

Antioxidant Activity Assay of Black Turmeric (*C. Caesia*) Water and Ethanol Extracted Using DPPH

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Metanol Kunyit Hitam (*C. caesia*) dengan Menggunakan DPPH

Sri Kartini¹, Pratiwi Susanti², Isty Maulia Marshanda³, Denia Pratiwi⁴, Dini Mardhiyani⁵, Yan Hendrika⁶

^{1,2,3,4,5,6} Fakultas Farmasi, Universitas Abdurrah, Pekanbaru, Indonesia
Email: sri.kartini@univrab.ac.id

Article Info

Article history

Received date: 2023-10-23

Revised date: 2023-11-08

Accepted date: 2023-11-20



Abstract

Antioxidants are compounds that provide electrons; they function by donating an electron to oxidizing compounds, thereby inhibiting the activity of these oxidants. The objective of this study is to ascertain the presence of secondary metabolites and evaluate the antioxidant properties of water and methanol extracts obtained from black turmeric (*C. caesia*). The determination of antioxidant activity was conducted using the DPPH method with a microplate reader at a wavelength of 520 nm, by calculating the IC₅₀ value. The research findings indicate that both water and methanol extracts contain flavonoids, saponins, and tannins. The antioxidant activity of the water extract measured at 392.47 ± 46.38 ppm (weaker), the methanol extract displayed a higher activity at 69.66 ± 2.91 ppm (strong), and Vitamin C exhibited very strong activity at 3.98 ± 0.26 ppm.

Keywords:

C.caesia; Antioxidant; Water; Methanol

Abstrak

Antioksidan alami merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal dengan cara mendonorkan elektronnya kepada senyawa oksidan sehingga aktifitasnya dapat dihambat. Antioksidan alami yang berasal dari tanaman telah banyak diteliti, kandungan fenolik dan flavonoid diketahui dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak air dan metanol pada kunyit hitam (*C. caesia*). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH menggunakan microplate reader pada 520 nm dengan menentukan nilai IC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak air dan metanol mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Aktifitas antioksidan ekstrak air sebesar 392.47 ± 46.38 ppm (lemah), ekstrak metanol 69.66 ± 2.91 ppm (kuat) dan Vitamin C 3.98 ± 0.26 ppm (sangat kuat).

Kata Kunci:

C. caesia; Antioksidan; Air; Metanol.

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati bahan alam yang dimiliki Indonesia, menjadikan Indonesia salah satu negara penghasil bahan obat alam, karena memiliki sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Setiap tumbuhan memiliki kandungan metabolit

sekunder yang spesifik dan fungsi yang berbeda-beda. Menurut World Health Organization (WHO) sekitar 80% penduduk dunia menggunakan bahan alam untuk pencegahan dan pengobatan tradisional. [1]. Obat tradisional merupakan campuran bahan

yang diramu digunakan secara turun temurun yang berasal dari hewan, tumbuhan dan galenik yang diterapkan sesuai norma masyarakat tersebut [2]. Bahan alam yang mempunyai aktifitas sebagai antioksidan memiliki peran penting dalam pencegahan penyakit degenerative. Antioksidan sintetik telah banyak digunakan dalam pengobatan dan pencegahan, saat ini masyarakat mulai beralih pada pemanfaatan antioksidan alami yang berasal dari tanaman. Kandungan metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, tannin, safonin dan alkaloid mampu bertindak sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang memediasi efek antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan/atau dengan mengkhelat ion logam [3, 4].

Kunyit hitam (*C. caesia*) merupakan bahan alam yang berkhasiat yang belum banyak diteliti. Di Indonesia kunyit hitam berasal dari spesies *curcuma* yang masih kurang dikenal. Tanaman ini mengandung flavonoid, fenol dan alkaloid. Penelitian sebelumnya melaporkan tanaman ini berkhasiat sebagai antibakteri, antimutagenik dan sebagai sitotoksik [2]. sifat antioksidan rimpang ini masih sedikit ditemukan penelitiannya. Ekstrak metanol rimpang *C. Caesia* dari Malaysia memiliki nilai IC_{50} 862,35 ug/ml dan ekstrak methanol sampel dari India memiliki nilai IC_{50} 418 ug/ml [3], [5] keduanya memiliki kekuatan antioksidan katagori lemah. Aktivitas antioksidan pada bahan alam tergantung dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstrak. Salah satu faktor yang mempengaruhi jumlah senyawa yang dapat terekstrak adalah pelarut pengestrak. Kepolaran pelarut mempengaruhi jenis senyawa yang dapat terekstrak. Penelitian Rachmawati [6] menyatakan antioksidan ekstrak aseton lebih kuat dibandingkan ekstrak methanol pada *Phyllanthus niruri* L, dimana methanol lebih polar dari aseton. Penelitian ini ingin mengetahui aktifitas antioksidan ekstrak *C. Caesia* dari sampel yang berasal dari provinsi Riau

memgunakan pelarut polar yaitu air dan methanol menggunakan metode DPPH.

METODE

Rimpang *C. Caesia* diperoleh dari penjual bahan obat herbal di Pekanbaru Riau. Pembuatan simplisia kering mengikuti Wardaniati [7]. Pembuatan ekstrak air mengikuti Sulastri [8], dan pembuatan ekstrak methanol mengikuti Udayani [1]. Skrining fitokimia ekstrak antara lain uji alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, tanin/folifenol dan saponin mengikuti Islami [9]. Penentuan Antioksidan dengan Metode DPPH mengikuti Zhang [10], menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 520 nm. Dimana plat terdiri dari 96 sumuran terdiri atas baris A-H dan setiap baris terdiri dari 12 sumuran. Seluruh baris B-H diisi dengan 50 ul metanol, baris A diisi 100 µl, 1000 ppm sampel. Setiap sampel pada baris A dipipet 50 µl dimasukkan ke baris B sehingga baris B dipeoleh konsentrasi setengahnya dari 1000ppm yaitu 500 ppm. Selanjutnya untuk mendapatkan konsentrasi 250, 125,62,5 dan 13,25 ppm yaitu dengan memipet sampel setiap baris B-E dimasukkan dalam sumuran setelahnya. Seluruh sumuran A-G ditambahkan DPPH 80 µl. Baris H tetap berisi methanol sebagai blangko. Selanjutnya plat sumuran diinkubasi pada selama 30 menit. diruang gelap dan diukur absorbansinya pada λ 520 nm dengan menggunakan *microplate reader*. Perbandingan Vitamin C juga diukur serapanya pada konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12.5 ppm, 6.25 ppm dan 3.125. % Aktifitas antioksidan ditentukan dengan mengukur % inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi: } (A-B)/A \times 100$$

A = Absorbansi kontrol negatif (larutan DPPH tanpa ekstrak)

B = Absorbansi (sampel uji)

Nilai % Inhibisi digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} yang dihitung dengan menggunakan

persamaan yang diperoleh dari kurva regresi linier yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Rendemen Ekstrak Air dan methanol *C. Caesia* diperoleh berupa ekstrak kental berwarna coklat kehitaman berbau khas. Didapatkan nilai rendemen ekstrak air sebesar 28,84 % dan ekstrak methanol 26,1% seperti tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil % rendemen ekstrak air kunyit hitam

Rendemen (%)	
Ekstrak Air	Ekstrak Metanol
28,84 %	26,1%

Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Air dan metanol *C. caesia*

Hasil penelitian skrining fitokimia ekstrak air dan methanol *C.caesia* didapatkan hasil pada table 2 dibawah ini:

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia ekstrak air kunyit hitam

NO	Senyawa	Ekstrak Air	Ekstrak Metanol
1	Alkaloid		
	-Mayer	-	-
	-Wagner	-	-
	-Dragendrof	-	-
2	Flavanoid	+	+
3	Tanin/Polifenol	+	+
4	Triterpenoid/Steroid	-	+
5	Saponin	+	+

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kunyit Hitam

Aktivitas antioksidan *C caesia* dapat dilihat pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak air kunyit hitam (*Curcum caesia*) dan asam askorbat

Ekstrak	Rerata % Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	87,42	3.98±0.26

	79,53	$y = 20.318x - 36.222$ $R^2 = 0.9623$
	72,31	
	59,84	
	57,26	
	46,19	
Air	53,43	392.47 ± 46.38
	51,33	
	49,80	$y = 4.0079x + 26.063$ $R^2 = 0.9909$
	45,99	
	43,41	
	40,17	
Metanol	98.23	69.66 ± 2.91
	90.42	$y = 20.318x - 36.222$ $R^2 = 0.9623$
	81.48	
	68.52	
	45.97	
	28.9	

Ekstrak sampel *C.caesia* yang diperoleh berwarna coklat kehitaman dengan rendemen ekstrak pelarut air lebih tinggi dari pelarut metanol, dapat dilihat pada tabel I. Hasil ini menunjukkan senyawa metabolit skunder rimpang *C.caesia* lebih banyak terekstrak pada pelarut air yang lebih polar dibandingkan yang metanol. Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Rahmawati [8] dimana pelarut yang lebih polar (metanol 60%) mengekstrak lebih sedikit dibanding pelarut non polar (aseton) pada *Phyllanthus niruri* L.

Skrining fitokimia terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid/Steroid, saponin dan tanin dalam kedua ekstrak air kunyit hitam (*C. caesia*), dimana uji Alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendrof diperoleh hasil negatif yang ditandai dengan

tidak terbentuknya endapan putih, coklat dan jingga [5].

Flavonoid pada kedua pelarut diperoleh hasil positif dengan terbentuknya warna jingga yang menunjukkan terbentuknya senyawa asetonon ketika sampel direaksikan dengan NaOH [11]. Triterpenoid positif dalam ekstrak metanol tetapi tetapi negatif pada ekstrak air. Triterpenoid memiliki kelarutan yang kurang baik dalam pelarut air [10],[12]. Tanin pada kedua ekstrak positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak air dan warna biru tua pada ekstrak air[13]. Saponan positif dengan terbentuknya busa stabil pada kedua ekstrak. ini menunjukkan adanya glikosida membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [14], [15].

Aktifitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan mengukur absorbansi menggunakan *microplate reader*. Metode DPPH adalah metode absorpsi radikal DPPH yang sederhana dan mudah serta menggunakan sampel yang sedikit dalam waktu yang singkat [7].

Metode ini bekerja berdasarkan reaksi oksidasi-reduksi, dimana DPPH adalah suatu radikal bebas sintetik yang dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol dan methanol. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan DPPH dengan cara donor atom hidrogen untuk mendapatkan pasangan electron. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning dapat menunjukkan seberapa kuat aktivitas antioksidan pada sampel ketika diukur intensitasnya [16][17]. Nilai % Inhibisi dan IC_{50} (Inbitory Concentration) kedua ekstrak dan Vitamin C dapat dilihat pada Tabel III.

Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang artinya pada konsentrasi tersebut antioksidan dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% [18]. Aktifitas antioksidan dikategorikan jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm (sangat

kuat) , 50-100 ppm (kuat), 101-250 ppm (sedang) ,250-500 ppm (lemah) dan > 500 ppm] (tidak aktif)[19].

Nilai IC_{50} ekstrak air kunyit hitam adalah sebesar 392.47 ± 46.38 ppm, ekstrak methanol sebesar 69.66 ± 2.91 berada pada rentang kekuatan antioksidan lemah dan vitamin C sebesar 3.98 ± 0.26 ppm berada pada rentang antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} ekstrak methanol lebih kuat dibandingkan ekstrak air. Air yang mempunyai sifat lebih polar dibandingkan methanol sehingga senyawa metabolit skunder dalam *C. Caesia* yang bersifat larut dalam air lebih banyak terekstrak. Dari rendemen ekstrak dapat dilihat bahwa ekstrak Air memiliki rendemen lebih besar dari ekstrak methanol. Menurut Neswadi dan Isyanto (2018) dalam [6] kepolaran pelarut yang tinggi untuk mengekstrak senyawa dalam sampel, maka senyawa lain yang bersifat polar juga dapat tersekstrak, misalnya gula, air, protein sehingga kadar fenol menjadi rendah yang akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya.

Mekanisme antioksidan senyawa fenolik adalah berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, Flavanoid dapat bertindak sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas dengan cara menangkap radikal bebas. Tanin dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam besi. Saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas, sebagai agen pereduksi sehingga dapat mereduksi radikal bebas (reaktif) yang terbentuk menjadi spesies yang tidak reaktif lagi. Vitamin C sebagai pembanding merupakan senyawa sintesis murni memiliki gugus hidroksil sehingga dapat mendonorkan atom hidrogen lebih baik [20],[21],[22] tanpa ada senyawa pengganggu lain untuk bereaksi

dengan radikal bebas DPPH sehingga nilai IC₅₀ vitamin C sangat kuat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak air dan metanol *C.caesia* mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Nilai IC₅₀ ekstrak air 392.47±46.38 ppm, ekstrak metanol 69.66±2.91 ppm dan vitamin C 3.98±0.26 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan Universitas Abdurrab Pekanbaru yang telah memberikan bantuan dan pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Udayani, N. N.W., Ratnasari, N.L.A.M., & Ninda, I. D.A.A.Y. "Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Alkaloid, Flavonoid dan Tanin) pada Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb)". *Jurnal Pendidikan Tambusai*, vol. 6, no. 1, pp. 2088-2093, 2022.
- [2] Supardi, S., Herman, M. J., Raharni, R., & Susyanty, A. L. (2012). *Jurnal Kefarmasian*, pp. 19–21, June 2022.
- [3] Lesjak M, Beara I, Simin N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *J Funct Foods*, 2018
- [4] Rahaman ST, Mondal S. "Flavonoids: A vital resource in healthcare and medicine". *Pharm Pharmacol Int J*, vol. 8, no. 2, pp. 91-104, 2020. doi:10.15406/ppij.2020.08.00285
- [5] Mangla, M., Shuaib, M., Jain, J., & Kashyap, M. "In-vitro Evaluation of antioxidant activity of *Curcuma caesia* Roxb". *Internation Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 1, no. 9, pp. 98–102, 2010.
- [6] Rachmawati.A, Ni Wayan Wisaniyasa, I Ketut Suter. "Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Itepa*, vol. 9, no. 4, pp. 458-467, 2020.
- [7] Wardaniati, I., & Yanti, R. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Trigona (*Trigona itama*) menggunakan Metode DPPH". *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, vol. 2, no. 1, pp. 14–21, 2020. <https://doi.org/10.36341/jops.v2i1.1257>
- [8] Sulastri, L., Oktavia, I., & Simanjuntak, P. Aktivitas Antioksidan Kecibeling, Bakau Merah, Dan Katuk Pada Metode Ekstraksi Dan Rasio Ekstrak Yang Berbeda. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, vol. 31, no. 1, 2020. <https://doi.org/10.21082/bullitro.v31n1.2020.1-7>
- [9] Islami, D., Pratiwi, D., Mardhiyani, D., & Farmasi dan Ilmu Kesehatan, F. "Phytochemical Screening of Turmeric (*Curcuma domestica* Val) and Red Ginger (*Zingiber officinale* Var Roscoe) Rhizomes Infusion Skrining Fitokimia Infusa Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var roscoe)". *Jurnal Proteksi Kesehatan*, vol. 11, no. 1, pp. 1–6, 2022.
- [10] Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D. A., & Barrow, C. J. "A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds". *Journal of Applied Phycology*, vol. 18, no. 3-5, pp. 445–450, 2006 <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9048-4>
- [11] Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. Skrining Fitokimia dan "Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri". *Spin*, vol. 4, no. 1, pp. 23–36, 2022.
- [12] Ling.T, Lucinda Boyd and Fatima Rivas. "Triterpenoids as Reactive Oxygen

- Species Modulators of Cell Fate”, *Cem Res Toxicol*, 35(4): 569–584 Pub Med, 2022.
- [13] Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., & Simbala, H. E. I. “Analisa Fitokimia Obat Di Minahasa Utara”. *Chemistry Progres*, vol. 1, no. 1, pp. 47–53, 2008.
- [14] Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. “Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol”. *Biofarmasi*, vol. 3, no. 1, pp. 26–31, 2005.
- [15] Ni Nyoman Yulaini, J. Sambara, M. Alexandria Mau. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etilasetat Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Jurnal info Kesehatan*, vol. 14, no. 1, pp. 1091-1111, 2016.
- [16] Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. “Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid DAri Daun Katuk (*Sauropus andrognus* (L) Merr.)”. *Jurnal Biologi Sumatra*, vol. 3, no. 1, pp. 10–13, 2008.
- [17] Theafelicia Z, Wulan SN. “Comparison of Various Methods for Testing Antioxidant Activity (DPPH, ABTS, and FRAP) on Black Tea (*Camellia sinensis*) Zerlinda”. *J Teknol Pertan*, vol. 24, no. 1, pp. 35-44, 2023.
- [18] Surya, A., & Rahayu, D. P. “Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Petai (*Parkia speciosa* Hassk) dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, vol. 4, no. 2, pp. 1–5, 2020. <https://doi.org/10.36341/jops.v4i2.1342>
- [19] Sari, A. N. “Potensi Antioksidan Alami Pada Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)”. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, vol. 18, no. 2, pp. 107–112, 2017. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol18-iss02/61>
- [20] Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, F., & Ibrahim, A. S. “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH)”. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, vol. 1, no. 3, pp. 67–73, 2022. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>
- [21] Andriani, D., & Murtisiwi, L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH Antioxidant Activity Test of 70% Ethanol Extract of Telang Flower (*Clitoria ternatea* L) from Sleman Area with DPPH Method.” *Jurnal Farmasi Indonesia*, vol. 17, no. 1, pp. 70–76, 2020.
- [22] FT, Mhaisen, & Et, A. “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica Pubescens*) Dengan Metode Dpph Beserta Identifikasi Senyawa Alkaloid, Fenol Dan Flavonoid”. *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 6, no. 11, pp. 951–952, 2018