

Uji Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) Asal Kabupaten Bone Dengan Metode DPPH

Wa Yusniawati¹ Tahirah Hasan², Muhammad Iqbal³

^{1,2,3}Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia

Corresponding Author
yusniawati085@gmail.com

ABSTRAK

kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolik dan dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Tujuan penelitian ini untuk menentukan kadar fenolik total dan menentukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone dengan metode DPPH. Metode penelitian meliputi ekstraksi simplisia kunyit hitam dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penetapan kadar fenolik total dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 764 nm dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 505 nm. Hasil analisis kadar fenolik total ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone diperoleh kadar rata-rata 25,058 mg EAG/g sampel dan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 56,630 ± 0,468 µg/mL. Kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) 0,028 kali asam askorbat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,607 + 0,0916 µg/mL.

Kata Kunci: Antioksidan; Fenolik Total; Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.); DPPH

ABSTRACT

Black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) is a plant that contains phenolic compounds and can be used to treat various disease. The aim of this research was to determine the total phenolic content and determine the IC₅₀ value of turmeric rhizome ethanol extract black (*Curcuma caesia* Roxb.) from Bone district using the DPPH method. The research method includes extraction of black turmeric simplicia carried out by maceration using 70% ethanol solvent. Determination of total phenolyte content using a visible spectrophotometer at a wavelength of 764 nm and antioxidant activity testing using the DPPH method using a visible spectrophotometer at a wavelength of 505 nm. The results of the analysis of the total phenolic content of the ethanol extract of black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) from Bone district obtained an average level of 25.058 mg EAG/g sampel and the results of the antioxidant activity test of the ethanol extract of black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) obtained an IC₅₀ value of 56,630 ± 0,468 µg/mL. The antioxidant activity capacity of black turmeric ethanol extract (*Curcuma caesia* Roxb.) is 0,028 times compared to ascorbic acid with an IC₅₀ value of 1,607 + 0,0916 µg/mL.

Keywords: Antioxidants; total Phenolics; Black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.); DPPH.

PENDAHULUAN

Senyawa fenolik merupakan substansi organik dimana terdiri dari senyawa aromatik yang terikat dengan satu atau lebih substituen hidroksil (-OH). Senyawa fenolik memiliki sifat farmakologi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat memberikan satu atau lebih elektron yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Winarsih, 2007; Vermerris, 2006).

Radikal bebas adalah zat kimia yang sifatnya tidak stabil dan dapat merusak sel tubuh karena memiliki elektron tidak berpasangan. Jumlah radikal bebas yang berlebihan menyebabkan antioksidan dalam tubuh tidak seimbang oleh karena itu dibutuhkan antioksidan dari luar yang bersumber dari bahan alam. Komponen fenolik yang terdapat dalam bahan alam memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mereduksi radikal bebas

tergantung pada jumlah gugus hidroksil pada struktur molekulnya (Emelda, 2020).

Salah satu tanaman yang berpeluang memiliki aktivitas antioksidan adalah kunyit hitam. Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) merupakan tanaman yang memiliki banyak khasiat yaitu dapat mengobati asma, kanker, epilepsi, demam, luka, muntah, antelmintik, dan peradangan. Kunyit hitam mengandung senyawa-senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, fenol, curcuminoid, terpenoid, tanin dan protein (Baghel et al., 2013 ; Yadav & Saravanan, 2019).

Beberapa penelitian tentang aktivitas antioksidan dari berbagai jenis *Curcuma* antara lain penelitian (Suena, Suradnyana, & Juanita, 2021), menyatakan bahwa aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak kunyit kuning (*Curcuma longa* L.) dan kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) dengan nilai IC_{50} sebesar 13,056 $\mu\text{g/L}$. Penelitian yang dilakukan (Pratiwi & Wardaniati, 2019), menyatakan bahwa aktivitas antioksidan kunyit (*Curcuma domestica*) diperoleh nilai IC_{50} sebesar 46,7686 $\mu\text{g/L}$. Penelitian (Devi, Mazumder, & Devi, 2015), aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal wilayah Nambol diperoleh IC_{50} sebesar 418 $\mu\text{g/L}$. Perbedaan mendasar pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu pada lokasi pengambilan sampel, dimana kondisi tempat tumbuh kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) seperti curah hujan, lama paparan sinar matahari, pH air, kadar garam dan suhu akan mempengaruhi kandungan metabolit pada tumbuhan (Sufardi, 2020)

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu berapakah kadar fenolik total ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dan apakah ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan metode DPPH. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan kadar fenolik total dan untuk menentukan nilai IC_{50} ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) asal Kabupaten Bone terhadap radikal bebas DPPH.

METODE PELAKSANAAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia dan Laboratorium Analisis Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar pada bulan Mei-Juni 2023.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu desikator, erlenmeyer, gelas kimia (pyrex), labu tentukur (pyrex), mikro pipet, neraca analitik, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, timbangan digital dan wadah maserasi.

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Pengambilan sampel kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) di Desa Lemo, Kecamatan Kajuara, Kabupaten Bone dengan cara mengambil kunyit hitam kemudian dibersihkan menggunakan air mengalir. kunyit yang telah dibersihkan kemudian dipotong kecil-kecil, ditimbang lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari selama 3 hari. Setelah itu ditimbang lalu diserbukkan hingga didapatkan simplisia kemudian diayak menggunakan mesh 40.

Ekstraksi Kunyit Hitam

Serbuk simplisia rimpang kunyit hitam ditimbang sebanyak 150 gram dimasukkan dalam wadah maserasi lalu dibasahi dengan etanol 70% terlebih dahulu, ditambah sedikit demi sedikit sampai volume 1500 mL, ditutup dan dibiarkan selama 2 x 24 jam pada temperatur kamar sambil sesekali diaduk, kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh ekstrak cair dan ampas, diulang sebanyak 2 kali. Ekstrak cair digabung dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai dihasilkan ekstrak kental dan ditimbang untuk mengetahui rendamen (Rusman, 2022).

Analisis Senyawa Fenolik

Pembuatan Pereaksi

FeCl_3 ditimbang seberat 0,1 gram, dilarutkan dengan air suling dalam labu tentukur sampai volume 10 mL lalu dihomogenkan,

Na_2CO_3 ditimbang seberat 0,7 gram, dilarutkan dengan air suling dalam labu tentukur sampai volume 10 mL lalu dihomogenkan.

Analisis Kualitatif Senyawa Fenolik

Ekstrak kunyit hitam ditimbang seberat 10 mg, dilarutkan dengan Metanol p.a sampai volume 10 mL, ditambahkan pereaksi FeCl_3 1% sebanyak 3 tetes hingga terjadi perubahan warna menjadi kehitaman menunjukkan mengandung senyawa fenolik.

Analisis Kuantitatif Senyawa Fenolik

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat 1000 ppm

Asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang asam galat sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50 mL sehingga dihasilkan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dipipet masing-masing 0,0025 mL; 0,005 mL; 0,01 mL; 0,02 mL dan 0,04 mL dimasukkan kedalam labu ukur sampai volume 10 mL dan ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* di diamkan selama 8 menit. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 7% 4 mL dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan sehingga diperoleh konsentrasi 0,25 ppm, 0,50 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 764 nm.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Salah satu konsentrasi dari larutan standar asam galat diambil kemudian diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 600-800 nm. Nilai serapan tertinggi yaitu 764 nm yang ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum.

Penetapan Kandungan Senyawa Fenolik Ekstrak Kunyit Hitam

Ekstrak rimpang kunyit hitam ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan hingga 50 mL dengan metanol p.a untuk 1000 ppm. Kemudian dipipet 1 mL dari larutan tersebut untuk 3 replikasi masing-masing, ditambahkan pereaksi *Folin-Ciocalteu* 0,4 mL dan didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 7% 4 mL kocok hingga homogen dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 10 mL selanjutnya didiamkan kurang lebih 2 jam pada suhu ruangan, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 764 nm.

Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH 0,4 Mm

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu tentukur sampai volume 100 mL lalu dihomogenkan.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL, dikocok sampai homogen. Labu tentukur dibungkus dengan aluminium foil dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 505 nm.

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Kunyit Hitam 1000 ppm

Ekstrak Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu tentukur sampai volume 10 mL lalu dihomogenkan.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.)

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) sebagai antioksidan dilakukan dengan dipipet dari larutan stok 1000 ppm masing-masing 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL dan 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur yang dibungkus aluminium foil dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 505 nm.

Pembuatan Larutan Perbandingan Asam Askorbat 1000 ppm

Larutan asam askorbat 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang sebanyak 10 mg asam askorbat dan dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu tentukur sampai volume 50 mL sehingga dihasilkan konsentrasi 1000 ppm. Larutan 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara memipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Perbandingan Asam Askorbat

Pengujian dilakukan dengan memipet larutan stok asam askorbat masing-masing 0,025 mL, 0,005 mL; 0,01 mL; 0,02 mL dan 0,04 mL kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 Mm dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 10 ML kemudian didamkan selama 30 menit pada suhu ruangan sehingga diperoleh konsentrasi larutan perbandingan asam askorbat berturut-turut 0,25 ppm, 0,50 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didamkan selama 30 menit, Selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 505 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) yang diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kadar fenolik total dan menentukan nilai IC_{50} ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dengan metode DPPH (Rusman, Syamsu & Gaffar, n.d.).

Ekstraksi rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penyarian senyawa dengan maserasi yaitu ketika perendaman simplisia akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel sehingga metabolit sekunder akan terlarut dalam pelarut. Ekstrak hasil maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 48,12 g dengan rendamen 28,08%. Pengukuran kadar fenolik total ekstrak etanol menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 764 nm. Asam galat digunakan sebagai larutan perbandingan karena asam galat merupakan turunan dari asam hidroksi benzoat yang tergolong senyawa fenolik sederhana dan juga berfungsi sebagai standar substansi yang stabil. Asam galat bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning menandakan mengandung senyawa fenolik. Na_2CO_3 berperan sebagai pemberi suasana basa dimana senyawa fenolik pada sampel bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu sehingga terjadi perubahan warna menjadi biru (Lee dkk., 2003; Vermerris, 2006).

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70% rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.)

Kode sampel	λ 764 nm	FP	Polifenol terukur (ppm)	Massa Sampel (g)	Volume larutan sampel (L)	mg ekivalen asam galat/g sampel	Kadar Polifenol (%)
Simplo	0,528	10	123,2219	0,05	0,01	24,6443	2,464
Duplo	0,539	10	125,8472	0,05	0,01	25,1694	2,516
Triplo	0,543	10	126,8019	0,05	0,01	25,3603	2,536

Hasil analisis kadar fenolik total ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 764 nm diperoleh kadar rata-rata 25,058 mg ekivalen asam galat/g sampel. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Devi dkk., (2015) kandungan fenolik total ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) diperoleh kadar sebesar 68,64 mg ekivalen asam galat/g sampel. Perbedaan kadar kandungan senyawa fenolik total yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya kemungkinan disebabkan karena perbedaan lokasi pengambilan sampel dimana kondisi tempat tumbuh seperti curah hujan, paparan sinar matahari, pH tanah, kadar garam dan suhu dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit pada tanaman (Supardi, 2020) Pengujian antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 505 nm. Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana dan murah untuk mengukur kemampuan senyawa antioksidan. Prinsip kerja metode DPPH melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas DPPH untuk mendapatkan pasangan elektron. Larutan DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan pada sampel ditandai terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi warna kuning (Molyneux, 2004).

Tabel 2. Rata-rata Nilai IC50 Ekstrak Etanol rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.)

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Nilai Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)
56,477	57,098	56,180	56,630 \pm 0,468

Tabel 3. Rata-rata Nilai IC₅₀ Asam Askorbat

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Nilai Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)
1,602	1,519	1,702	1,607 \pm 0,0916

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone dengan metode DPPH menggunakan metode ekstraksi secara maserasi diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 56,630 \pm 0,468 $\mu\text{g/mL}$ dan perbandingan asam askorbat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,607 \pm 0,0916 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Devi dkk., (2015) menggunakan metode sokletasi pada ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dengan metode DPPH diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 418 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode ekstraksi yang berbeda dapat mempengaruhi nilai IC₅₀ suatu sampel. Faktor lain yang mempengaruhi nilai aktivitas antioksidan yaitu lokasi pengambilan sampel dan lama waktu ekstraksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Bone memiliki kandungan fenolik total sebesar 25,058 mg ekuivalen asam galat/g sampel dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 56,630 \pm 0,468 $\mu\text{g/mL}$. Kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) 0,028 kali asam askorbat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,607 \pm 0,0916 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Baghel, S. S., Baghel, R. S., Sharma, K., & Sikarwar, I. (2013). Pharmacological activities of *Curcuma caesia*. *International Journal of Green Pharmacy*, 7(1), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.111590>
- Devi, H. P., Mazumder, P. B., & Devi, L. P. (2015). Antioxidant and antimutagenic activity of *Curcuma caesia* Roxb. rhizome extracts. *Toxicology Reports*, 2, 423–428. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.12.018>
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Pratiwi, D., & Wardaniati, I. (2019). Pengaruh Variasi Perlakuan (Segar dan Simplisia)

- Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenol Total. *Jurnal Farmasi Higea*, 11(2), 159–165.
- Rusman, syamsu, a. S. I., & gaffar, s. W. (n.d.). *The acute toxicity test on ethanol extract of camandrah clika (croton tiglium l .) Against artemia salina leach larvae with the brine shrimp lethality test method uji toksisitas akut ekstrak etanol klika kamandrah (croton tiglium l .) Terhadap larva art.* 1(3), 85–90.
- Rusman, A. I. (2022). Volume 4 Nomor 2 Pengaruh Pemberian Hard Candy dari Infusa Kopi Hijau Robusta (*Coffea canefora* L.) Pada Pasien Diabetes Mellitus. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(October 2020). Retrieved from <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr>, E-DOI:<https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14183>
- Suena, N. M. D. S., Suradnyana, I. G. M., & Juanita, R. A. (2021). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Granul Effervescent Dari Kombinasi Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria*) Dan Kunyit Kuning (*Curcuma longa* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(1), 32–40. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i1.1498>
- Sufardi, S. (2020). *Pertumbuhan tanaman*. (May).
- Yadav, M., & Saravanan, K. K. (2019). Phytochemical Analysis and Antioxidant Potential of Rhizome Extracts of *Curcuma amada* Roxb and *Curcuma caesia* Roxb. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(5), 123–126. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i5.3609>
- Vermerris, Wand, N. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer. The Netherlands.