

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG
KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia Roxb.*) ASAL LUWU
UTARA DENGAN METODE DPPH**

Tahirah Hasan¹, Nur Ida², Zepti Firgiana Qifni³

^{1,2,3} Universitas Islam Makassar

Email Korespondensi : tahirah.dty@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

senyawa flavanoid yang diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk menentukan golongan senyawa kimia dan menentukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol rimpang kunyithitam (*Curcuma caesia Roxb.*) asal Luwu Utara dengan metode DPPH. Metode penelitian meliputi ekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70%. Skrining fitokimia menggunakan pereaksi spesifik dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 515 nm. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam mengandung senyawa golongan flavanoid, alkaloid, tanin dan triterpenoid. Hasil uji aktivitas antioksidan Ekstrak etanol rimpang kunyit hitam(*Curcuma caesia Roxb.*) mengandung menunjukkan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam(*Curcuma caesia Roxb.*) memiliki nilai IC₅₀ sebesar $108,8304 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$ dan asam askorbat sebesar $2,39 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$.

Kata kunci:Antioksidan; *Curcuma caesia Roxb.*; DPPH; Skrining Fitokimia

**PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT
ACTIVITY TESTS OF BLACK TURMERIC RHIZOME
ETHANOL EXTRACT (*Curcuma caesia Roxb.*) FROM LUWU
UTARA WITH THE DPPH METHOD**

ABSTRACT

The ethanol extract of black turmeric (*Curcuma caesia Roxb.*) contains flavonoids compounds which are thought to have antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the class of chemical compounds and determine the IC₅₀ value of the ethanol extract of black turmeric (*Curcuma caesia Roxb.*) rhizome from North Luwu using the DPPH method. The research method included extraction by maceration using 70% ethanol solvent. Phytochemical screening using specific reagents and antioxidant activity testing using the DPPH method using a visible spectrophotometer at a wavelength of 515 nm. The results of the phytochemical screening showed that the ethanol extract of black turmeric rhizome contained flavonoids, alkaloids, tannins and triterpenoids. The results of the antioxidant activity test showed that the ethanol extract of black turmeric (*Curcuma caesia Roxb.*) rhizome had an IC₅₀ value of $108.8304 \pm 1.24 \mu\text{g/mL}$ and ascorbic acid of $2.39 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$.

Keywords: Antioxidants; *Curcuma caesia Roxb.*; DPPH; Phytochemical Screening

PENDAHULUAN

Dewasa ini dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar pola kehidupan manusia telah mengalami perubahan seiring dengan perkembangan zaman. Pola hidup yang sangat berubah adalah gaya hidup termasuk pola makan. Pola makan yang tidak sehat disertai sering terpaparnya zat bahaya dari polusi lingkungan, limbah industri asap rokok dan asap kendaraan yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit yang diawali oleh reaksi oksidasi berlebihan dalam tubuh manusia. Reaksi ini dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Irianti dan Nuranto, 2021; Yunanto dkk., 2009; Yuslanti, 2018).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan tidak stabil. Radikal bebas memiliki sifat reaktivitas yang tinggi sehingga dapat menarik elektron senyawa makromolekuler yaitu lipid, protein, maupun DNA. Hal tersebut menyebabkan terbentuknya radikal bebas berantai yang mengakibatkan

kerusakan sel. Radikal bebas dapat direndam dengan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas (Erlidawati dan Safrida, 2018; Irianti dan Nuranto 2021; Yunanto dkk., 2009).

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.). Beberapa senyawa bioaktif rimpang kunyit hitam adalah flavanoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan fenol. Senyawa bioaktif tersebut dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi, antioksidan dan antimikroba. Rimpang kunyit hitam dalam pengobatan digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti epilepsi, asma demam, maag, kista dan kanker (Baghel dkk, 2013; Paw dkk, 2019; Pakkirisamy, 2014; Sudewo, 2011).

Beberapa penelitian dari tanaman *Curcuma caesia* Roxb. diantaranya, Sdedi dkk (2016) meneliti tentang aktivitas antibakteri rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Paw dkk (2019) meneliti tentang kandungan senyawa minyak atsiri rimpang kunyit

hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) yang menunjukkan aktivitas antioksidan antiinflamasi dan aktivitas antimikroba. Yadav dan Saravanan (2019) meneliti tentang analisis fitokimia dan potensi antioksidan ekstrak rimpang *Curcuma caesia* Roxb. Pakkirisamy dkk (2014) meneliti tentang skrining fitokimia dengan menggunakan metode GC-MS dan analisis FT-IR ekstrak metanol kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.).

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam menentukan golongan senyawakimia.

Skrining fitokimia penting untuk dilakukan untuk mendapatkan informasi awal dalam mengetahui kandungan senyawa kimia di dalam suatu tumbuhan (Endarini, 2016).

Karmakar dkk (2011) mengungkapkan bahwa ekstrak kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal India memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $94,03 \pm 0,67 \mu\text{g/mL}$. Penelitian (Devi, Mazumder, and Devi 2015) pada fraksi eksrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal wilayah Nambol India diperoleh $IC_{50} 418 \mu\text{g/mL}$.

Perbedaan tempat tumbuh merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan perbedaan kadar

kandungan senyawa aktif, maka pada penelitian ini akan dilakukan skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Indonesia Kabupaten Luwu Utara dengan metode DPPH.

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Kabupaten Luwu Utara memiliki golongan senyawa yang sama dengan rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) sebelumnya asal India dan apakah memiliki aktivitas antioksidan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan golongan senyawa kimia yang terdapat pada rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dan untuk menentukan nilai IC_{50} ekstrak etanol rimpang kunyit hitam Asal Kabupaten Luwu Utara.

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah untuk menambah pengetahuan tentang kandungan senyawa kimia dan untuk menambah data ilmiah tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) yang dapat memiliki nilai manfaat sebagai alternatif obat-obatan alami.

METODE PENELITIAN

A. Pengambilan Sampel

Penelitian telah dilakukan pada bulan Agustus 2022 di laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Islam Makassar dan laboratorium Biokimia Departemen Kimia Universitas Hasanuddin.

B. Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan, gelas erlenmeyer (pyrex), gelas piala/beker gelas (pyrex), gelas ukur (pyrex), labu tentukur (pyrex), pipet mikro (toppette pipettor), pipet volume (pyrex) , *rotary evaporator*(DP IKA RV 10), rak tabung reaksi, spektrofotometerUV-Vis(T60 Pg Instrumen), timbangan analitik (GM Elektronicscale), tabung reaksi (iwaki) dan wadah maserasi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air suling, asam asetat anhidrat ($C_4H_6O_3$), asam askorbat ($C_6H_8O_6$), asam klorida (HCl), asam nitrat (HNO_3), asam sulfat (H_2SO_4), besi (III) klorida ($FeCl_3$), bismut (III) nitrat ($Bi(NO_3)_3$), difenil pikrilhidrazil (DPPH), etanol (C_2H_5OH), pereaksi Dragendorff, pereaksi Lieberman Burchard, pereaksi Mayer, kalium iodida (KI), magnesium (Mg), merkuri (II) klorida ($HgCl_2$), metanol (CH_3OH), dan rimpang kunyit hitam

(*Curcuma caesia* Roxb.).

C. Penyiapan Sampel

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) yang diperoleh dari Kelurahan Bone Tua Kasimbong, Kecamatan Masamba, Kabupaten Luwu Utara, Provinsi Sulawesi Selatan, titik koordinat Lintang Selatan (S) -2.551335°, Bujur Timur (E) 120.335648° yang berusia 9–12 bulan dengan ukuran 5–7 cm. Identifikasi dan determinasi tanamankunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) telah dilakukan di laboratorium Botani Departemen Biologi Universitas Hasanuddin dengan nomor surat 031/UN4.11.9/BIO-BOT/PL-03/2022.

2. Pengolahan Sampel

Rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) yang telah dikumpulkan, disortasi basah dan dicuci bersih dengan menggunakan air yang mengalir lalu ditimbang.

Sampel dirajang dan keringkan dengan sinar matahari langsung dan ditutup kain. Dilakukan sortasi kering dengan cara menyeleksi pengotor yang mungkinterikut, lalu selanjutnya dilakukan proses penghalusan dengan menggunakan blender, penggunaanya di atas sehingga tidak membentuk serbuk yang lebih halus

selanjutnya diayak menggunakan pengayakan mesh 40 lalu ditimbang (Depkes RI 1985; Direktorat Jendral Pengawas Obat dan makanan, 2017).

D. Prosedur Kerja

1. Proses Ekstraksi Sampel

Serbuk simplisia kunyit hitam ditimbang sebanyak 250 g kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan 500 mL pelarut etanol 70% untuk membasahkan, didiamkan beberapa menit hingga terbasahi semua, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL hingga simplisia tersebut terendam sempurna kurang lebih 2 cm di atas sampel, dan dibiarkan selama 48 jam dalam wadah tertutup dan terlindung dari sinar matahari dan sesekali diaduk, lalu disaring. Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental dan ditimbang untuk mengetahui rendemennya.

2. Uji Kualitatif

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1. Pereaksi Dragendorff

Bismut (III) nitrat ditimbang sebanyak 4 gram kemudian dilarutkan dengan 10 mL asam nitrat

(larutan A). Kalium iodida ditimbang sebanyak 13,6 g kemudian dilarutkan dengan 25 mL air suling (larutan B). Campurkan larutan A dan B, didiamkan sampai terjadi pemisahan. Diambil cairan jernih lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL dan dicukupkan volumenya (Mulyono, 2005).

2. Pereaksi Mayer

Merkuri (II) klorida ditimbang sebanyak 0,679 g kemudian dilarutkan dengan air suling sampai volume 30 mL (larutan A). Kalium iodida ditimbang sebanyak 2,5 g kemudian dilarutkan dalam 5 mL air suling (larutan B). Larutan A dituang ke dalam larutan B, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas (Mulyono, 2005).

3. Pereaksi Besi (III) klorida 1% (FeCl_3)

Besi (III) klorida ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan air suling dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas (Ditjen POM, 1979).

4. Larutan HCl 2 N

Asam klorida 37% dipipet sebanyak 16,58 mL kemudian diencerkan dengan air suling dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga tandabatas (Ditjen POM, 1979).

b. Skrining Fitokimia**1. Uji Flavanoid**

Ekstrak rimpang kunyit hitam dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan 6 tetes HCl pekat dan 0,1 gram serbuk magnesium lalu dikocok perlahan, jika terjadi warna merah, orange dan hijau menunjukkan adanya senyawa flavanoid (Endarini, 2016).

2. Uji Alkaloid

Ekstrak rimpang kunyit hitam dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 mL asam klorida 2 N kemudian diuji dengan pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan berwarna kuning dengan pereaksi Mayer, dan endapan berwarna merah dengan pereaksi Dragendorff (Depkes RI, 1995;Endarini, 2016).

3. Uji Saponin

Ekstrak rimpang kunyit hitam dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 0,1 mL air panas, selanjutnya dikocok selama 1 menit dan ditambahkan 0,1 mL HCl 2 N. Jika terbentuk busa yang menunjukkan positif mengandung senyawasaponin (Harborne, 1987).

4. Uji Tanin

Ekstrak rimpang kunyit hitam dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan 0,5 mL larutan FeCl_3 1%. Jika terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua menunjukkan positif mengandung tanin (Harborne, 1987).

5. Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak rimpang kunyit hitam dipipet sebanyak 3 mL, ditambahkan 0,5 mL Lieberman Burchard. Reaksi positif apabila terbentuk cincin berwarna coklat kemerahan menunjukkan adanya terpenoid dan reaksi positif apabila terbentuk cincin berwarna biru atau hijau yang menunjukkan adanya steroid (Depkes RI, 1979).

3.Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode Difenil Pikrilhidrazil (DPPH)**a. Pembuatan Larutan Difenil Pikrilhidrazil (DPPH)**

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH

sebanyak 0,0157 gram, dilarutkan dengan sedikit metanol p.a dalam gelas kimia kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, lalu dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

b. Penentuan Panjang Gelombang

Maksimum (λ maks)

Larutan DPPH 0,4 mM dipipet 1 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil kemudian dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas, dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–800 nm. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum, sehingga diperoleh panjang gelombang 515 nm.

c. Pengukuran Aktivitas Radikal Bebas DPPH

DPPH 0,4 mM dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol p.a

hingga tanda batas, dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan

Spektrofotometervisibelpada panjang gelombang 515 nm. Sehinggadiperoleh absorbansi blanko.

d. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 500 μ g/mL

Ditimbang ekstrak etanol rimpang kunyit hitam sebanyak 0,005 gram. Larutkan dengan metanol p.a dalam gelas kimia sambil dihomogenkan lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas ekstrak rimpang kunyit hitam sebagai antioksidan dilakukan dengan memipet larutan stok 500 μ g/mL masing-masing 0,05 mL, 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, dan 1,6 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil, lalu ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas, diperoleh konsentrasi 5 μ g/mL, 10 μ g/mL, 20 μ g/mL, 40 μ g/mL, 80

$\mu\text{g/mL}$ dan $160 \mu\text{g/mL}$. Didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 515 nm .

f. Pembuatan Larutan stok Asam Askorbat

Larutan asam askorbat $500 \mu\text{g/mL}$ dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,005 gram. Asam askorbat dilarutkan dengan metanol p.a sambil dihomogenkan, lalu dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL . Larutan asam askorbat $500 \mu\text{g/mL}$ kemudian diencerkan menjadi $50 \mu\text{g/mL}$ dengan cara memipet larutan stok $500 \mu\text{g/mL}$ sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL . Dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

g. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Pengujian aktivitas antioksidan larutan asam askorbat dilakukan dengan memipet larutan stok $50 \mu\text{g/mL}$ masing-masing $0,02 \text{ mL}$, $0,04 \text{ mL}$, $0,08 \text{ mL}$, $0,16 \text{ mL}$ dan $0,32 \text{ mL}$, dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil, lalu

ditambahkan 1 mL DPPH $0,4 \text{ mM}$, dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi $0,2 \mu\text{g/mL}$, $0,4 \mu\text{g/mL}$, $0,8 \mu\text{g/mL}$, $1,6 \mu\text{g/mL}$ dan $3,2 \mu\text{g/mL}$. Ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 515 nm .

E. Analisis Data

Presentase inhibisi ditentukan dengan menggunakan analisis dengan membuat kurva hubungan antara persen hambatan dengan konsentrasi. Data aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dapat dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{(\text{Abs. Blanko} - \text{Abs. Sampel})}{\text{Abs. Blanko}}$$

Abs. Blanko

Keterangan :

Ab = Serapan larutan DPPH dalam metanol

As = Serapan larutan DPPH setelah bereaksi dengan sampel

Nilai IC_{50} dihitung pada saat nilai % peredaman sebesar 50% dengan menggunakan persamaan:

$$y = ax + b$$

Sehingga:

$$IC_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel (50)

a = Titik potong kurva pada sumbu y

(Intercep)

b = kemiringan kurva (Slope)

x = Konsentrasi sampel (IC_{50})

HASILDANPEMBAHASAN

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan sel tubuh. (Erlidawati dan Safrida, 2018). Sampel yang digunakan adalah ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia roxb.*)

Penggunaan metode ekstraksi perlu diperhatikan karena beberapa senyawa rusak dengan suhu tinggi, sehingga metode yang lebih efektif

yaitu maserasi sebagaimana yang telah digunakan dalam penelitian ini. Pelarut etanol 70% digunakan dalam mengekstraksi rimpang kunyit hitam berkaitan dengan senyawa yang akan ditarik yaitu senyawa flavanoid (Julianto, 2018). Ekstrak hasil maserasi diperoleh rendemen sebesar 5,8%. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan.

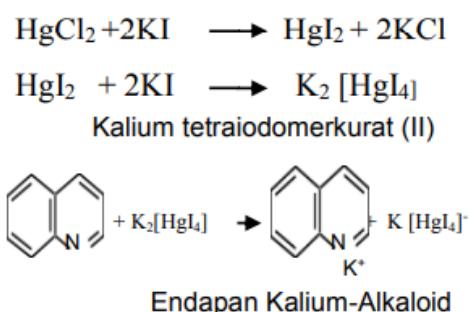
Tabel 1. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa yang Terkandung dalam Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*)

No	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil		Ket
			Teori	Pengamatan	
1	Alkaloid	Dragendorff	Endapan merah	Endapan merah	(+)

		Mayer	Endapan kuning	Endapan kuning	(+)
2	Flavanoid	Serbuk Mg + HCl P	Merah, orange dan hijau	Warna merah	(+)
3	Saponin	Air panas + HCl 2 N	Busa yang stabil selama 7 menit	Tidak terdapat busa	(-)
4	Triterpenoid dan Steroid	Lieberman Burchard	Cincin berwarna coklat kemerahan, cincin biru atau hijau.	Cincin berwarna coklat kemerahan	(+)
5	Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman dan biru tua	Warna hijau kehitaman	(+)

Skrining fitokimia merupakan suatu metode pengujian awal kandungan senyawa aktif dalam upaya untuk mengetahui kegunaan tumbuhan berkaitan dengan efek farmakologi (Endarini, 2016). Penelitian Ariska (2018) bahwa rimpang kunyit (*Curcuma longa*) mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, tanin, polifenol, antrakuinon, saponin triterpenoid dan steroid. Hasil skrining fitokimia ekstrak rimpang kunyit hitam asal Luwu Utara mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, tanin dan terpenoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Pathan (2017) dan Pakkirisamy dkk (2014) bahwa ekstrak rimpang kunyit hitam mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, tanin dan triterpenoid.

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan kuning. Pembuatan pereaksi Mayer, merkurium II klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkurium II iodida. Kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerurat (II). Uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, atom nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (McMurry dan Fay 2004; Svehla, 1990). Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer ditunjukkan pada Gambar 1.



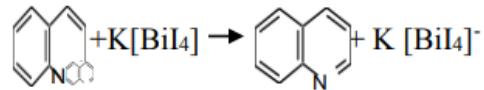
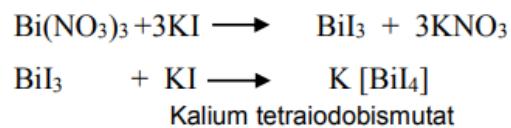
Sumber: McMurry dan Fay 2004
Gambar 1. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan kalium-alkaloid yang berwarna merah. Pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar garam-garam bismut tidak terhidrolisis menjadi ion bismutil (BiO^+). Sebagaimana persamaan reaksinya



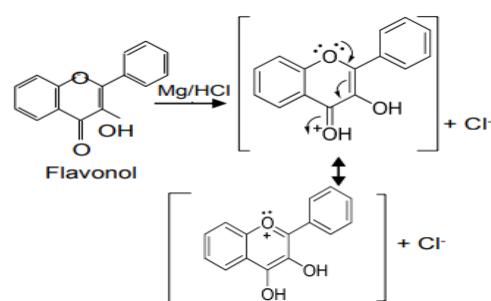
Ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Uji alkaloid dengan pereaksi Drangendorff, atom nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Endarini, 2016; Miroslav, 1971; Svehla, 1990.

Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Drangendorff ditunjukkan pada Gambar 2.



Sumber: Miroslav, 1971
Gambar 2. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff

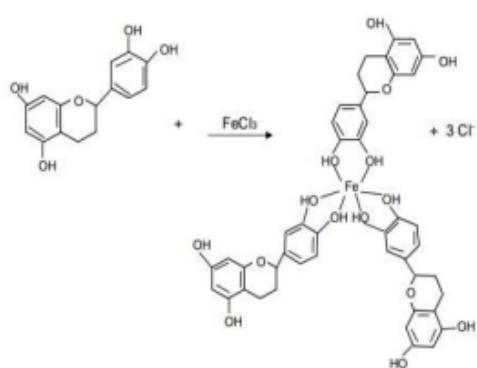
Hasil uji ekstrak rimpang kunyit hitam dengan HCl Pekat dan Mg menunjukkan positif mengandung senyawa flavanoid, hal ini ditandai dengan terbentuknya warna merah. Tujuan penambahan Mg dan HCl pekat untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavanoid sehingga terbentuk garam flavilium (Achmad, 1986; Endarini, 2016). Reaksi senyawa flavanoid dengan HCl dan Mg ditunjukkan pada Gambar 3.



Sumber: Achmad, 1986 Gambar 3. Reaksi senyawa flavanoid dengan Mg dan HCl Pekat

Hasil uji ekstrak rimpang kunyit hitam

dengan FeCl_3 menunjukkan positif mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman karena terjadi pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl_3 (Harborne, 1987). Reaksi senyawa tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 4.



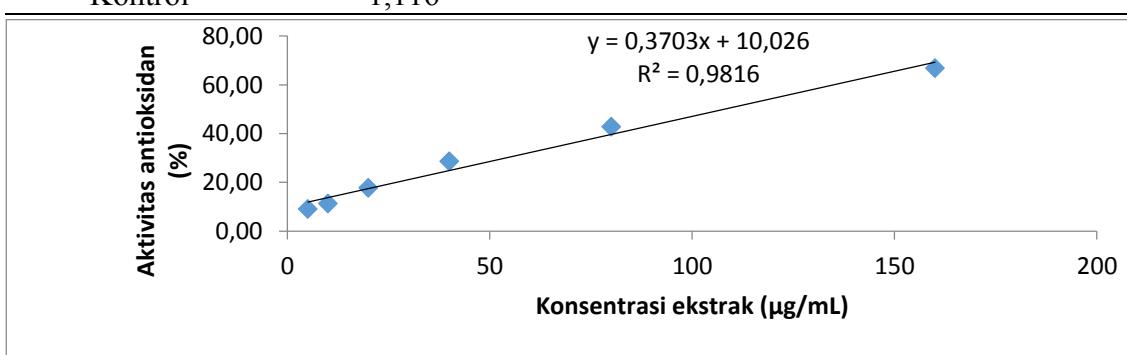
Sumber: Hart, 1990

Gambar 4. Reaksi senyawa tanin dengan FeCl_3

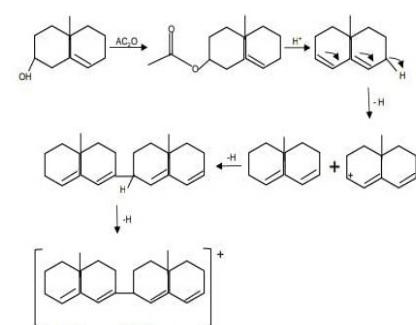
Pengujian triterpenoid yang dilakukan dengan menggunakan

Tabel 2. Hasil pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*) dengan Metode DPPH (Simplo)

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH Sisa	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
5	1,014	9,14	
10	0,989	11,38	
20	0,918	17,74	
40	0,795	28,76	107,9503
80	0,637	42,92	
160	0,370	66,85	
Kontrol	1,116		



Lieberman Burchard menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna coklat kemerahan karena terjadi ikatan rangkap terkonjugasi melalui reaksi kondensasi. Reaksi senyawa triterpenoid dengan Lieberman Burchard ditunjukkan pada Gambar 5.



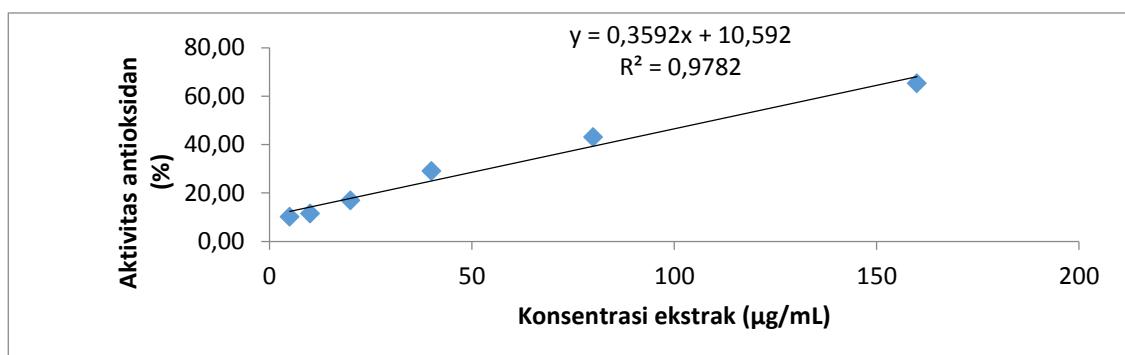
Sumber: Nugrahani, 2016

Gambar 5. Reaksi senyawa triterpenoid dengan Lieberman Burchard

Gambar 6. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*) Simplo

Tabel 3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*) dengan Metode DPPH (Duplo)

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH Sisa	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
5	1,001	10,30	
10	0,986	11,65	
20	0,926	17,03	
40	0,791	29,12	109,7105
80	0,634	43,19	
160	0,386	65,41	
Kontrol	1,116		



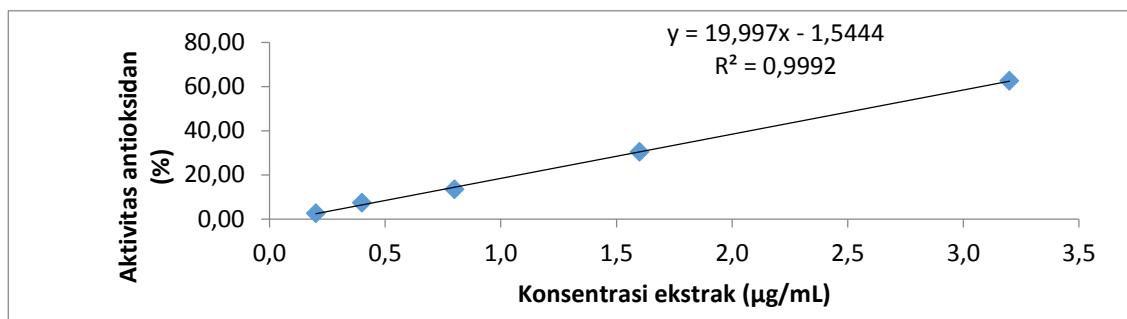
Gambar 7. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*) dengan Metode DPPH (Duplo)

Tabel 4. Rata-rata Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb.*)

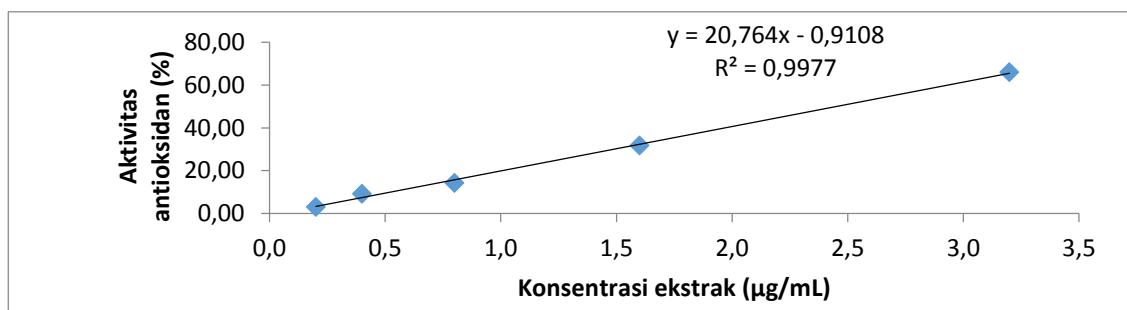
Simplo	Duplo	Nilai Rata-rata \pm SD
107,9503	109,7105	108,8304 \pm 1,24

Tabel 5. Hasil pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH (Simplo)

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH Sisa	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
0,2	0,923	2,53	
0,4	0,878	7,29	
0,8	0,820	13,41	2,4231
1,6	0,659	30,41	
3,2	0,345	62,62	
Kontrol	0,947		

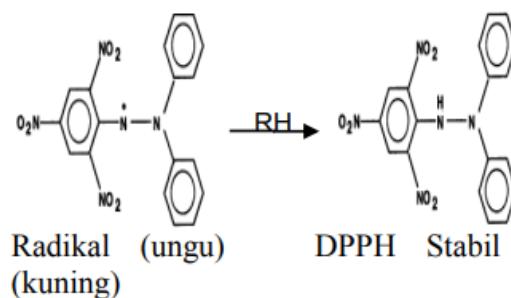
**Gambar 8.** Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat Simplo**Tabel 6.** Hasil pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH (Duplo)

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH Sisa	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
0,2	0,918	3,06	
0,4	0,860	9,19	
0,8	0,812	14,26	2,3642
1,6	0,647	31,68	
3,2	0,322	66,00	
Kontrol	0,947		

**Gambar 9.** Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat Duplo**Tabel 7.** Rata-rata Nilai IC₅₀ Asam Askorbat

Simplo	Duplo	Nilai Rata-rata \pm SD
2,4231	2,3642	2,39 \pm 0,04

Metode DPPH (diphenylpicrylhidrazil) merupakan salah satu metode penentuan aktivitas antioksidan. Atom nitrogen dalam DPPH direduksi dengan menerima atom hidrogen dari antioksidan kehidrazin (Sayuti dan Yenrina, 2015).



Sumber: Molyneux, 2004
Gambar 10. Reaksi antara radikal DPPH dengan antioksidan

Prinsip pengukuran aktivitas

antioksidan berdasarkan reaksi antara

sampel dengan radikal DPPH. Sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan sampel diukur serapanya dengan spektrofotometer. Berdasarkan data serapan sisa DPPH maka dapat diketahui kadarnya sehingga kadar sampel yang bereaksi dengan 50% radikal DPPH dapat ditetapkan.

Metode DPPH merupakan metode sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Senyawa DPPH menerima elektron akan membentuk senyawa yang stabil.

Interaksi antioksidan dengan DPPH dengan cara transfer elektron pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna dari larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu menjadi wrna kuning (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah inhibitor concentration (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi

(Molyneux, 2004).

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang kunyit hitam menggunakan metode DPPH diperoleh IC_{50} sebesar $108,8304 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$ dan asam askorbat dengan nilai IC_{50} sebesar $2,39 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$. Asam askorbat digunakan sebagai larutan pembanding karena asam askorbat aman dan senyawa antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Youngson, 2005).

Ekstrak etanol rimpang kunyit hitam asal Luwu Utara memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar (IC_{50} sebesar $108,8304 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan rimpang kunyit hitam asal India (IC_{50} sebesar $418 \mu\text{g/mL}$). Perbedaan tempat tumbuh dapat menyebabkan perbedaan kadar senyawa yang terdapat dalam suatu tanaman. Kadar senyawa pada suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal seperti cahaya matahari, suhu, kelembapan, pH tanah dan ketinggian tempat. Faktor-faktor tersebut yang membedakan kadar senyawa pada penelitian ini dari penelitian sebelumnya (Depkes RI, 1985;Sufardi, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan

bahwa ekstrak etanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) asal Luwu Utara mengandung senyawa golongan alkaloid, flavanoid, tanin dan triterpenoid serta memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar $108,8304 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$ dan asam askorbat dengan nilai IC₅₀ sebesar $2,39 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar dan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dukungan dan fasilitas Labortaorium sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, Klagus Roni. 1986. *Kimia Organik*. Jakarta: Karnunika.

Arista Wahyu Ningsih, Iif Hanifa Nurrosyidah, and A'Yunil Hisbiyah. 2018. "Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Rendemen Dan Skrining Fitokimia." *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika* 2(2):49–57. doi:

10.36932/jpcam.v2i2.27.

Baghel, Satyendra Singh, Rajendra Singh Baghel, Kshamashil Sharma, and Indu Sikarwar. 2013. "Aktivitas Farmakologi Curcuma Caesia." doi: 10.4103/0973-8258.111590.

Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplicia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Devi, Heisanam Pushparani, P. B. Mazumder, and Laishram Priyadarshini Devi. 2015. "Antioxidant and Antimutagenic Activity of Curcuma Caesia Roxb. Rhizome Extracts." *Toxicology Reports* 2:423–28. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.12.018.

Direktorat Jendral Pengawas Obat dan makanan. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Endarini, L. H. 2016. *Farmakognosi Dan Fitokimia*. Jakarta: Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.

Erlidawati, and Safrida. 2018. *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes : Buku Untuk Mahasiswa*. Aceh: Syiah Kuala University Press.

Harborne, B. 1987. *Methods in Plant Biochemistry*. New York: Plenum Press.

Hart Brown, William, Brent Iverson, Eric Anslyn, and Christopher Foote. 1990. "Chimica Organica." *Organic Letters*.

- Irianti, T. T., and S. Nuranto. 2021. *Antioksidan Dan Kesehatan.* Yogyakarta: UGM PRESS.
- Julianto, Tatang Shabur. 2018. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder Dan Skrining Fitokimia.* Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Karmakar, Indrajit, Narayan Dolai, and Pathik Saha. 2011. "Aktivitas Pemulungan Rimpang Curcuma Caesia Terhadap Oksigen Reaktif Dan Spesies Nitrogen." 221–28. doi: 10.1007/s13596-011-0030-6.
- McMurtry, John, and R. C. Fay. 2004. "Organic Chemistry." Pearson Education Interntional.
- Miroslav, Vecera, and Jiri Gasparic. 1971. *Detection And Identification Of Organic Compounds.* New York: Planung Publishing Corporation and SNTC Publishert Of Technical Literatur.
- Molyneux, Philip. 2004. "Penggunaan Radikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Yang Stabil Untuk Pendugaan Aktivitas Antioksidan." *Songkranakarin J. Sci Teknologi* 26(2):211–19.
- Mulyono. H. 2005. *Membuat Reagen Kimia Di Laboratorium.* Jakarta: Bumi Aksara.
- Nugrahani, Rizki, and Yayuk Andayani. 2016. "Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis Phaseolus Vulgaris Dalam Sediaan Serbuk." *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa* 2(1).
- Pakkirisamy, Muthukumaran, Suresh Kumar Kalakandan, and Karthikeyen Ravichandran. 2014. "Phytochemical Screening, GC-MS, FT-IR Analysis of Methanolic Extract of Curcuma Caesia Roxb (Black Turmeric)." *Pharmacognosy Journal* 9(6):952–56. doi: 10.5530/pj.2017.6.149.
- Pathan, Aslam. 2017. "Phytochemical Investigations of Indigenous Herb: Curcuma Caesia Rhizomes." *NeuroPharmac Journal* 2(2):41–46. doi: 10.37881/1.221.
- Paw, Manabi, Roktim Gogoi, Neelav Sarma, Sudin K. Pandey, Angana Borah, Twahira Begum, and Mohan Lal. 2019. "Study of Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory, Genotoxicity, and Antimicrobial Activities and Analysis of Different Constituents Found in Rhizome Essential Oil of Curcuma Caesia Roxb., Collected from North East India ." *Current Pharmaceutical Biotechnology* 21(5):403–13. doi: 10.2174/1389201020666191118121609.
- Sayuti, Kesuma, and Rina Yenrina. 2015. *Alami Dan Sintetik (1 Ed).* Padang: Andalas University Press.
- Sdedi, Desire Janetha, Hanggara Arifian, and Laode Rijai. 2016. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (Curcuma Caesia ROXB.)." *Prosiding Seminar Nasiona Kefarmasian Ke-* 420–21.
- Sudewo, B., and Z. Simatur. 2011. *Basmi Kanker Dengan Herbal.* Jakarta: VisiMedia.
- Sufardi. 2020. "Pertumbuhan Tanaman." *Researchgate* (May):1–26.
- Svehla, G. 1990. *Textbook of Macro and Semimicro Qualitative Inorganic Analysis.* New York: United States

Of America.

Yadav, Mamta, and K. Kalyan Saravanan. 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):123–26. doi: 10.22270/jddt.v9i5.3609.

Youngson, R. 2005. *Antioksidan: Manfaat Vitamin C Dan E Bagi Kesehatan*. Jakarta: Egc Arcan.

Yunanto, Ari, Bambang Setiawan, and Eko Suhartono. 2009. *Kapita Selekta Biokimia Peran Radikal Bebas Pada Intoksikasi Dan Patobiologi Penyakit*. Banjarmasin: Penerbit Pustaka Benua.

Yuslanti, E. R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan*. Yogyakarta: CV Budi Utama.