

Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Curcuma caesia* Roxb by DPPH Method

*Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kunyit Hitam (*curcuma caesia* Roxb) dengan Metode DPPH*

Sri Kartini*, Fitri Yusnita, Nadya Putri Auliya Serawaldi

Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrab, Pekanbaru, Indonesia

ABSTRACT

Black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb) comes from the Zingiberaceae family and is one of the natural antioxidant plants capable of combating free radicals. This study aims to determine the secondary metabolite compounds and antioxidant activity test of black turmeric ethanol extract. Extraction was carried out using 96% ethanol solvent by maceration method, secondary metabolite analysis by phytochemical screening method, and antioxidant activity test using DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with ascorbic acid as a comparator. The instrument used was a microplate reader with a maximum measurement wavelength of 520 nm. The parameter used to determine antioxidant activity is IC₅₀ (Inhibition concentration). In this study, the results of phytochemical screening test on black turmeric positively contained alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids. The antioxidant activity test results of black turmeric ethanol extract (*Curcuma caesia* Roxb) as a sample obtained an IC₅₀ value of 124.33 ppm, while ascorbic acid as a comparator had an IC₅₀ value of 2.49 ppm. Based on these IC₅₀ values, black turmeric ethanol extract has moderate antioxidant activity and ascorbic acid has very strong activity.

Keywords: *Black turmeric, Curcuma caesia* Roxb, antioksidan, asam askorbat, DPPH

ABSTRAK

Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) berasal dari famili *Zingiberaceae* dan merupakan tumbuhan dengan antioksidan alami yang mampu menangkal radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan cara maserasi, dilanjutkan dengan skrining fitokimia dan penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan vitamin c sebagai pembanding. Alat yang dipakai dalam pengukuran ini adalah microplate reader, yang bekerja pada panjang gelombang maksimum 520 nm. Untuk menilai aktivitas antioksidan, digunakan parameter IC₅₀ (konsentrasi penghambatan). Pada penelitian ini didapatkan hasil dari uji skrining fitokimia pada kunyit hitam positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) sebagai sampel memiliki nilai IC₅₀ sebesar 124,33 ppm dan asam askorbat sebagai pembanding memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2,49 ppm. Berdasarkan nilai IC₅₀ tersebut maka ekstrak etanol kunyit hitam memiliki kekuatan aktivitas antioksidan kategori sedang dan asam askorbat memiliki aktivitas sangat kuat.

Kata kunci: Kunyit hitam, *Curcuma caesia* Roxb, antioksidan, asam askorbat, DPPH

*Corresponding Author: Sri Kartini

Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrab, Pekanbaru, Indonesia

Email: sri.kartini10@univrab.ac.id

Pendahuluan

Radikal bebas adalah molekul yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Molekul-molekul ini bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk membentuk pasangan elektron agar mencapai kestabilan. Antioksidan adalah senyawa yang penting untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Mereka bekerja dengan melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai yang menghasilkan lebih banyak radikal bebas (Setiawan *et al.*, 2018).

Salah satu tanaman yang dikenal memiliki manfaat kesehatan adalah kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb), yang merupakan bagian dari famili *Zingiberaceae*. Di Indonesia, kunyit hitam cukup populer di kalangan masyarakat. Tanaman ini menunjukkan berbagai aktivitas yang bermanfaat untuk beberapa penyakit, dan banyak penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi kandungan fitokimianya. Penelitian ini masih terus dikembangkan (Baghel *et al.*, 2013; Udayani, 2022). Kandungan fitokimia dalam kunyit hitam meliputi karbohidrat, protein, asam amino, steroid, glikosida, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Beberapa studi telah meneliti efek kunyit hitam, seperti aktivitas antibakteri (Janetha, Arifian, & Rijai, 2016), aktivitas farmakologi (Baghel *et al.*, 2013), serta sifat antimutagenik dan antioksidan (Devi, Mazumder, & Devi, 2015).

Penelitian oleh Mangla, Shuaib, Jainender, dan Kashyap pada tahun 2010 menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari rimpang *Curcuma caesia* Roxb yang berasal dari Jabalpur, India, memiliki nilai IC50 sebesar 862,35 µg/mL, yang dikategorikan sebagai aktivitas sedang. Standar IC50 dari Butylated Hydroxytoluene yang digunakan dalam penelitian ini adalah 46,25 µg/mL (Jain & Ram-eesh, 2010). Studi ini juga melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol kunyit hitam dan mengukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Sampel kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) didapatkan dari KH Garden Pekanbaru Jl. Keliling, Tengkerang Tim., Kec Tenayan Raya, Kota Pekanbaru, Riau, kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Taksonomi FMIPA Universitas Riau.

Alat yang digunakan yaitu Timbangan analitik, aluminium foil, labu ukur, pipet tetes, corong, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung, batang pengaduk, botol gelap, mikro pipet, kertas saring, beaker glass, *rotary evaporator*, microplate reader. Bahan yang digunakan pada penelitian ekstrak etanol 96% kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb), etanol 96%, asam sulfat (H₂SO₄), HCl 10%, FeCl₃ 10%, asam asetat glasial (CH₃COOH), *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), aquadest, Vitamin C.

Persiapan sampel

Proses pembuatan simplisia merujuk pada metode yang diuraikan oleh Das *et al.* (2013). Sebanyak 6 kg rimpang kunyit hitam dicuci bersih dengan air dan kemudian ditiriskan. Setelah itu, rimpang dipotong-potong menjadi bagian-bagian kecil. Potongan-potongan rimpang ini kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, ditutup kain hitam, dan dibiarkan mengering pada suhu ruangan hingga benar-benar kering. Setelah kering, rimpang tersebut digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus dan kemudian diayak.

Proses pembuatan ekstrak etanol mengikuti prosedur dari Susiloningrum & Mawarni (2022). Sebanyak 500 gram serbuk simplisia rimpang kunyit hitam ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah gelap yang tertutup rapat. Serbuk ini kemudian direndam dalam etanol 96% sebanyak 2,5 liter dengan rasio 1:4 selama tiga hari berturut-turut. Setiap 24 jam, campuran ini disaring dan pelarut etanol diganti dengan yang baru dalam jumlah yang sama, menghasilkan tiga filtrat yang berbeda: filtrat I, II, dan III. Filtrat yang terkumpul kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan kecepatan 100 rpm hingga diperoleh ekstrak yang pekat.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia uji Alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, triterpenoid dan saponin mengikuti (Kilis, Karauwan, Sambou, & Lengkey, 2022).

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,2 gram ekstrak kental kunyit hitam dilarutkan dalam 2 mL pelarut, lalu ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL amonia. Setelah disaring, filtrat diberi 3-5 tetes H₂SO₄ pekat dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke tiga tabung reaksi (masing-masing 2,5 mL). Setiap

larutan ditambahkan 4-5 tetes reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Endapan putih, merah jingga, atau coklat menunjukkan adanya alkaloid (Kilis et al., 2022).

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,2 gram ekstrak kental kunyit hitam dilarutkan dalam 2 mL pelarut. Kemudian, ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, dan disaring. Filtrat sebanyak 5 mL dicampur dengan 0,005 gram serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat, lalu dikocok. Kehadiran warna merah, kuning, atau jingga menunjukkan hasil positif (Kilis et al., 2022).

c. Uji Tanin

Sebanyak 0,2 g sampel ekstrak kental kunyit hitam dilarutkan dalam 2 mL. ditambahkan dengan 10 tetes FeCl₃ 10%. Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Kilis *et al.*, 2022).

d. Uji Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 0,2 g sampel ekstrak kental kunyit hitam dilarutkan dalam 2 mL. ditambahkan dengan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Uji positif Steroid jika menghasilkan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid menghasilkan warna merah atau ungu (Kilis *et al.*, 2022).

e. Uji Saponin

Sebanyak 0,2 g sampel ekstrak kental kunyit hitam dilarutkan dalam 2 mL. ditambahkan dengan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil selama kurang lebih 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Kilis *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengikuti metode yang dijelaskan oleh Surya, Jose, & Teruna (2013). Pengujian ini dilakukan menggunakan microplate reader dan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) pada panjang gelombang 520 nm. Plat microplate memiliki barisan A-H dengan masing-masing baris terdiri dari 12 sumur. Pada baris B hingga H, setiap sumur diisi dengan 50 µl etanol. Baris A diisi dengan 100 µl sampel dengan konsentrasi awal 1000 ppm. Dari baris A, 50 µl sampel dipindahkan ke baris B untuk menghasilkan konsentrasi 500 ppm. Proses ini dilanjutkan dengan mengambil 50 µl dari baris B ke baris C untuk mendapatkan konsentrasi 250 ppm. Lalu, 50 µl dari baris C dipindahkan ke baris D untuk mendapatkan konsentrasi 125 ppm. Dari baris D, 50 µl sampel dipindahkan ke baris E, menghasilkan konsentrasi 62,5 ppm. Kemudian, 50 µl dari baris E dipindahkan ke baris F untuk mencapai konsentrasi 31,25 ppm. Sampel dari baris F dipipet sebanyak 50 µl dan kemudian dibuang. Selanjutnya, 80 µl larutan DPPH ditambahkan ke setiap sumur dari baris A hingga G. Campuran ini kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit. Setelah inkubasi, absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm menggunakan microplate reader. Untuk kontrol negatif, digunakan 80 µl larutan DPPH dengan konsentrasi 80 ppm, sedangkan untuk blanko, digunakan 50 µl etanol. Sebagai kontrol positif, asam askorbat digunakan dengan konsentrasi yang bervariasi, yaitu 100 ppm (A), 50 ppm (B), 25 ppm (C), 12,5 ppm (D), 6,25 ppm (E), dan 3,125 ppm (F), mengikuti prosedur yang sama seperti sampel. Data dari uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kunyit hitam dianalisis berdasarkan persentase inhibisi radikal DPPH dan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari persamaan regresi linier.

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Perhitungan IC₅₀ melalui persamaan regresi linear $y = bx + a$, yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa ekstrak dan Vitamin C

Hasil dan Pembahasan

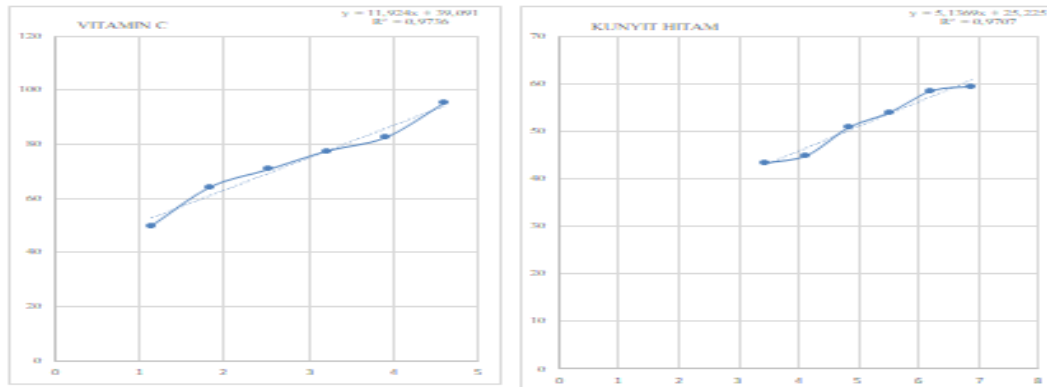
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan persentasi rendemen ekstrak etanol sebanyak 5,457%. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel II dibawah ini.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol kunyit hitam

No	Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	Dragendrof	Positif (+)	Terbentuk endapan merah jingga
		Mayer	Negatif (-)	Tidak terbentuk endapan putih
		Wagner	Positif (+)	Terbentuk edapan coklat
2	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Positif (+)	Terbentuk warna jingga
3	Tanin	FeCl ₃ 10%	Positif (+)	Terbentuk warna hitam/ hijau kehitaman
4	Steroid/Triterpenoid	CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ Pekat	Positif (+)	Terbentuk warna merah atau ungu
5	Saponin	HCl	Positif (+)	Terbentuk busa, setelah ditambah HCl busa tidak hilang

Kandungan kimia dalam penelitian ini mirip dengan penelitian Shilat, Fadraersada, & Rijai (2017) dan Kartini *et al* (2023) dimana ekstrak etanol 70% mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Penentuan Aktifitas antioksidan sampel dilakukan dengan membuat kurva hubungan antar persen inhibisi (Y) dengan konsentrasi (In Kons) kunyit hitam dan vitamin C dapat dilihat pada gambar dibawah ini. Hasil uji aktifitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

Kurva hubungan antara % inhibisi (Y) dengan konsentrasi (In Kons) Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb) dan Vitamin C



Gambar 1. Kurva hubungan antara persen inhibisi (Y) dengan konsentrasi (In Kons) Kunyit hitam dan vitamin C

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan kunyit hitam

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Pengulangan			Persen Inhibisi	IC ₅₀	Kesimpulan
		1	2	3			
Kunyit Hitam	1000	0,181	0,187	0,188	59,4339	124,33µg/mL	Sedang
	500	0,187	0,191	0,188	58,4905		
	250	0,202	0,200	0,212	53,9622		
	125	0,207	0,227	0,214	50,7547		
	62,5	0,233	0,237	0,240	44,9056		
	31,25	0,223	0,239	0,265	43,3018		
Asam	100	0,065	0,075	0,072	95,3013	2,49µg/mL	Sangat

(DPPH-H). Sementara itu, saponin dikenal memiliki aktivitas antioksidan karena kemampuannya meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida, yang mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas. Triterpenoid, menurut penelitian (Kusuma, 2015), memiliki aktivitas antioksidan karena termasuk dalam golongan senyawa fenolik yang mengandung gugus OH yang terikat langsung pada cincin hidrokarbon aromatik. Flavonoid, juga menurut Kusuma (2015), bertindak sebagai antioksidan dengan cara langsung mendonorkan ion hidrogen untuk menetralsir efek toksik dari radikal bebas.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kunyit hitam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponi, terpenoid dan tanin dan aktifitas antioksidan katagori sedang dengan nilai IC₅₀ yaitu 124,33 µg/ml (sedang)

Referensi

- Baghel, S.S., Baghel, R.S., Sharma, K. and Sikarwar, I., 2013. Pharmacological activities of *Curcuma caesia*. *International Journal of Green Pharmacy*, 7(1), pp.1–5. Available at: <https://doi.org/10.4103/0973-8258.111590> [Accessed 28 June 2024].
- Das, S., Islam, M. and Rahman, M., 2013. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Alkaloid, Flavonoid dan Tanin) pada Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.). *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6(1), pp.2088–2093.
- Devi, H.P., Mazumder, P.B. and Devi, L.P., 2015. Antioxidant and antimutagenic activity of *Curcuma caesia* Roxb. rhizome extracts. *Toxicology Reports*, 2, pp.423–428. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.12.018> [Accessed 28 June 2024].
- Hidayah, T., Pratjojo, W. and Widiarti, N., 2014. Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Ekstrak Zat Warna Alami Kulit Buah Naga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 3(2), pp.135–140
- Jain, J. and Ram-eesh, I., 2010. Evaluasi in-vitro aktivitas antioksidan *Curcuma caesia* Roxb.
- Janetha, A.D., Arifian, H. and Rijai, L., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*.
- Kartini, S., Juariah, S., Mardhiyani, D., Bakar, M.F.A., Bakar, F.I.A. and Endrini, S., 2023. Phytochemical Properties, Antioxidant Activity and α -Amilase Inhibitory of *Curcuma Caesia*. *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology*, 30(1), pp.255–263. Available at: <https://doi.org/10.37934/araset.30.1.255263> [Accessed 28 June 2024].
- Kilis, T.N.I.M., Karauwan, F.A., Sambou, C.N. and Lengkey, Y.K., 2022. Biofarmasetikal Tropis. *Biofarmasetikal Tropis*, 5(2), pp.119–126.
- Kusuma, A.S.W., 2015. The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. *J Majority*, 4(3), pp.14–18.
- Lau, S.H.A., Kadang, Y. and Anggraeni, H., 2022. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1 Diphenyl-2- picrylhidrazyl) pada Fraksi Etil Asetat Kunyit Hitam (*Curcuma caesia*). *Jurnal Farmasi Sandi Karsa (JFS)*, 8(1), pp.123–131. Available at: <https://doi.org/10.36060> [Accessed 28 June 2024].

- Molyneux, P., 2003. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 50(June 2003), pp.211–219.
- Purwanto, D., Bahri, S. and Ridhay, A., 2017. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH PURNAJIWA (*Kopsia arborea* Blume.) DENGAN BERBAGAI PELARUT. *Kovalen*, 3(1), pp.24. Available at: <https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i1.8230> [Accessed 28 June 2024].
- Puspitasari, L. and Rijai, L., 2018. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). *Sainstech Farma*, 11(1), pp.18–24.
- Setiawan, F., Yunita, O. and Kurniawan, A., 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), pp.82–89.
- Shilat, J.F., Fadraersada, A. and Rijai, L., 2017. Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*curcuma caesia*) Secara In-Vitro. *Laboratorium Penelitian Dan Pengembangan Farmaka Tropis*, (April 2017), pp.23–24.
- Sulandi, A.R.S. and Wahdaningsih, S., 2013. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOOROFORM BUAH LAKUM (*Cayratia trifolia*) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). 66, עילון דגניטע (1997), pp.37–39.
- Surya, A., Jose, C. and Teruna, H.Y., 2013. Studi Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Pada Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus amboinicus*). *Jurnal ICA (Indonesian Chemia Acta)*, 4(1), pp.12–16.
- Susiloningrum, D. and Mawarni, I., 2022. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antipiretik Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Yang Diinduksi Vaksin DPT-HB Pada Tikus Putih. *Sains Medisina*, 1(2), pp.61–67.
- Udayani, N.N.W., 2022. Emasains. *Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains*, 11(1), pp.54–62.
- Udayani, N.N., Adrianta, K.A. and Wardani, I.G.A.K., 2022. Antioxidant Activity of Ethanol and Methanol Extracts of Black Turmeric (*Curcuma Caesia* Roxb.) Using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Science Midwifery*, 10(5), pp.4342–4349. Available at: <https://doi.org/10.35335/midwifery.v10i5.990> [Accessed 28 June 2024].