

Optimasi *Ultrasound-Assisted Extraction* pada Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* Valetton) serta Potensinya sebagai Antioksidan dan Antimikrob

Imalia Dwi Putri¹⁾, Rosalina²⁾, Andita Utami³⁾, Lintannisa Rahmatia³⁾, Riri Enriyani³⁾, Ismail³⁾, Alfian Fadhilah Alminda⁴⁾, Candra Irawan^{4)*}

¹⁾Prodi Penjaminan Mutu Industri Pangan Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No 283, Bogor, Indonesia 16158

²⁾Prodi Pengolahan Limbah Industri Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No 283, Bogor, Indonesia 16158

³⁾Prodi Analisis Kimia Politeknik AKA Bogor Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No 283, Bogor, Indonesia

⁴⁾Prodi Nanoteknologi Pangan Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No 283, Bogor, Indonesia 16158

* Email : cha_chand1977@yahoo.com

(Received : 11 Agustus 2025 ; Accepted: 23 Desember 2025 ; Published: 29 Desember 2025)

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) pada rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Valetton) sebagai alternatif ekstraksi yang lebih efisien dan ramah lingkungan dibandingkan metode konvensional. Optimasi dilakukan melalui variasi waktu ekstraksi dan amplitudo. Tahapan analisis meliputi skrining fitokimia serta penilaian aktivitas antioksidan dan antimikrob menggunakan ekstrak etanol. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh melalui metode FRAP dan CUPRAC, sedangkan metode DPPH memberikan respons lebih rendah, mencerminkan perbedaan sensitivitas mekanisme pengujian. Kondisi optimal dicapai pada perlakuan D (45 menit; 65% amplitudo) dengan nilai EC_{50} sebesar 62,69 mg/L, yang termasuk kategori aktivitas antioksidan kuat. Uji antimikrob mengindikasikan bahwa ekstrak etanol bangle hitam sensitif terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, dengan potensi yang mendekati kontrol positif tetrasiklin. Temuan ini menunjukkan bahwa UAE mampu menghasilkan ekstrak bangle hitam dengan kandungan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan dan antimikrob tinggi, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal.

Kata kunci: Bangle hitam; *Zingiber ottensii*, UAE, antioksidan, antimikrob

Abstract

This study aimed to optimize the *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) method for black bangle rhizome (*Zingiber ottensii* Valetton) as an efficient and environmentally friendly alternative to conventional extraction. Optimization was conducted by varying extraction time and amplitude. Analytical procedures included phytochemical screening as well as evaluation of antioxidant and antimicrobial activities using ethanol extract. The results showed that the highest antioxidant activity was obtained through the FRAP and CUPRAC assays, while the DPPH method yielded weaker responses, indicating differences in assay sensitivity and reaction mechanisms. The optimal condition was achieved in Treatment D (45 minutes; 65% amplitude), producing an EC_{50} value of 62.69 mg/L, classified as strong antioxidant activity. Antimicrobial testing demonstrated that the ethanol extract exhibited sensitivity against *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*, with inhibitory potential comparable to the positive control, tetracycline. These findings indicate that UAE effectively enhances the extraction of bioactive compounds from black bangle rhizome, supporting its potential application as a nutraceutical ingredient.

Keyword: Black bangle, *Zingiber ottensii*, UAE, antioxidant, antimicrobial.

PENDAHULUAN

Masyarakat telah banyak menggunakan tanaman sebagai sumber nutrisi dan obat tradisional. Salah satunya adalah bangle hitam (*Zingiber ottensii* Valetton). *Zingiber ottensii* Valetton (ZoV) adalah tanaman herba semusim dengan batang tegak yang dapat mencapai tinggi dua meter. Tanaman ini memiliki pertumbuhan berumpun rapat dengan batang semu beralur, rimpang berwarna ungu mengeluarkan aroma tajam khas. Daun tunggal berbentuk lanset dengan ujung meruncing, bunga tersusun majemuk berbentuk bulir, bertangkai, dan berujung runcing. Buah berbentuk kotak serta biji berbentuk bulat dan berwarna hitam. (Putri dkk., 2019). Rimpang tanaman ZoV adalah bagian tanaman yang paling umum digunakan sebagai obat tradisional. Rimpang ZoV memiliki banyak manfaat sebagai obat demam, sembelit, cacingan, sakit perut, sakit pinggang, memar, terkilir, luka, masuk angin, dan asam urat (Batubara dkk., 2018; Panyajai *et al.*, 2022; Thitinarongwate *et al.*, 2021).

Potensi dari rimpang ZoV yang dapat dijadikan sebagai pengobatan tidak lepas dari kandungan senyawa aktif didalamnya seperti ekstrak etanol rimpang yang mengandung kurkumin sebesar 0,0175 g/100 g. Senyawa fitokimia dari ekstrak ZoV dapat berupa saponin, flavonoid, tanin, terpenoid dan sterol (Rungruang *et al.*, 2021). Umumnya senyawa flavonoid dan fenolik memiliki aktivitas antioksidan.

Telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol rimpang ZoV yang diperoleh melalui ekstraksi maserasi bersifat toksik terhadap sel kanker payudara manusia MCF-7 (Sinaga *et al.*, 2013). Maserasi merupakan metode ekstraksi yang umum digunakan untuk memperoleh ekstrak dengan kandungan metabolit sekunder yang optimal. Kelemahan dari maserasi adalah memerlukan banyak pelarut dan waktu yang lama untuk menghasilkan ekstrak (Zhang *et al.*, 2023; Irawan *et al.*, 2022a). Berbagai teknik ekstraksi telah dikembangkan untuk menjadi lebih ramah lingkungan, termasuk mengurangi penggunaan pelarut, mempersingkat waktu ekstraksi, meningkatkan rendemen, dan menghindari kerusakan senyawa akibat panas yang digunakan. Salah satu metode ekstraksi tersebut adalah *ultrasound assisted extraction* (UAE) (Bonfigle *et al.*, 2017; Irawan *et al.*, 2022b; Kumar *et al.*, 2021).

Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) merupakan salah satu metode modern yang memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk memecah dinding sel bahan, sehingga mempercepat pelepasan senyawa aktif ke dalam pelarut. Keunggulan UAE antara lain waktu ekstraksi yang lebih singkat, penggunaan pelarut lebih sedikit, dan minim degradasi senyawa sensitif. Penelitian ini berfokus pada optimasi kondisi UAE pada rimpang bangle hitam, dengan menguji variasi waktu ekstraksi dan amplitudo gelombang untuk

memperoleh hasil ekstrak dengan aktivitas antioksidan dan antimikrob yang optimal. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi pada pengembangan teknologi ekstraksi bahan alam yang lebih ramah lingkungan, sekaligus memperluas pemanfaatan bangle hitam sebagai kandidat bahan baku industri pangan fungsional atau nutrasetikal.

Penelitian ini merupakan salah satu studi awal yang mengoptimalkan parameter UAE (amplitudo dan waktu ekstraksi) pada rimpang ZoV serta mengintegrasikan analisis rendemen, skrining fitokimia, aktivitas antioksidan menggunakan tiga metode sekaligus (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *The Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP)). Keterbaruan penelitian ini Adalah pada evaluasi komprehensif aktivitas antioksidan dan antimikrob ekstrak rimpang ZoV sebagai dasar pengembangan produk nutrasetikal. Integrasi hasil aktivitas antioksidan dan antimikrob untuk mendukung potensi pengembangan nutrasetikal berbasis rimpang ZoV menjadi aspek kebaruan karena belum banyak penelitian sebelumnya yang menekankan hubungan kedua parameter tersebut pada spesies ini.

PENDAHULUAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Seperangkat alat spektrofotometer ultraviolet-visible (Shimadzu UV-VIS 1700), *Fourier Transform Infrared* (FTIR) merk Shimadzu, *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) merk Shimadzu, ultrasonik tanduk (*probe*) getar (Sonics VCX 750), seperangkat alat gelas Pyrex (erlenmeyer, gelas beker, pipet ukur, pipet gondok, corong, pengaduk, labu ukur, botol vial, pipet mikro, dan lain-lain), neraca analitik (Shimadzu), blender (Philips), ayakan 40 mesh, oven (Memmert), *microplate reader* (VersaMax), dan pipet mikro (Eppendorf).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) yang diperoleh dari Kota Bogor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96 % (Merck), akuades, metanol *p.a* (Merck), etanol 70% (Merck), methanol for HPLC (Merck), asam klorida pekat (Merck), HCl 2%, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, metanol 50%, larutan natrium karbonat 10%, larutan feri klorida 1%, asam sulfat pekat (Merck), asam asetat anhidrida (Merck), kloroform (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 39 mg/L (Sigma-Aldrich), *butylated hydroxytoluen* (BHT), asam asetat glasial (Merck), larutan feri klorida 20 mmol/L (Merck), o-fenantrolin (Sigma-Aldrich), larutan asam sitrat 0,001 M, FeCl₃.6H₂O (Merck), larutan CuCl₂.2H₂O 0,01 M, larutan neokuproin etanolik 0,0075 M (Sigma-Aldrich), larutan penyangga amonium asetat pH 7 1 M (Merck), aqua

demineralisata (Brataco), p-Nitrofenil-D-glukopiranosida (pNPG) (Sigma Aldrich), bovine serum albumin (Sigma Aldrich), dan kalium hidrogen fosfat (Merck).

Metode

Penyiapan Simplisia

Bagian tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.). Bangle hitam yang telah dikumpulkan, kemudian disortasi untuk memisahkan bagian lain dari tumbuhan, serangga, maupun pengotor lain, selanjutnya dicuci bersih. Bangle hitam (ZoV) ditimbang selanjutnya dikering anginkan di udara terbuka tanpa cahaya matahari selama 3 minggu. Simplisia ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh. Masing-masing serbuk simplisia disimpan terpisah dalam wadah kering, tertutup, diberi identitas, dan terlindung dari sinar matahari langsung hingga dilakukan ekstraksi.

Ekstraksi Simplisia

Serbuk simplisia ZoV ditimbang sebanyak 50 g, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Masing-masing *beaker glass* ditambahkan 400 mL pelarut etanol 70% dan disonikasi menggunakan ultrasonik tanduk (probe) pada suhu ruang dengan variasi waktu dan amplitudo sebagai berikut:

- Waktu ekstraksi 30 menit dengan amplitudo 60% (A)
- Waktu ekstraksi 30 menit dengan amplitudo 65% (B)
- Waktu ekstraksi 45 menit dengan amplitudo 60% (C)
- Waktu ekstraksi 45 menit dengan amplitudo 65% (D)

Penapisan Fitokimia (Fadilah *et al*, 2022)

Penapisan fitokimia dengan metode Ciulei dilakukan terhadap ekstrak kasar ZoV. Uji penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloida, flavonoida, fenol, saponin, tannin, glikosida, dan sterol-triterpenoid.

1. Identifikasi Alkaloida

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, dilarutkan dalam 2 mL HCl 2 %, dipanaskan sambil dikocok, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh sebagian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer dan sebagian lagi ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff. Adanya senyawa alkaloida ditunjukkan oleh terjadinya endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff.

2. Identifikasi Flavonoida

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, ditambahkan 1-2 mL metanol 50%, dipanaskan pada suhu 50°C, dan setelah dingin ditambahkan logam magnesium dan 4-5 tetes HCl pekat. Adanya warna

merah atau jingga pada filtrat menunjukkan adanya flavonoida.

3. Identifikasi Fenol

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, ditambah 2 mL aquades dan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1%, terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya fenol.

4. Identifikasi Saponin

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambah 3 mL aquades, kemudian dikocok selama 15 menit untuk diamati terjadinya busa setinggi 1 cm yang bertahan selama 15 menit.

5. Identifikasi Tanin

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, ditambah dengan 1-2 mL FeCl₃ 1%. Terjadinya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

6. Identifikasi Glikosida Steroid

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL anhidrat asetat dan 0,5 mL kloroform, kemudian larutan tersebut dipindahkan ke tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan H₂SO₄ pekat ke dasar tabung, terbentuknya cincin coklat kemerahan menunjukkan adanya glikosida steroid.

7. Identifikasi Sterol-Triterpenoid

Sampel (0,25 g) dimasukkan ke tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL anhidrida asetat dan 0,5 mL kloroform, selanjutnya ditambahkan H₂SO₄ pekat setetes demi tetes sebanyak 0,2 mL ke dasar tabung, terbentuknya warna kecoklatan atau biru violet (ungu) menunjukkan triterpenoid dan terbentuknya warna hijau menunjukkan adanya sterol.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian dilakukan pada ekstrak etanol dari bangle hitam (ZoV) menggunakan metode DPPH, metode FRAP, metode CUPRAC merujuk pada (Irawan *et al*, 2021).

1. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Blanko dibuat dengan cara memipet sebanyak 1 mL larutan DPPH 39 mg/L, dimasukkan ke labu takar 5 mL, lalu ditera dengan metanol p.a dan dihomogenkan. Sebanyak 10 mg BHT ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu takar 10 mL, lalu ditera, dan dihomogenkan. Konsentrasi BHT dibuat 2, 4, 8, 16, dan 32 mg/L. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25°C), kemudian serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 515 nm.

Sebanyak 5 mg ekstrak ZoV dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu takar 5 mL, kemudian dibuat konsentrasi sampel 8, 16, 32, 64, dan 128 mg/L

dimasukkan ke lima buah labu takar 5 mL, lalu ditambahkan 1 mL larutan DPPH 39 mg/L, kemudian ditera dengan metanol p.a dan dihomogenkan. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25°C), kemudian serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 515 nm. Pengerjaan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

2. Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Blanko dibuat dengan cara memipet larutan asam sitrat 0,001 M sebanyak 0,4 mL, kemudian dimasukkan ke labu takar 5 mL, lalu ditambahkan 0,2 mL larutan FeCl₃ 0,002 M dan 0,4 mL o-fenantrolin 0,2%. Larutan ditera dengan akuades dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mg ekstrak ZoV dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 5 mL dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L, lalu ditambahkan 0,4 mL asam sitrat 0,001 M; 0,2 mL larutan FeCl₃ 0,002 M; 0,4 mL o-fenantrolin 0,2%, ditera dengan akuades, dan dihomogenkan. Inkubasi larutan selama 30 menit pada suhu 37°C. Serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 550 nm. Pengerjaan yang sama dilakukan terhadap pembandingan asam galat dengan konsentrasi asam galat 0,25; 0,5; dan 0,75 mg/L. Pengerjaan dilakukan sebanyak tiga kali.

3. Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC

Blanko dibuat dengan cara memipet larutan CUPRAC sebanyak 1 mL, dimasukkan ke labu takar 5 mL, ditera dengan etanol p.a, dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mg ekstrak dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 5 mL, sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 1.000 mg/L, kemudian dibuat menjadi konsentrasi 4, 8, 12, dan 16 mg/L. Masing-masing larutan kemudian dimasukkan ke lima buah labu takar 5 mL, ditambahkan 1 mL larutan CUPRAC, ditera dengan etanol p.a, dan dihomogenkan. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 459 nm. Pengerjaan yang sama dilakukan terhadap pembandingan BHT dengan konsentrasi BHT 0,25; 0,5; dan 0,75 mg/L. Pengerjaan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

4. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram

Kertas cakram dicelupkan pada ekstrak etanol rimpang bangle dengan beberapa variabel ekstrak berdasarkan kondisi ekstraksi UAE dengan memvariasikan amplitudo dan waktu ekstrak. Variasi A (30 menit, amplitudo 60%), B (30 menit, amplitudo 65%), C (45 menit, amplitudo 60%), dan D (45 menit, amplitudo 65%). Selanjutnya keempat kertas cakram diletakkan di atas medium yang sudah berisikan bakteri uji dan diberi tanda pada masing-

masing kertas cakram dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati pertumbuhan bakteri untuk setiap area. Jika zona hambat belum tampak tunggu hingga 24 jam lagi (Yusriana, dkk., 2014).

5. Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan mistar berskala/jangka sorong. Didapatkan data berupa diameter (cm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter kertas cakram. Uji aktivitas dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda. Lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (Yusriana, dkk., 2014). Besarnya daerah hambat yang terbentuk disesuaikan dengan kriteria CSLI (*Clinical Laborator Standart*) yaitu bila daerah hambat ≥ 19 mm dikatakan sensitif dan bila daerah hambat ≤ 14 mm maka dikatakan resisten, sedangkan antara 14 mm sampai 19 mm dikatakan intermediet terhadap pertumbuhan bakteri (Jennings, Spring B, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Simplisia dan Skrining Fitokimia

Ekstraksi bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) dilakukan dengan metode UAE menggunakan pelarut etanol, masing-masing dengan perlakuan A (30 menit, amplitudo 60%), B (30 menit, amplitudo 65%), C (45 menit, amplitudo 60%), dan D (45 menit, amplitudo 65%). Masing-masing perlakuan ekstraksi menghasilkan persen rendemen yang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data ekstraksi bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) dengan metode UAE

Kode Sampel (Amplitudo : waktu)	Bobot Sebelum Ekstraksi (g)	Bobot Setelah Ekstraksi (g)	% Randemen
A (60% : 30 menit)	39,3755	5,1049	12,69%
B (65% : 30 menit)	39,3681	5,1146	12,99%
C (60% : 45 menit)	39,5019	5,9416	15,04%
D (65% : 45 menit)	39,9190	5,3029	13,25%

Berdasarkan Tabel 1, pada amplitudo 60% peningkatan waktu ekstraksi (Perlakuan A: 60% selama 30 menit dan Perlakuan C: 60% selama 45 menit) menyebabkan gelembung kavitasi berinteraksi lebih lama dengan permukaan sampel, sehingga meningkatkan gradien tekanan osmotik antara bagian intra- dan ekstraseluler. Rusaknya dinding sel bahan ini menyebabkan lebih banyak metabolit berdifusi keluar sel (Irawan *et al.*, 2023). Pada amplitudo yang lebih tinggi, yaitu 65% (Perlakuan B: 65% selama 30 menit dan Perlakuan D: 65% selama 45 menit), perpanjangan waktu ekstraksi menunjukkan peningkatan persen rendemen yang lebih signifikan. Hal ini disebabkan oleh intensitas kavitasi yang lebih besar, yang

menghasilkan gaya geser dan pelepasan energi lokal yang lebih tinggi selama proses *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan amplitudo dan waktu ekstraksi berkontribusi positif terhadap efisiensi pelepasan senyawa bioaktif dari rimpang bangle hitam.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Bangle Hitam (*Zingiber ottensi* Val.)

No	Senyawa metabolit	Parameter			
		Waktu (menit) – Amplitudo (%)			
		30 – 60 (A)	30 – 65 (B)	45 – 60 (C)	45 – 65 (D)
1	Tanin	+	+	+	+
2	Fenolik	+	+	+	+
3	Saponin	-	-	-	-
4	Glikosida steroid	+	+	+	+
5	Terpenoid	+	+	+	+
6	Flavonoid	+	+	+	+
7	Antrakuinon	-	-	-	-
8	Alkaloid (Dragendorff's)	+	+	+	+
9	Alkaloid (Wagner)	+	+	+	+

Ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) pada masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Agustiana dkk., 2016). Hasil skrining

fitokimia ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) pada Tabel 2 memberikan perspektif berharga mengenai komposisi senyawa aktif ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.). Flavonoid, senyawa fenolik, tanin, terpenoid dan glikosida steroid merupakan beberapa senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak ini. Sebaliknya, ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) tidak mengandung antrakuinon, dan saponin.

Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak UAE Bangle Hitam dengan tiga metode, yaitu metode peredaman radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metode reduksi $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (FRAP), dan metode reduksi $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ (CUPRAC).

Metode DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan pelarut etanol membentuk larutan ungu. Ketika radikal bebas bereaksi dengan antioksidan, sifat radikal bebasnya hilang karena rantai putus dan warnanya berubah menjadi kuning muda.

Perubahan warna larutan disebabkan adanya komponen yang mendonasikan atom hidrogen. Antioksidan mereduksi radikal DPPH ke bentuk yang lebih stabil yaitu DPPH-H. Reaksi antara DPPH dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi DPPH dan radikal antioksidan. Perubahan warna larutan mempengaruhi absorbansi. Semakin tinggi konsentrasi antioksidan dalam larutan, semakin rendah absorbansi DPPH (Munteanu & Apetrei, 2021). Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak UAE bangle hitam dan perbandingan BHT dengan DPPH dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) dengan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi $\pm$ SD	Persamaan Regresi	$\text{IC}_{50} \pm$ SD (ppm)
BHT	4	39,18 $\pm$ 0,08	$y = 3,5346x + 26,617$	6,62 $\pm$ 0,1
	8	58,05 $\pm$ 0,01		
	12	67,45 $\pm$ 0,2		
A	100	18,19 $\pm$ 0,09	$y = 0,2399x - 3,8468$	224,46 $\pm$ 0,3
	150	34,43 $\pm$ 0,3		
	200	44,57 $\pm$ 0,2		
	300	67,32 $\pm$ 0,09		
B	100	20,87 $\pm$ 0,1	$y = 0,2099x + 0,7669$	234,56 $\pm$ 0,2
	150	33,19 $\pm$ 0,1		
	200	43,12 $\pm$ 0,1		
	300	63,32 $\pm$ 0,07		
C	100	14,89 $\pm$ 0,1	$y = 0,2373x - 9,3306$	250,02 $\pm$ 0,2
	150	21,49 $\pm$ 0,1		
	200	44,29 $\pm$ 0,1		
	300	59,96 $\pm$ 0,08		
D	100	17,99 $\pm$ 0,09	$y = 0,2432x - 6,6176$	232,80 $\pm$ 0,4
	150	27,82 $\pm$ 0,2		
	200	44,47 $\pm$ 0,1		
	300	65,61 $\pm$ 0,1		

Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi DPPH dan ekstrak sampel, maka persentase penghambatannya semakin besar. Nilai IC₅₀ BHT standar jauh lebih kecil dibandingkan keempat ekstrak tersebut. Menurut Molyneux, tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH digolongkan sesuai dengan, nilai IC₅₀, sangat kuat (< 50 ppm), kuat (50-100) ppm, sedang (100-150) ppm, lemah (>150 ppm) (Pine *et al.*, 2015). Dengan nilai EC₅₀ sebesar 6,62 ppm, menunjukkan bahwa BHT memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan cara menangkap radikal bebas (Munteanu *et al.*, 2021). Sedangkan ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) dengan perlakuan A, B, C dan D memiliki nilai IC₅₀ berkisar antara 230 sampai dengan 250 ppm. Artinya, ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong lemah melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. Ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) kaya senyawa fenolik, flavonoid, dan sesquiterpene tidak semua komponen tersebut mampu mendonasikan hidrogen secara stabil untuk mereduksi DPPH, sehingga hasil DPPH cenderung lebih lemah (Fidrianny *et al.*, 2015; Munteanu *et al.*, 2021).

Metode FRAP

Dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) terjadi transfer elektron dari antioksidan, dalam hal ini ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) ke senyawa kompleks Fe³⁺ -TPTZ. Senyawa Fe³⁺ -TPTZ mewakili senyawa oksidator yang

mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel. Dengan kondisi ini, ion Fe³⁺ akan mengalami reduksi menjadi ion Fe²⁺ yang ditandai dengan terbentuknya warna biru pada larutan (Pratiwi *et al.*, 2020). Dari hasil penelitian diperoleh nilai aktivitas antioksidan dengan metode FRAP pada standar asam galat, ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) dengan perlakuan A, B, C dan D seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil penelitian, standar BHT menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai EC₅₀ lebih kecil dari 50 mg/L. Sementara itu, ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) pada perlakuan A, B, C, dan D memiliki nilai EC₅₀ pada rentang 62–84 mg/L. Nilai tersebut masih tergolong dalam kategori aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga keempat perlakuan ekstrak bangle hitam dapat dikatakan memiliki kemampuan mereduksi oksidator yang cukup tinggi. Metode FRAP menghasilkan nilai aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak bangle hitam karena metode ini bekerja berdasarkan mekanisme transfer elektron (Single Electron Transfer/SET) untuk mereduksi ion Fe³⁺ menjadi Fe²⁺. Ekstrak bangle hitam diketahui kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid, yang secara kimiawi merupakan pereduksi kuat dan sangat efektif dalam mekanisme SET. Oleh karena itu, komponen bioaktif dalam bangle hitam merespons secara optimal pada kondisi reaksi FRAP, sehingga nilai EC₅₀ yang diperoleh relatif rendah dan masuk kategori aktivitas antioksidan kuat.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) dengan metode FRAP

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Kekuatan Reduksi ± SD	Persamaan Regresi	EC ₅₀ ± SD (ppm)
Asam Galat	0,25	44,04 ± 0,7	y = 56,052x + 30,926	0,32 ± 0,01
	0,5	64,09 ± 0,5		
	0,75	71,35 ± 0,3		
A	10	27,82 ± 0,5	y = 0,3659x + 21,863	76,90 ± 1,0
	50	36,02 ± 0,5		
	100	60,29 ± 0,3		
B	10	21,26 ± 1,0	y = 0,4399x + 14,086	81,64 ± 1,0
	50	31,09 ± 0,6		
	100	60,29 ± 0,3		
C	10	25,73 ± 1,0	y = 0,3555x + 20,481	83,04 ± 1,0
	50	35,21 ± 0,4		
	100	57,38 ± 0,3		
D	10	26,97 ± 0,7	y = 0,4541x + 21,534	62,69 ± 0,9
	50	42,61 ± 0,6		
	100	67,66 ± 0,3		

Metode CUPRAC

Metode CUPRAC dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam bahan alam. Penentuannya berdasarkan *single electron transfer* (SET) dengan mendeteksi kemampuan antioksidan dalam mentransfer satu elektron untuk mereduksi senyawa logam, karbonil, dan radikal (Abubakar *et*

al., 2022). Prinsip metode CUPRAC adalah reaksi oksidasi-reduksi, sebagai oksidator adalah senyawa Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-(Nc)₂). Ion neokuproin tembaga (II) (Cu(Nc)₂²⁺) akan direduksi oleh antioksidan membentuk Cu(Nc)²⁺. Reaksi terjadi dengan ditandai perubahan warna larutan dari biru menjadi kuning dengan pembacaan absorbansi pada

panjang gelombang 450 nm. Derajat intensitas perubahan warna berupa kenaikan atau penurunan absorbansi pada panjang gelombang tertentu berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan dalam sampel (Dobrinas *et al.*, 2021).

Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai EC_{50} ekstrak bangle hitam pada perlakuan A, C, dan D berada di bawah 1 ppm, sedangkan perlakuan B memiliki nilai EC_{50} sebesar 1,25 ppm. Jika dibandingkan dengan BHT sebagai kontrol positif ($1,14 \pm 0,01$ ppm), ekstrak pada perlakuan A, C, dan D memiliki nilai EC_{50} yang lebih kecil sehingga menunjukkan kapasitas antioksidan yang lebih kuat daripada BHT. Sementara itu, perlakuan B menunjukkan aktivitas yang sedikit lebih rendah. Meskipun demikian, seluruh perlakuan masih tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang

sangat kuat karena nilai EC_{50} berada jauh di bawah 50 mg/L.

Tingginya aktivitas antioksidan pada metode CUPRAC ini berkaitan dengan mekanisme reaksinya yang berbasis transfer elektron, yaitu reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh senyawa antioksidan. Mekanisme ini sangat sensitif terhadap senyawa fenolik dan flavonoid, yang diketahui melimpah dalam ekstrak bangle hitam. Sifat redoks senyawa fenolik berperan penting dalam menetralkan radikal bebas, melakukan quenching terhadap oksigen singlet maupun triplet, serta mendegradasi peroksida. Oleh karena itu, kandungan fenolik yang tinggi pada ekstrak bangle hitam diduga menjadi penyebab utama munculnya nilai EC_{50} yang rendah dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada metode CUPRAC (Munteanu & Apetrei, 2021; Pérez-Gálvez *et al.*, 2020).

Tabel 5. Aktivitas antioksidan ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) dengan metode CUPRAC

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Kekuatan Reduksi	Persamaan Regresi	EC_{50} (ppm)
BHT	0.25	$22,59 \pm 0,6$	$y = 28,424x + 17,542$	$1,14 \pm 0,01$
	0.75	$42,98 \pm 0,4$		
	1.25	$51,01 \pm 0,4$		
A	0.25	$29,99 \pm 0,4$	$y = 52,592x + 18,977$	$0,59 \pm 0,01$
	0.50	$48,47 \pm 0,4$		
	1.00	$70,50 \pm 0,2$		
B	0.5	$29,00 \pm 0,4$	$y = 23,487 + 20,574$	$1,25 \pm 0,01$
	1.00	$47,55 \pm 0,5$		
	2.00	$66,38 \pm 0,2$		
C	0.25	$28,49 \pm 0,4$	$y = 54,354 + 17,267$	$0,60 \pm 0,01$
	0.50	$47,99 \pm 0,3$		
	1.00	$70,44 \pm 0,2$		
D	0.25	$17,94 \pm 0,5$	$y = 51,98x + 7,0737$	$0,83 \pm 0,005$
	0.50	$36,25 \pm 0,4$		
	1.00	$57,99 \pm 0,2$		

Uji Antimikrob

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang bangle hitam dilakukan menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui besarnya zona hambat yang dihasilkan ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus*, *Escherichia coli*, serta jamur (fungi) *Candida albicans*. Metode yang digunakan dalam proses isolasi bakteri dan jamur adalah metode cawan gores, yang bertujuan untuk memperoleh koloni-koloni yang benar-benar terpisah sehingga mempermudah proses isolasi dan pengamatan. Pada penelitian ini digunakan media Nutrient Agar (NA) karena media ini tidak mengandung karbohidrat, bertekstur padat, dan dinilai paling sesuai untuk pertumbuhan bakteri (Yusriana *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini digunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif (+) karena tetrasiklin mempunyai spektrum luas yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Menurut CSLI (*Clinical Laborator Standard Institute*) kriteria daerah hambat adalah sensitif jika ≥ 19 mm, dikatakan resisten jika zona

hambatnya ≤ 14 mm, dan dikatakan intermediet jika zonanya antara 14 mm sampai 19 mm (Jennings, Spring B., 2006).

Dari Tabel 6 dapat diketahui ekstrak etanol rimpang bangle hitam memiliki daya hambat terhadap bakteri *Bacillus Sp* terbesar diperoleh dari sampel variasi A dan B dengan diameter zona hambat 67,5 mm. Pada bakteri *E.coli* diperoleh diameter zona hambat terbesar dari variasi sampel B 87,5 mm. Sedangkan pada jamur *Candida albican* diperoleh diameter zona hambat 100 mm dari variasi sampel C. Bila merujuk pada CSLI maka keseluruhan hasil pengukuran diameter daya hambat pada seluruh variasi ekstrak etanol rimpang bangle hitam berada pada kategori sensitif terhadap bakteri *Bacillus Sp*, *E. coli* dan jamur (fungi) *Candida albican*. Hasil ini menunjukkan potensi antibakteri yang sangat baik dari ekstrak rimpang bangle hitam, bila dibandingkan dengan tetrasiklin sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran daya hambat tetrasiklin berada pada kategori sensitif terhadap bakteri *Bacillus Sp* dan *E.coli*, namun resisten terhadap jamur (fungi) *Candida albican*.

Tabel 6. Kriteria Kekuatan Zona Daya Hambat Ekstrak Rimpang Bangle Hitam

No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)		
		<i>Bacillus Sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>Candida Albican</i>
1	Variasi A (60 – 30)	60,0	60,0	70,0
		55,0	60,0	65,0
	Rata-rata	67,5	60,0	67,5
2	Variasi B (65 – 30)	65,0	90,0	80,0
		70,0	85,0	80,0
	Rata-rata	67,5	87,5	80,0
3	Variasi C (60 – 45)	40,0	20,0	100,0
		30,0	20,0	100,0
	Rata-rata	35,0	20,0	100,0
4	Variasi D (65 – 45)	40,0	50,0	55,0
		50,0	50,0	55,0
	Rata-rata	45,0	50,0	55,0
5	Kontrol Positif (Tetrasiklin)	55,0	30,0	10,0
		55,0	30,0	10,0
	Rata-rata	55,0	30,0	10,0
6	Kontrol Negatif (Asam Asetat)	0,0	0,0	0,0
		0,0	0,0	0,0
	Rata-rata	0,0	0,0	0,0

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang bangle hitam memiliki aktivitas antimikrob terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Variasi zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh kandungan ekstrak bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) yang mampu merusak membran sel dan mengganggu proses enzimatik mikroorganisme. Zona hambat *E. coli* yang lebih kecil konsisten dengan resistensi alami bakteri Gram negatif.

Aktivitas antimikrob tersebut sejalan dengan potensi antioksidan yang kuat melalui metode FRAP dan CUPRAC (EC₅₀ masing-masing 62 ppm sampai 84 ppm ppm dan 0,59 ppm sampai 1, 25 ppm), sedangkan metode DPPH menunjukkan aktivitas lebih lemah (EC₅₀ 230 ppm sampai 250 ppm) karena mekanisme dominan senyawa cenderung bekerja melalui transfer elektron. Kandungan flavonoid, fenolik, dan terpenoid yang terdeteksi memperkuat hasil ini.

Perlakuan D (amplitudo 65%, waktu 45 menit) menghasilkan kombinasi optimal antara efisiensi ekstraksi dan aktivitas biologis. Secara keseluruhan, hubungan antara aktivitas antimikrob, kapasitas antioksidan, serta komposisi fitokimia mendukung potensi rimpang bangle hitam sebagai sumber bioaktif untuk aplikasi nutrasetikal.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensi* Val.) memiliki aktivitas antioksidan kuat berdasarkan metode FRAP dan CUPRAC, sementara metode DPPH menunjukkan aktivitas yang lebih lemah. Kondisi ekstraksi terbaik diperoleh pada perlakuan D dengan amplitudo 65% dan waktu 45 menit, menghasilkan nilai EC₅₀ sebesar 62,69 mg/L. Ekstrak juga menunjukkan aktivitas antimikrob terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, yang didukung oleh keberadaan senyawa bioaktif pada skrining fitokimia. Secara keseluruhan, ekstrak bangle hitam berpotensi dikembangkan sebagai kandidat nutrasetikal dengan aktivitas antioksidan dan antimikrob.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Ruslan, Wiraningtyas, A., (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry). 4(1). 71-76.
- Batubara, I., Trimulia, R., Rohaeti, E., Darusman, L.K. (2018). Hubungan Lama Distilasi, Kandungan Senyawa, dan Bioautografi Antioksidan Minyak Atsiri Bangle (*Zingiber purpureum*). *Indonesian Journal of Essential Oil*, 3(1):37-44.
- Bonfigle, M., Godoy, E., Reinheimer M. A., Scenn N. J. (2017). Comparison between Conventional and Ultrasound Assisted Techniques for Extraction of Anthocyanins from Grape Pomace. *Journal of Food Engineering*, 207:56-72.
- Dobrinas, S., Soceanu, A., Popescu, V., Popovici, LC., & Jitariu, D. (2021). Relationship Between Total Phenolic Content, Antioxidant Capacity, Fe And Cu Content From Tea Plant Samples At Different Brewing Times. *MDPI Journal*. doi: org/10.3390/pr9081311.
- Fitriyanti, J. S., Sitti, R. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2).
- Irawan, C., Elya, B., Hanafi, M., and Saputri, F.C. (2021) Application of Ultrasound-Assisted Extraction on the Stem Bark of *Rhinachantus Nasutus* (L.) Kurz, Total Phenolic, and Its Potential as Antioxidant and Inhibitor of Alpha-Glucosidase Enzyme Activity. *Pharmacognosy Journal*. 13(5): 1297- 1303.

- Irawan, C., Sukiman, M., Ismail., Putri, I. D., Utami, A., Dewanta, A., & Noviyanti, A. (2022a). Optimization of the Ultrasound Assisted Extraction of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Fruit Peel and its Antioxidant and Anti Gout Potential. *Pharmacogn Journal*, 14(2): 397-405.
- Irawan, C., Putri, I.D., Sukiman, M., Utami, A., Ismail, Putri, R.K., Lisandi, A., Pratama, A.N. (2022b). Antioxidant Activity of DPPH, CUPRAC, and FRAP Methods, as well as Activity of Alpha-Glucosidase Inhibiting Enzymes from *Tinospora crispa* (L.) Stem Ultrasonic Extract. *Pharmacognosy Journal*, 14(5):511-520.
- Irawan, C., Hendra, Nurhayati, L., Nurlela, Widyasmara, A., Putri, I.D. (2023). Betel leaf (*Piper cf. arcuatum* Blume) ultrasound-assisted extraction optimization and their potential anti-uric acid and antioxidant activity. *Rasayan Journal of Chemistry*, 16(2):1042-1049.
- Jennings, Spring B. Metghicillin resistant *Staphylococcus aureus* (Avaible On line at <http://www.jci.org/cgi/content/full114/12/1993.htm>)(diakses Desember 2024).
- Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V.S. (2021). Ultrasound Assisted Extraction (UAE) of Bioactive Compounds from Fruit and Vegetable Processing by-Products: A review. *Ultrason Sonochem*, 70(105325):1-11.
- Munteanu, I.G., Apetrei C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7): 3380.
- Panyajai, P., Chueahongthong, F., Viriyaadhammaa, N., Nirachonkul, W., Tima, S., Chiampanichayakul, S., Anuchapreeda, S., Okonogi, S. (2022). Anticancer activity of *Zingiber ottensii* Essential Oil and Its Nanoformulations. *PLoSONE*, 17(1),e0262335:1-15.
- Pérez-gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*, 9(6), 1–39. <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>
- Pratiwi, A., Manurung, A. F., & Sumitra, J. (2020). Penetapan Kadar Vitamin C Pada Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible Tahun 2018. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 2(2), 56–62. <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i2.363>.
- Putri, S.P., Fitrianingsih, S.P., Hazar, S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2. <https://doi.org/10.29313/bcsp.v2i2.3120>
- Rungruang, R., Ratanathavorn, W., Boohuad, N., Selamassakul, O., Kaisangsri, N. (2021). Antioxidant and Anti-aging Enzyme Activities of Bioactive Compounds Isolated from Selected Zingiberaceae Plants. *Agriculture and Natural Resources*, 55(1): 153–160. <https://doi.org/10.34044/j.anres.2021.55.1.20>
- Sinaga, E., Suprihatin, Wiryanti, I. (2013). Anticancer Activity of Bangle Hantu (*Zingiber ottensii* Val.) Rhizomes on Breast Cancer Cell Lines MCF-7. *Proceeding: The 4th International Conference on Green Technology Faculty of Science and Technology Islamic of University State Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Thitinarongwate, W., Mektrirat, R., Nimlamool, W., Khonsung, P., Pikulkaew, S., Okonogi, S., Kunanusorn, P. (2021). Phytochemical and Safety Evaluations of *Zingiber ottensii* Valeton Essential Oil in Zebrafish Embryos and Rats. *Toxics*, 9(5):102.
- Yusriana, C., Budi, C., dan Dewi, T. 2012. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2): 1-7.
- Zhang, M., Zhao, J., Dai, X., Li, X. (2023). Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants. *Separations*, 10(12): 598.