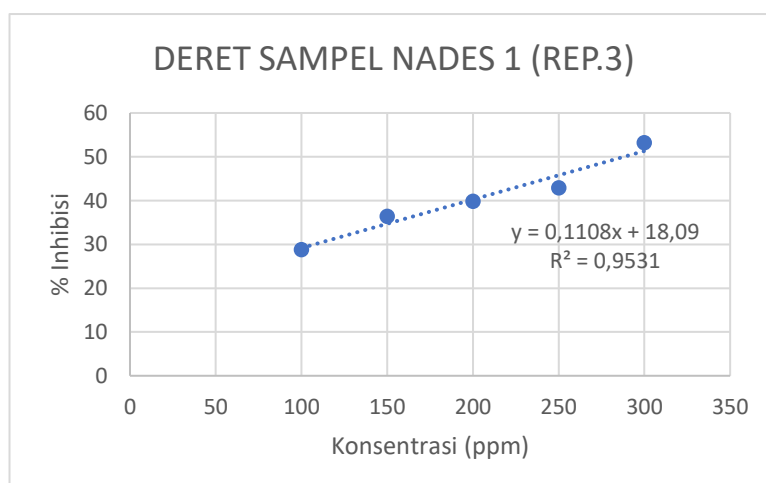
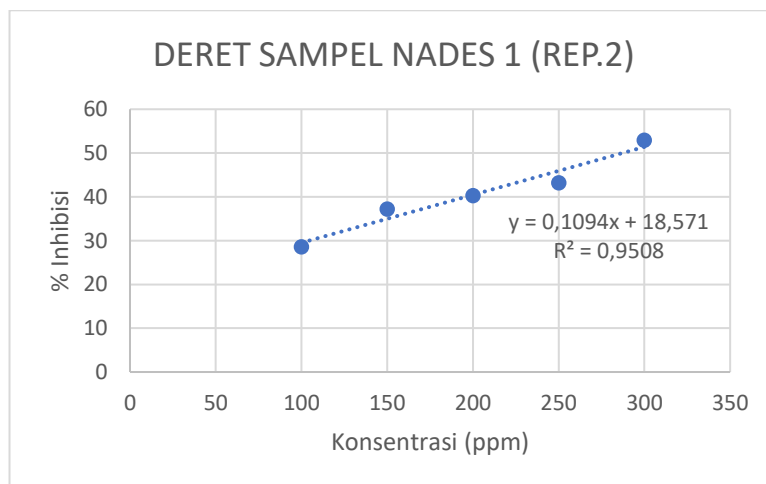
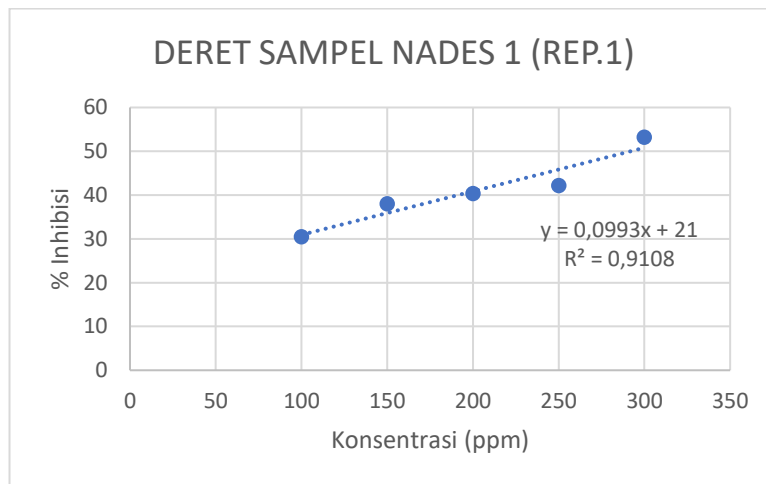
Replikasi 2

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8596	0,6138	0,2859	28,5947	287,2209	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8596	0,5396	0,3723	37,2266		
2	10	200	0,8596	0,5134	0,4027	40,2745		
2,5	10	250	0,8596	0,4879	0,4324	43,2410		
3	10	300	0,8596	0,4045	0,5294	52,9432		

Replikasi 3

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8578	0,6109	0,2878	28,7829	288,0657	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8578	0,5453	0,3643	36,4304		
2	10	200	0,8578	0,5159	0,3986	39,8578		
2,5	10	250	0,8578	0,4896	0,4292	42,9238		
3	10	300	0,8578	0,4012	0,5323	53,2292		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Replikasi 1

- 100 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,6032)}{0,8679} \times 100\% = 30,4989 \%$

- 150 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,5378)}{0,8679} \times 100\% = 38,0343 \%$

- 200 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,5178)}{0,8679} \times 100\% = 40,3387 \%$

- 250 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,5016)}{0,8679} \times 100\% = 42,2053 \%$

- 300 ppm = $\frac{(0,8679 - 0,4058)}{0,8679} \times 100\% = 53,2435 \%$

Replikasi 2

- 100 ppm = $\frac{(0,8596 - 0,6138)}{0,8596} \times 100\% = 28,5947 \%$

- 150 ppm = $\frac{(0,8596 - 0,5396)}{0,8596} \times 100\% = 37,2266 \%$

- 200 ppm = $\frac{(0,8596 - 0,5134)}{0,8596} \times 100\% = 40,2745 \%$

- 250 ppm = $\frac{(0,8596 - 0,4879)}{0,8596} \times 100\% = 43,2410 \%$

- 300 ppm = $\frac{(0,8596 - 0,4045)}{0,8596} \times 100\% = 52,9432 \%$

Replikasi 3

- 100 ppm = $\frac{(0,8578 - 0,6109)}{0,8578} \times 100\% = 28,7829 \%$

- 150 ppm = $\frac{(0,8578 - 0,5453)}{0,8578} \times 100\% = 36,4304 \%$

- 200 ppm = $\frac{(0,8578 - 0,5159)}{0,8578} \times 100\% = 39,8578 \%$

- 250 ppm = $\frac{(0,8578 - 0,4896)}{0,8578} \times 100\% = 42,9238 \%$

- 300 ppm = $\frac{(0,8578 - 0,4012)}{0,8578} \times 100\% = 53,2292 \%$

- Perhitungan IC₅₀

Replikasi 1

- Nilai Regresi $y = 0,0993x + 21,0001$
- Y = 50
- b = 0,0993
- a = 21,0001
- IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
- IC₅₀ = $\frac{50-21,0001}{0,0993}$
- = 291,9838 ppm

Replikasi 2

- Nilai Regresi $y = 0,1094x + 18,5714$
- Y = 50
- b = 0,1094
- a = 18,5714
- IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
- IC₅₀ = $\frac{50-18,5714}{0,1094}$
- = 287,2209 ppm

Replikasi 3

- Nilai Regresi $y = 0,1108x + 18,0905$
- Y = 50
- b = 0,1108
- a = 18,0905
- IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
- IC₅₀ = $\frac{50-18,0905}{0,1108}$
- = 288,0657 ppm

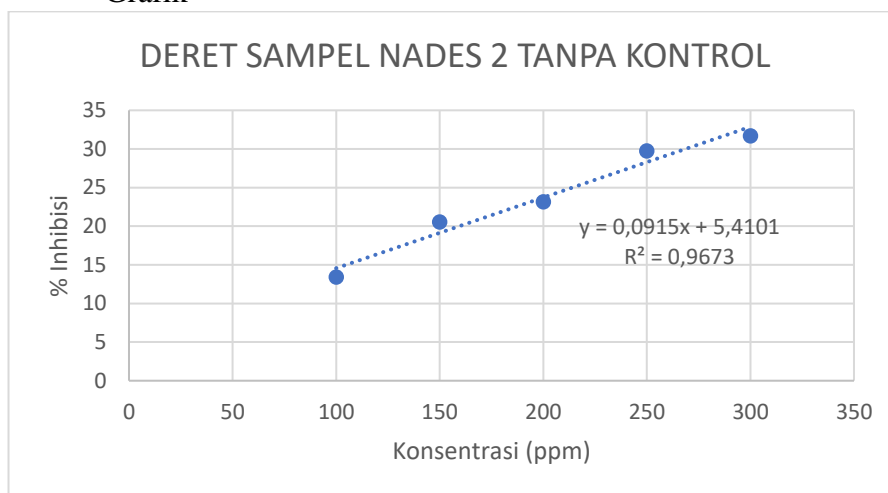
$$\text{Rata-Rata IC}_{50} = \frac{291,9838 + 287,2209 + 288,0657}{3} = 289,0901 \text{ ppm}$$

2. NADES 2 (Betain Hidroklorida + Asam Tartrat)

a. Tanpa Kontrol

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,9648	0,7410	0,1341	13,4143	487,2319	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,9648	0,6799	0,2055	20,5539		
2	10	200	0,9648	0,6576	0,2316	23,1596		
2,5	10	250	0,9648	0,6013	0,2974	29,7383		
3	10	300	0,9648	0,5845	0,3170	31,7013		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\begin{aligned} \text{\% Inhibisi} &= \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\% \\ \bullet \text{ 100 ppm} &= \frac{(0,9648 - 0,7410)}{0,9648} \times 100\% = 13,4143\% \\ \bullet \text{ 150 ppm} &= \frac{(0,9648 - 0,6799)}{0,9648} \times 100\% = 20,5539\% \\ \bullet \text{ 200 ppm} &= \frac{(0,9648 - 0,6576)}{0,9648} \times 100\% = 23,1596\% \\ \bullet \text{ 250 ppm} &= \frac{(0,9648 - 0,6013)}{0,9648} \times 100\% = 29,7383\% \\ \bullet \text{ 300 ppm} &= \frac{(0,9648 - 0,5845)}{0,9648} \times 100\% = 31,7013\% \end{aligned}$$

- Perhitungan IC₅₀
 - Nilai Regresi $y = 0,09151x + 5,4101$
 - Y = 50
 - b = 0,09151
 - a = 5,4101
 - IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
 - IC₅₀ = $\frac{50-5,4101}{0,09151}$
 - = 487,2319 ppm

b. Dengan Kontrol
Replikasi 1

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	1,0012	0,8273	0,1737	17,3692	518,2373	Sangat Lemah
1,5	10	150	1,0012	0,7752	0,2257	22,5729		
2	10	200	1,0012	0,7195	0,2814	28,1362		
2,5	10	250	1,0012	0,7065	0,2943	29,4347		
3	10	300	1,0012	0,6733	0,3275	32,7507		

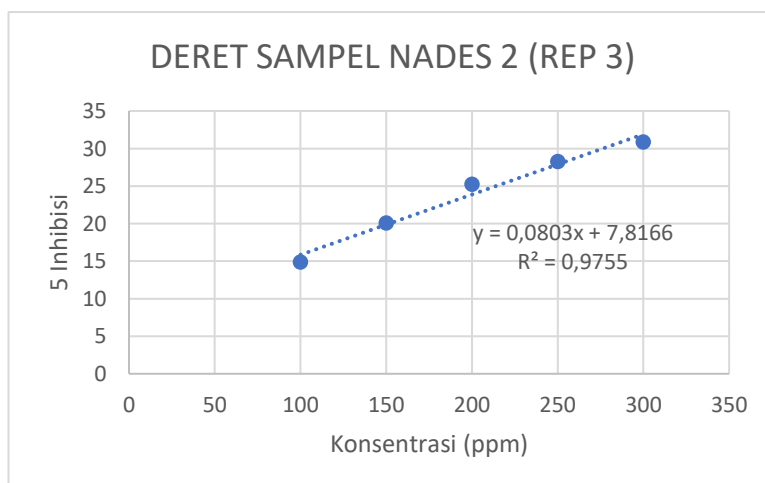
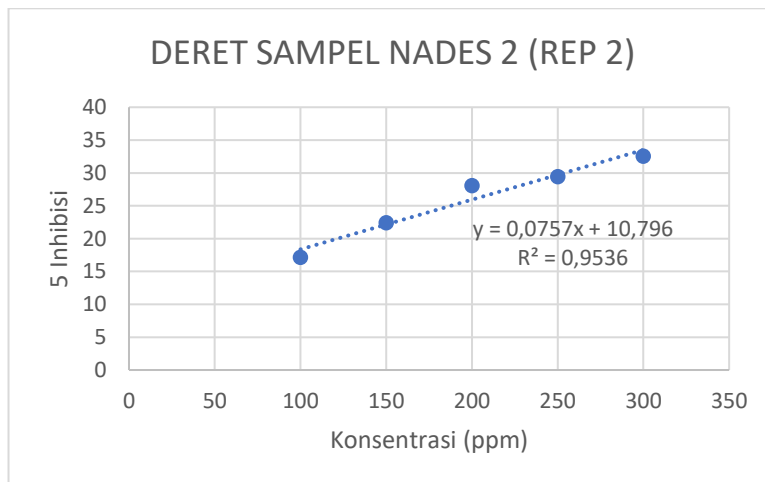
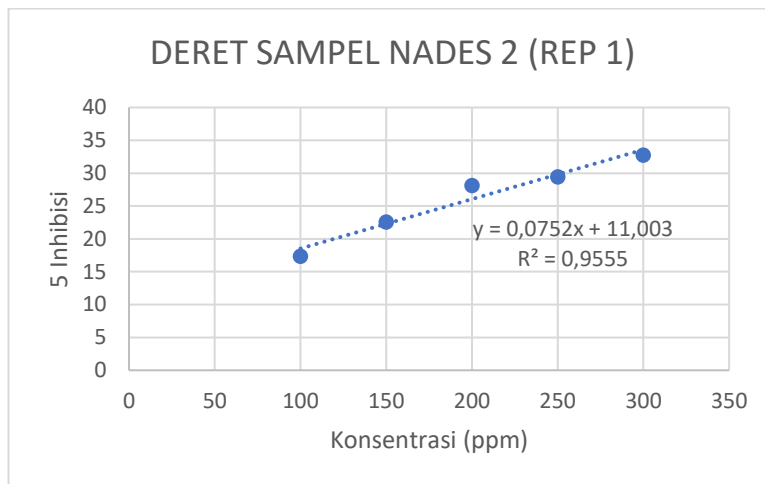
Replikasi 2

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,9996	0,8280	0,1717	17,1669	517,9487	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,9996	0,7755	0,2242	22,4190		
2	10	200	0,9996	0,7191	0,2806	28,0612		
2,5	10	250	0,9996	0,7052	0,2945	29,4518		
3	10	300	0,9996	0,6740	0,3257	32,5730		

Replikasi 3

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,9467	0,8056	0,1490	14,9023	525,4052	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,9467	0,7567	0,2007	20,0697		
2	10	200	0,9467	0,7077	0,2525	25,2456		
2,5	10	250	0,9467	0,6789	0,2829	28,2877		
3	10	300	0,9467	0,6545	0,3087	30,8651		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Replikasi 1

- 100 ppm $= \frac{(1,0012 - 0,8273)}{1,0012} \times 100\% = 17,3692 \%$

- 150 ppm $= \frac{(1,0012 - 0,7752)}{1,0012} \times 100\% = 22,5729 \%$

- 200 ppm $= \frac{(1,0012 - 0,7159)}{1,0012} \times 100\% = 28,1362 \%$

- 250 ppm $= \frac{(1,0012 - 0,7065)}{1,0012} \times 100\% = 29,4347 \%$

- 300 ppm $= \frac{(1,0012 - 0,6733)}{1,0012} \times 100\% = 32,7507 \%$

Replikasi 2

- 100 ppm $= \frac{(0,9996 - 0,8280)}{0,9996} \times 100\% = 17,1669 \%$

- 150 ppm $= \frac{(0,9996 - 0,7755)}{0,9996} \times 100\% = 22,4190 \%$

- 200 ppm $= \frac{(0,9996 - 0,7191)}{0,9996} \times 100\% = 28,0612 \%$

- 250 ppm $= \frac{(0,9996 - 0,7052)}{0,9996} \times 100\% = 29,4518 \%$

- 300 ppm $= \frac{(0,9996 - 0,6740)}{0,9996} \times 100\% = 32,5730 \%$

Replikasi 3

- 100 ppm $= \frac{(0,9467 - 0,8056)}{0,9467} \times 100\% = 14,9023 \%$

- 150 ppm $= \frac{(0,9467 - 0,7567)}{0,9467} \times 100\% = 20,0697 \%$

- 200 ppm $= \frac{(0,9467 - 0,7077)}{0,9467} \times 100\% = 25,2456 \%$

- 250 ppm $= \frac{(0,9467 - 0,6789)}{0,9467} \times 100\% = 28,2877 \%$

- 300 ppm $= \frac{(0,9467 - 0,6545)}{0,9467} \times 100\% = 30,8651 \%$

- Perhitungan IC_{50}

Replikasi 1

- Nilai Regresi $y = 0,0752x + 11,0028$
- $Y = 50$
- $b = 0,0752$
- $a = 11,0028$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-11,0028}{0,0752}$
- $= 518,2373 \text{ ppm}$

Replikasi 2

- Nilai Regresi $y = 0,0757x + 10,7963$
- $Y = 50$
- $b = 0,0757$
- $a = 10,7963$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-10,7963}{0,0757}$
- $= 517,9487 \text{ ppm}$

Replikasi 3

- Nilai Regresi $y = 0,0803x + 7,8166$
- $Y = 50$
- $b = 0,0803$
- $a = 7,8166$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-7,8166}{0,0803}$
- $= 525,405 \text{ ppm}$

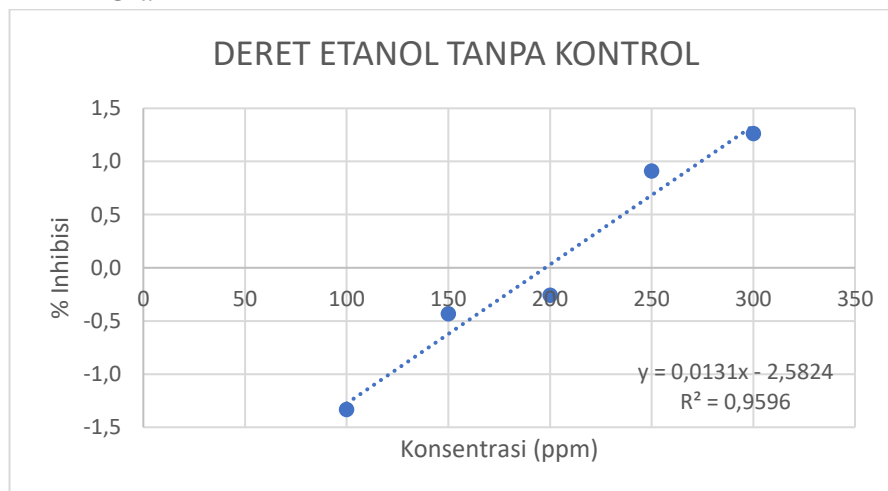
$$\text{Rata-Rata } IC_{50} = \frac{518,2373 + 517,9487 + 525,405}{3} = 520,5304 \text{ ppm}$$

3. ETANOL

a. Tanpa Kontrol

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8558	0,8672	-0.0484	- 1,3321	4025,0447	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8558	0,8595	-0.0043	- 0,4323		
2	10	200	0,8558	0,8580	-0.0026	- 0,2571		
2,5	10	250	0,8558	0,8480	0.0091	0,9114		
3	10	300	0,8558	0,8450	0.0126	1,2620		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

- 100 ppm $= \frac{(0,8558 - 0,8672)}{0,8558} \times 100\% = - 1,3321 \%$
- 150 ppm $= \frac{(0,8558 - 0,8595)}{0,8558} \times 100\% = - 0,4323 \%$
- 200 ppm $= \frac{(0,8558 - 0,8580)}{0,8558} \times 100\% = - 0,2571\%$
- 250 ppm $= \frac{(0,8558 - 0,8480)}{0,8558} \times 100\% = 0,9114 \%$
- 300 ppm $= \frac{(0,8558 - 0,8450)}{0,8558} \times 100\% = 1,2620\%$

- Perhitungan IC₅₀
 - Nilai Regresi $y = 0,0130x - 2,5824$
 - Y = 50
 - b = 0,0130
 - a = -2,5824
 - IC₅₀ = $\frac{50-a}{b}$
 - IC₅₀ = $\frac{50-(-2,5824)}{0,0130}$
 - = 4025,0447 ppm

b. Dengan Kontrol
Replikasi 1

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8679	0,9919	-0,1429	-14,2874	673,5175	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8679	0,8923	-0,0281	-2,114		
2	10	200	0,8679	0,8867	-0,0217	-2,1661		
2,5	10	250	0,8679	0,8301	0,0436	4,3553		
3	10	300	0,8679	0,7886	0,0914	9,1370		

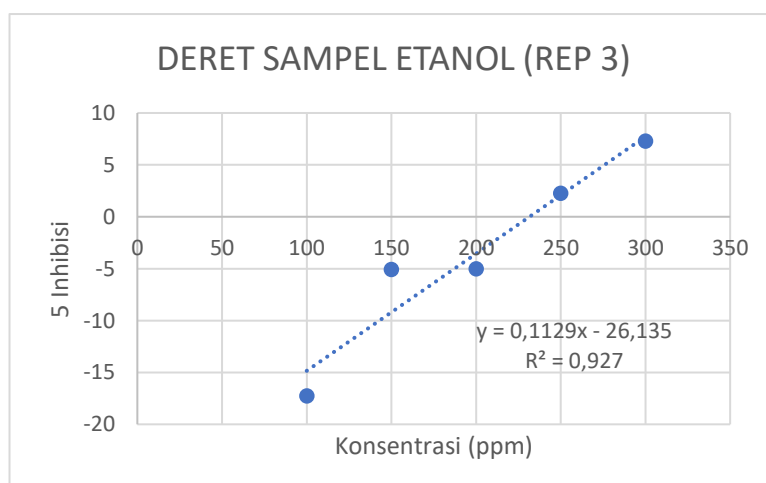
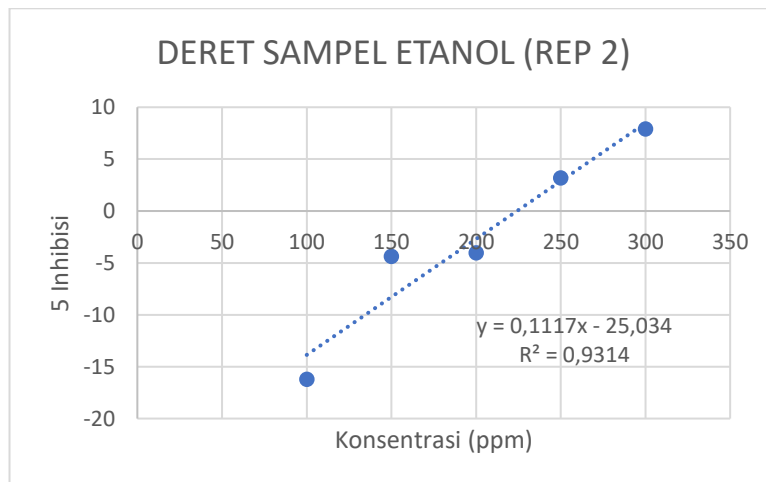
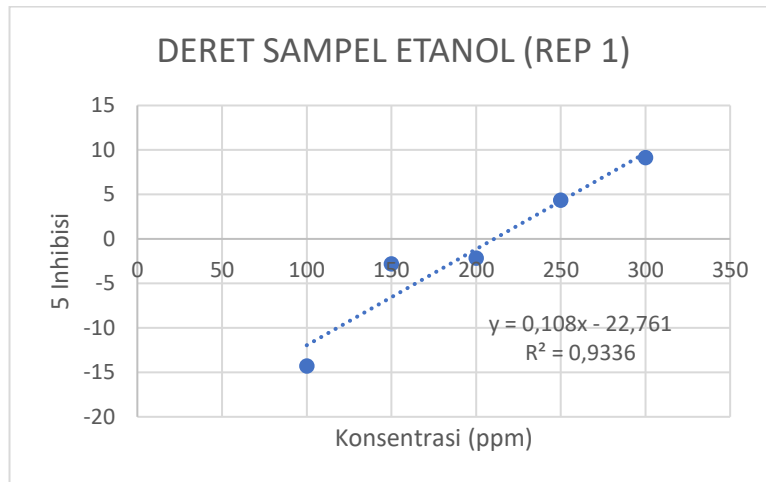
Replikasi 2

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8550	0,9937	-0,1622	-16,2222	671,9103	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8550	0,8924	-0,0437	-4,743		
2	10	200	0,8550	0,8893	-0,0401	-4,117		
2,5	10	250	0,8550	0,8276	0,0320	3,047		
3	10	300	0,8550	0,7874	0,0791	7,064		

Replikasi 3

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀	Ket.
1	10	100	0,8489	0,9954	-0,1726	-17,2576	674,5043	Sangat Lemah
1,5	10	150	0,8489	0,8921	-0,0509	-5,889		
2	10	200	0,8489	0,8914	-0,0501	-5,065		
2,5	10	250	0,8489	0,8296	0,0227	2,735		
3	10	300	0,8489	0,7871	0,0728	7,800		

- Grafik



- Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Replikasi 1

- 100 ppm $= \frac{(0,8679 - 0,9919)}{0,8679} \times 100\% = -14,2874 \%$

- 150 ppm $= \frac{(0,8679 - 0,8923)}{0,8679} \times 100\% = -2,8114\%$

- 200 ppm $= \frac{(0,8679 - 0,8867)}{0,8679} \times 100\% = -2,1661 \%$

- 250 ppm $= \frac{(0,8679 - 0,8301)}{0,8679} \times 100\% = 4,3553 \%$

- 300 ppm $= \frac{(0,8679 - 0,7886)}{0,8679} \times 100\% = 9,170 \%$

Replikasi 2

- 100 ppm $= \frac{(0,8550 - 0,9937)}{0,8550} \times 100\% = -16,2222 \%$

- 150 ppm $= \frac{(0,8550 - 0,8924)}{0,8550} \times 100\% = -4,3743 \%$

- 200 ppm $= \frac{(0,8550 - 0,8893)}{0,8550} \times 100\% = -4,0117 \%$

- 250 ppm $= \frac{(0,8550 - 0,8276)}{0,8550} \times 100\% = 3,2047 \%$

- 300 ppm $= \frac{(0,8550 - 0,7874)}{0,8550} \times 100\% = 7,9064 \%$

Replikasi 3

- 100 ppm $= \frac{(0,8489 - 0,9954)}{0,8489} \times 100\% = -17,2576 \%$

- 150 ppm $= \frac{(0,8489 - 0,8921)}{0,8489} \times 100\% = -5,0889 \%$

- 200 ppm $= \frac{(0,8489 - 0,8914)}{0,8489} \times 100\% = -5,0065 \%$

- 250 ppm $= \frac{(0,8489 - 0,8296)}{0,8489} \times 100\% = 2,2735 \%$

- 300 ppm $= \frac{(0,8489 - 0,7871)}{0,8489} \times 100\% = 7,2800 \%$

- Perhitungan IC_{50}

Replikasi 1

- Nilai Regresi $y = 0,1080x - 22,7607$
- $Y = 50$
- $b = 0,1080$
- $a = 22,7607$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-(-22,7607)}{0,1080}$
- $= 673,5157 \text{ ppm}$

Replikasi 2

- Nilai Regresi $y = 0,1117x - 25,0339$
- $Y = 50$
- $b = 0,1117$
- $a = -25,0339$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-(-25,0339)}{0,1117}$
- $= 671,9103 \text{ ppm}$

Replikasi 3

- Nilai Regresi $y = 0,1129x - 26,1350$
- $Y = 50$
- $b = 0,1129$
- $a = 26,1350$
- $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$
- $IC_{50} = \frac{50-(-26,1350)}{0,1129}$
- $= 674,5043 \text{ ppm}$

$$\text{Rata-Rata } IC_{50} = \frac{673,5157+671,9103+674,5043}{3} = 673,3107 \text{ ppm}$$

Lampiran 17. Hasil Analisis SPSS Skrining NADES

1. Uji T-Test Independent

Tests of Normality

JENIS PELARUT		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TANPA KONTROL	NADES 1	.216	3	.	.989	3	.795
	NADES 2	.219	3	.	.987	3	.780
DENGAN KONTROL	NADES 1	.323	3	.	.878	3	.319
	NADES 2	.371	3	.	.784	3	.077

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

JENIS PELARUT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
TANPA KONTROL	NADES 1	3	274.8860	6.92581	3.99862
	NADES 2	3	491.0714	3.62346	2.09200
DENGAN KONTROL	NADES 1	3	289.0901	2.54134	1.46724
	NADES 2	3	520.5471	4.21067	2.43103

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
TANPA KONTROL	Equal variances assumed	1.032	.37	-47.9	4	.000	-216	4.513	-229	-204
	Equal variances not assumed			-47.9	3.019	.000	-216	4.513	-230	-202
DENGAN KONTROL	Equal variances assumed	1.792	.25	-81.5	4	.000	-231	2.839	-239	-224
	Equal variances not assumed			-81.5	3.286	.000	-231	2.839	-240	-223

- Jika nilai sig (2-tailed) > 0,05 maka tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tanpa kontrol dan kelompok dengan kontrol
- Jika nilai sig sig (2-tailed) < 0,05 maka ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tanpa kontrol dan kelompok dengan kontrol

Hasil dari output data, Menunjukkan Nilai sig $0,00 < 0,05$ maka ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tanpa kontrol dan kelompok dengan kontrol

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.701	2	6	.090

- Jika nilai sig < 0,05 maka data tidak berdistribusi homogen
- Jika nilai sig > 0,05 maka data berdistribusi homogen

Hasil dari output data, Menunjukkan Nilai sig 0,090 > 0,05 maka data berdistribusi homogen

3. Uji Normalitas

Tests of Normality

	JENIS PELARUT	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN	NADES 1	.323	3	.	.878	3	.319
	NADES 2	.373	3	.	.779	3	.065
	ETANOL	.230	3	.	.981	3	.736

a. Lilliefors Significance Correction

- Jika nilai sig < 0,05 maka data tidak berdistribusi normal
- Jika nilai sig > 0,05 maka data berdistribusi normal

Hasil dari output data, Menunjukkan Nilai sig 0,319 untuk NADES 1; 0,065 untuk NADES 2; dan 0,736 untuk etanol dimana semua hasil sig > 0,05 maka data berdistribusi normal

4. Uji One Way Anova

ANOVA

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	224534.275	2	112267.137	12951.066	.000
Within Groups	52.011	6	8.669		
Total	224586.286	8			

- Jika nilai sig < 0,05 maka, tidak ada pengaruh yang signifikan antara jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah
- Jika nilai sig > 0,05 maka, ada pengaruh yang signifikan antara jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah

Hasil dari output data, Menunjukkan Nilai sig 0,000 < 0,05 maka, ada pengaruh yang signifikan antara jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jahe merah. Sehingga diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut duncan

5. Uji lanjut Duncan

Homogeneous Subsets

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Duncan^a

JENIS PELARUT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NADES 1	3	289.0889		
NADES 2	3		520.5304	
ETANOL	3			673.3115
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan : Uji lanjut Duncan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara NADES 1, NADES 2 dan etanol

Lampiran 18. Hasil Perhitungan Rasio Air Optimasi NADES

Optimasi NADES menggunakan kombinasi NADES 1

(Betain Hidroklorida : Asam Sitrat)

1. Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 50 : 50

- NADES

$$\text{NADES} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

$$\alpha \text{ gram} = \frac{13,82}{0,5} \times (0,5 + 0,5) = 27,64 \text{ gram}$$

- Air

$$\text{Air} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times \alpha \text{ gram} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 27,64 = 13,82 \text{ gram}$$

- NADES 1

$$\text{Kombinasi : Betain Hidroklorida} = 6,14 \text{ gram}$$

$$\text{Asam Sitrat} = 7,68 \text{ gram}$$

$$\text{Air} = 13,82 \text{ gram}$$

2. Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 60 : 40

- NADES

$$\text{NADES} = \frac{0,6}{0,6 + 0,4} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

$$\alpha \text{ gram} = \frac{13,82}{0,6} \times (0,6 + 0,4) = 23,03 \text{ gram}$$

- Air

$$\text{Air} = \frac{0,4}{0,6 + 0,4} \times \alpha \text{ gram} = \frac{0,4}{0,6 + 0,4} \times 23,03 = 9,21 \text{ gram}$$

- NADES 1

$$\text{Kombinasi : Betain Hidroklorida} = 6,14 \text{ gram}$$

$$\text{Asam Sitrat} = 7,68 \text{ gram}$$

$$\text{Air} = 9,21 \text{ gram}$$

3. Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\text{NADES} = \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

$$\alpha \text{ gram} = \frac{13,82}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 19,74 \text{ gram}$$

- Air

$$\text{Air} = \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 19,74 = 5,92 \text{ gram}$$

- NADES 1

$$\text{Kombinasi : Betain Hidroklorida} = 6,14 \text{ gram}$$

$$\text{Asam Sitrat} = 7,68 \text{ gram}$$

$$\text{Air} = 5,92 \text{ gram}$$

Lampiran 19. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Optimasi NADES**1. RUN 1 (S55 W60 N50)**

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9926	0.7156	0.2791	27.9065	438.7335
1,5	10	150	0.9926	0.6693	0.3257	32.5710	
2	10	200	0.9926	0.6436	0.3516	35.1602	
2,5	10	250	0.9926	0.6020	0.3935	39.3512	
3	10	300	0.9926	0.5937	0.4019	40.1874	

2. RUN 2 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9813	0.6902	0.2966	29.6647	456.3085
1,5	10	150	0.9813	0.6817	0.3053	30.5309	
2	10	200	0.9813	0.6263	0.3618	36.1765	
2,5	10	250	0.9813	0.6154	0.3729	37.2873	
3	10	300	0.9813	0.5791	0.4099	40.9864	

3. RUN 3 (S55 W60 N70)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9813	0.6902	0.2966	29.6647	270.1524
1,5	10	150	0.9813	0.6817	0.3053	30.5309	
2	10	200	0.9813	0.6263	0.3618	36.1765	
2,5	10	250	0.9813	0.6154	0.3729	37.2873	
3	10	300	0.9813	0.5791	0.4099	40.9864	

4. RUN 4 (S35 W20 N70)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1526	0.7682	0.3335	33.3507	319.3007
1,5	10	150	1.1526	0.7283	0.3681	36.8124	
2	10	200	1.1526	0.6670	0.4213	42.1308	
2,5	10	250	1.1526	0.6432	0.4420	44.1957	
3	10	300	1.1526	0.5934	0.4852	48.5164	

5. RUN 5 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9903	0.7160	0.2770	27.6987	357.0632
1,5	10	150	0.9903	0.6703	0.3231	32.3134	
2	10	200	0.9903	0.6387	0.3550	35.5044	
2,5	10	250	0.9903	0.5799	0.4144	41.4420	
3	10	300	0.9903	0.5634	0.4311	43.1081	

6. RUN 6 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9796	0.7367	0.2480	24.7958	371.9429
1,5	10	150	0.9796	0.6818	0.3040	30.4002	
2	10	200	0.9796	0.6394	0.3473	34.7285	
2,5	10	250	0.9796	0.5872	0.4006	40.0572	
3	10	300	0.9796	0.5632	0.4251	42.5071	

7. RUN 7 (S45 W20 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9642	0.6877	0.2868	28.6766	459.0698
1,5	10	150	0.9642	0.6537	0.3220	32.2029	
2	10	200	0.9642	0.6136	0.3636	36.3618	
2,5	10	250	0.9642	0.6096	0.3678	36.7766	
3	10	300	0.9642	0.5700	0.4088	40.8836	

8. RUN 8 (S35 W20 N50)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9983	0.7371	0.2616	26.1645	398.8760
1,5	10	150	0.9983	0.7050	0.2938	29.3799	
2	10	200	0.9983	0.6578	0.3411	34.1080	
2,5	10	250	0.9983	0.6274	0.3715	37.1532	
3	10	300	0.9983	0.5735	0.4255	42.5523	

9. RUN 9 (S35 W60 N50)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1324	0.8261	0.2705	27.0487	352.2443
1,5	10	150	1.1324	0.7644	0.3250	32.4974	
2	10	200	1.1324	0.6889	0.3916	39.1646	
2,5	10	250	1.1324	0.6601	0.4171	41.7079	
3	10	300	1.1324	0.6343	0.4399	43.9862	

10. RUN 10 (S35 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9880	0.7209	0.2703	27.0344	371.2789
1,5	10	150	0.9880	0.6829	0.3088	30.8806	
2	10	200	0.9880	0.6375	0.3548	35.4757	
2,5	10	250	0.9880	0.5910	0.4018	40.1822	
3	10	300	0.9880	0.5569	0.4363	43.6336	

11. RUN 11 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9791	0.7075	0.2774	27.7398	387.6318
1,5	10	150	0.9791	0.6578	0.3282	32.8159	
2	10	200	0.9791	0.6251	0.3616	36.1557	
2,5	10	250	0.9791	0.5999	0.3873	38.7294	
3	10	300	0.9791	0.5515	0.4367	43.6728	

12. RUN 12 (S55 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9516	0.5789	0.3917	39.1656	283.3086
1,5	10	150	0.9516	0.5492	0.4229	42.2867	
2	10	200	0.9516	0.5080	0.4662	46.6162	
2,5	10	250	0.9516	0.4960	0.4788	47.8773	
3	10	300	0.9516	0.4710	0.5050	50.5044	

13. RUN 13 (S55 W20 N50)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1173	0.8174	0.2684	26.8415	324.9016
1,5	10	150	1.1173	0.7594	0.3203	32.0326	
2	10	200	1.1173	0.7049	0.3691	36.9104	
2,5	10	250	1.1173	0.6735	0.3972	39.7208	
3	10	300	1.1173	0.5681	0.4915	49.1542	

14. RUN 14 (S45 W40 N50)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1339	0.7989	0.2954	29.5441	573.6455
1,5	10	150	1.1339	0.7666	0.3239	32.3926	
2	10	200	1.1339	0.7383	0.3489	34.8884	
2,5	10	250	1.1339	0.7149	0.3695	36.9521	
3	10	300	1.1339	0.7057	0.3776	37.7635	

15. RUN 15 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9770	0.6970	0.2866	28.6592	499.8405
1,5	10	150	0.9770	0.6560	0.3286	32.8557	
2	10	200	0.9770	0.6345	0.3506	35.0563	
2,5	10	250	0.9770	0.6148	0.3707	37.0727	
3	10	300	0.9770	0.5922	0.3939	39.3859	

16. RUN 16 (S55 W20 N70)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1613	0.7501	0.3541	35.4086	255.9979
1,5	10	150	1.1613	0.6608	0.4310	43.0983	
2	10	200	1.1613	0.6321	0.4557	45.5696	
2,5	10	250	1.1613	0.5686	0.5104	51.0376	
3	10	300	1.1613	0.5582	0.5193	51.9332	

17. RUN 17 (S45 W40 N70)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1613	0.7767	0.3312	33.1181	283.1837
1,5	10	150	1.1613	0.7517	0.3527	35.2708	
2	10	200	1.1613	0.6673	0.4254	42.5385	
2,5	10	250	1.1613	0.6235	0.4631	46.3102	
3	10	300	1.1613	0.5567	0.5206	52.0623	

18. RUN 18 (S35 W60 N70)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.1451	0.8050	0.2970	29.7005	329.1426
1,5	10	150	1.1451	0.7192	0.3719	37.1933	
2	10	200	1.1451	0.6966	0.3917	39.1669	
2,5	10	250	1.1451	0.6261	0.4532	45.3236	
3	10	300	1.1451	0.6183	0.4600	46.0047	

19. RUN 19 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9761	0.7021	0.2807	28.0709	351.5748
1,5	10	150	0.9761	0.6428	0.3415	34.1461	
2	10	200	0.9761	0.6338	0.3507	35.0681	
2,5	10	250	0.9761	0.5657	0.4204	42.0449	
3	10	300	0.9761	0.5311	0.4559	45.5896	

20. RUN 20 (S45 W40 N60)

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9667	0.7264	0.2486	24.8578	482.1464
1,5	10	150	0.9667	0.6782	0.2984	29.8438	
2	10	200	0.9667	0.6423	0.3356	33.5575	
2,5	10	250	0.9667	0.6235	0.3550	35.5022	
3	10	300	0.9667	0.6021	0.3772	37.7159	

Lampiran 20. Hasil Perhitungan Rasio Air Verifikasi NADES

Kombinasi Rasio Air pada verifikasi NADES yang digunakan yaitu :

1. Penambahan Air pada NADES dengan Rasio 70 : 30

- NADES

$$\text{NADES} = \frac{0,7}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = 13,82 \text{ gram}$$

$$\alpha \text{ gram} = \frac{13,82}{0,7} \times (0,7 + 0,3) = 19,74 \text{ gram}$$

- Air

$$\text{Air} = \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times \alpha \text{ gram} = \frac{0,3}{0,7 + 0,3} \times 19,74 = 5,92 \text{ gram}$$

- NADES 1

Kombinasi : Betain Hidroklorida = 6,14 gram

Asam Sitrat = 7,68 gram

Air = 5,92 gram

Lampiran 21. Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Verifikasi NADES

Verifikasi NADES dengan kombinasi S55 W20 N70

1. Replikasi 1

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.0343	0.6857	0.3370	33.7040	282.1801
1,5	10	150	1.0343	0.6572	0.3646	36.4594	
2	10	200	1.0343	0.5566	0.4619	46.1858	
2,5	10	250	1.0343	0.5359	0.4819	48.1872	
3	10	300	1.0343	0.5209	0.4964	49.6374	

2. Replikasi 2

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.0118	0.7051	0.3031	30.3123	289.6786
1,5	10	150	1.0118	0.6522	0.3554	35.5406	
2	10	200	1.0118	0.5678	0.4388	43.8822	
2,5	10	250	1.0118	0.5457	0.4607	46.0664	
3	10	300	1.0118	0.5079	0.4980	49.8023	

3. Replikasi 3

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.0158	0.7319	0.2795	27.9484	286.5629
1,5	10	150	1.0158	0.6534	0.3568	35.6763	
2	10	200	1.0158	0.6288	0.3810	38.0981	
2,5	10	250	1.0158	0.5658	0.4430	44.3001	
3	10	300	1.0158	0.4769	0.5305	53.0518	

4. Replikasi 4

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.0114	0.7381	0.2702	27.0219	278.9420
1,5	10	150	1.0114	0.6489	0.3584	35.8414	
2	10	200	1.0114	0.5705	0.4359	43.5930	
2,5	10	250	1.0114	0.5379	0.4682	46.8163	
3	10	300	1.0114	0.4987	0.5069	50.6921	

5. Replikasi 5

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	1.0107	0.6982	0.3092	30.9192	276.2324
1,5	10	150	1.0107	0.6489	0.3580	35.7970	
2	10	200	1.0107	0.5771	0.4290	42.9010	
2,5	10	250	1.0107	0.5221	0.4834	48.3427	
3	10	300	1.0107	0.4918	0.5134	51.3407	

6. Replikasi 6

Volume Pipet (mL)	Ad	Kons (Ppm)	Abs Blanko (516 nm)	Abs Sampel (516 nm)	Inhibisi	% Inhibisi	IC ₅₀
1	10	100	0.9991	0.7018	0.2976	29.7568	268.2860
1,5	10	150	0.9991	0.6349	0.3645	36.4528	
2	10	200	0.9991	0.5989	0.4006	40.0561	
2,5	10	250	0.9991	0.5199	0.4796	47.9632	
3	10	300	0.9991	0.4562	0.5434	54.3389	