

PENGARUH PELARUT TERHADAP FLAVONOID TOTAL, FENOLIK TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN KUNYIT (*CURCUMA LONGA L*) DENGAN METODE ABTS

Fidya Setyaningum¹, Danang Raharjo², Niken Luthfiyanti³

S1Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta¹²³

Corresponding Author: fidyasetyaningrum18@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan berperan penting dalam menetralkan radikal bebas yang dapat memicu penyakit degeneratif. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan adalah kunyit (*Curcuma longa L.*) karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh jenis pelarut terhadap kadar flavonoid total, fenolik total, serta aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kunyit. Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ menggunakan kuersetin sebagai standar, sedangkan kadar fenolik total dianalisis menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar. Aktivitas antioksidan ditentukan melalui metode ABTS dan dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut memberikan pengaruh signifikan terhadap kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak. Ekstrak menggunakan pelarut metanol menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 54,032 mg QE/g, kadar fenolik total sebesar 64,760 mg GAE/g, serta menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 31,396 ppm, yang tergolong sangat kuat. Dengan demikian, metanol terbukti sebagai pelarut paling efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari daun kunyit dan memiliki potensi tinggi sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: ABTS, antioksidan, *Curcuma longa L.*, flavonoid, fenolik

ABSTRACT

Antioxidants play an important role in neutralizing free radicals that can trigger degenerative diseases. One plant that has the potential as a source of antioxidants is turmeric (*Curcuma longa L.*) because it contains secondary metabolites such as flavonoids, phenolics, alkaloids, saponins, and terpenoids. This study aims to evaluate the effect of solvent types on the levels of total flavonoids, total phenolics, and antioxidant activity of turmeric leaf extract. Measurement of total flavonoid levels was carried out using the $AlCl_3$ colorimetric method using quercetin as a standard, while total phenolic levels were analyzed using the Folin-Ciocalteu method with gallic acid as a standard. Antioxidant activity was determined using the ABTS method and expressed in IC_{50} values. The results showed that different solvent types had a significant effect on the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of the extract. The methanol extract yielded a total flavonoid content of 54.032 mg QE/g, a total phenolic content of 64.760 mg GAE/g, and showed the highest antioxidant activity with an IC_{50} value of 31.396 ppm, which is considered very strong. Thus, methanol is proven to be the most effective solvent in extracting bioactive compounds from turmeric leaves and has high potential as a source of natural antioxidants.

Keywords: ABTS, antioxidants, *Curcuma longa L.*, flavonoids, phenolics

PENDAHULUAN

Radikal bebas memiliki sifat yang sangat reaktif karena mereka adalah molekul yang mengandung elektron yang tidak memiliki pasangan di orbital luarnya. Sifat reaktif ini menyebabkan reaksi berantai radikal bebas kontinu. Proses ini terjadi di dalam tubuh dan dapat

menyebabkan kerusakan sel, yang berlanjut dan sulit dihentikan. Tubuh manusia dilengkapi dengan sistem pertahanan alami yang berfungsi secara endogen untuk memerangi serangan dengan radikal bebas, terutama melalui respons inflamasi antara proses metabolisme normal dan metabolisme seluler. Produksi radikal bebas yang berlebihan atau melemahkan sistem pertahanan tubuh dapat menyebabkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (Ngibad, 2023).

Kerusakan sel akibat tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas menjadi pemicu utama berkembangnya berbagai penyakit degeneratif. Kondisi ini dapat meningkatkan risiko munculnya gangguan serius seperti kanker, infeksi kronis, penyakit jantung koroner, rematik, gangguan pernapasan, katarak, kerusakan hati, serta penuaan dini. Tubuh memerlukan tambahan asupan antioksidan dari sumber eksternal yang berperan dalam menetralkan radikal bebas dan melindungi sel-sel tubuh dari dampak negatifnya (Neng Alfa Siska *et al.*, 2022).

Antioksidan adalah senyawa yang memainkan peran penting dalam menetralkan dan penyerapan permainan radikal bebas, dan dengan demikian membantu mencegah berbagai penyakit degeneratif. Koneksi ini berfungsi sebagai perlindungan alami bagi tubuh untuk memerangi kerusakan radikal bebas yang dapat merusak sel normal tubuh, protein, dan lemak. Struktur dan antioksidan molekul yang unik memungkinkan elektron untuk menyumbang molekul radikal bebas tanpa mengganggu diri mereka dengan fungsi uniknya. Kemampuannya dapat memungkinkan antioksidan untuk menghambat atau bahkan menghentikan reaksi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas (A. Pratiwi *et al.*, 2023).

Antioksidan dapat ditemukan dalam berbagai bentuk, mulai dari struktur molekul yang kompleks hingga struktur yang sederhana. Antioksidan dengan struktur kompleks umumnya berupa enzim, seperti superoksida dismutase, katalase, dan peroksiredoksin, yang berperan penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif. Sementara itu, antioksidan dengan struktur sederhana meliputi vitamin seperti vitamin A, C, dan E, serta β -karoten. Selain itu, terdapat pula senyawa bioaktif lain seperti flavonoid, bilirubin, dan albumin. Keberadaan senyawa-senyawa ini sangat penting dalam sistem pertahanan tubuh karena berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang dapat merusak sel, mempercepat proses penuaan, dan memicu perkembangan berbagai penyakit degeneratif (Junnaeni & Mahati, 2019).

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan metabolit sekunder yang secara alami terdapat dalam berbagai jenis tumbuhan (Access & Repository, 2015). Telah dilaporkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid bertindak sebagai antioksidan (Comunian *et al.*, 2017). Fenol dan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan karena mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas, membantu menstabilkannya dan mengurangi efek merusaknya. Efektivitas antioksidan sangat bergantung pada kadar total senyawa fenolik dan flavonoid dalam suatu bahan semakin tinggi konsentrasinya, semakin besar potensi aktivitas antioksidannya (Mauliddiyah, 2021).

Pemanfaatan tanaman kunyit selama ini lebih difokuskan pada bagian rimpangnya, sementara bagian lain seperti daun dan batangnya masih jarang digunakan secara optimal. Kurangnya pemanfaatan bagian-bagian tersebut berpotensi menimbulkan masalah baru dalam bentuk limbah pertanian. Limbah yang tidak terkelola dengan baik dapat berdampak buruk terhadap lingkungan, baik dalam bentuk pencemaran tanah akibat pembusukan, maupun polusi udara yang dihasilkan dari proses pembakaran sisa tanaman (Duque-Acevedo *et al.*, 2020).

Kurkumin merupakan senyawa utama dan penanda khas dalam tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) yang memberikan warna kuning pada rimpangnya. Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Pengukuran kadar

kurkumin menjadi parameter penting dalam standarisasi ekstrak kunyit untuk memastikan kualitas dan konsistensi produk. Selain itu, kurkumin digunakan sebagai senyawa penanda dalam pengendalian mutu, yang berperan dalam menjamin efektivitas dan keamanan produk akhir, khususnya dalam pengembangan obat herbal dan suplemen. Dengan demikian, kurkumin berfungsi sebagai indikator utama dalam penilaian kualitas ekstrak kunyit (Rifai *et al.*, 2018).

Kurkumin merupakan senyawa aktif utama dalam kunyit yang berperan penting dalam memberikan efek antioksidan. Aktivitas antioksidan dari ekstrak kunyit sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi. Pelarut dengan tingkat kepolaran yang lebih tinggi mampu melarutkan dan mengekstraksi senyawa antioksidan dalam jumlah yang lebih besar. Pemilihan pelarut yang tepat menjadi faktor kunci untuk memperoleh ekstrak kunyit dengan aktivitas antioksidan yang optimal (Wahyuningtyas *et al.*, 2017).

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik (*fujitsu Fs-Ar*), oven, spektrofotometri, UV-VIS, kuvet, *rotary evaporator*, waterbath, *moisture Balance*, tanur, vial, desikator, bejana maserasi, corong pisah (*Pyrex*), mikro pipet (*Therm Scientific*), alat-alat gelas (*Iwaky Pyrex*), penangas air, neraca listrik.

Bahan uji yang digunakan adalah daun kunyit yang digunakan diperoleh di Sukoharjo, Provinsi Jawa Tengah. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pelarut n-heksana, etil asetat, pelarut etanol 96%, metanol, aquadest, pereaksi *Wagner, Dragendorff, Mayer*, asam galat, reagen *Folin-Ciocalteu*, methanol p.a, asam sulfat pekat, asam klorida, kuersetin, $AlCl_3$, natrium asetat, reagen ABTS.

Tahap penelitian

Pengumpulan bahan dan preparasi sampel

Daun kunyit (*Curcuma longa L.*) yang digunakan diperoleh dalam kondisi segar dari Desa Dukuh, Kelurahan Baran, Kecamatan Nguter, Kabupaten Sukoharjo. Daun yang dipilih adalah daun tua namun masih segar dan belum menguning. Proses awal meliputi sortasi kering untuk menghilangkan kotoran, diikuti dengan sortasi basah berupa pencucian hingga benar-benar bersih. Kemudian, daun dibiarkan utuh atau diiris untuk mempercepat pengeringan, yang dilakukan di bawah sinar matahari selama 3–4 hari di atas nampan berlubang guna memastikan sirkulasi udara yang optimal. Daun kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan nomor 40 untuk memperoleh serbuk daun kunyit yang halus.

Pembuatan ekstrak daun kunyit

Metode ekstrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode ekstrasi dengan maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu berbeda (Etil asetat, etanol 96%, metanol, dan n-heksana) dengan perbandingan pelarut sebanyak 1:7. Sebanyak 300 g simplisia dimaserasi selama 3x24 jam dengan masing-masing pelarut berbeda, kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70° C untuk memisahkan pelarut dengan zat aktif dan diuapkan kembali menggunakan *waterbath* pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak kental daun kunyit (Malahayati *et al.*, 2021).

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun kunyit (*Curcum longa L.*) meliputi senyawa yang diidentifikasi diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan steroid yang mengacu pada (Hasibuan & Edrianto, 2021).

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun kunyit direbus dengan 10 ml aquadest selama 10 menit, lalu disaring panas. Dari hasil saringan, 5 ml diambil dan dicampur dengan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 ml HCl pekat, dan 2 ml alkohol. Setelah dikocok dan didiamkan, uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna merah, kuning, atau jingga.

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun kunyit dicampur dengan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml aquadest, dipanaskan selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring. Kemudian, 0,5 ml filtrat dimasukkan ke tiga tabung reaksi; tabung pertama ditambah 2 tetes pereaksi Mayer, kedua 2 tetes pereaksi Dragendorff, dan ketiga 2 tetes pereaksi Bourchardat. Uji alkaloid positif jika terbentuk endapan kuning (*Mayer*), jingga (*Dragendorff*), dan coklat (*Bourchardat*).

Uji Saponin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun kunyit dilarutkan dalam 10 ml aquadest, dipanaskan, didinginkan, lalu dikocok kuat selama 10 detik. Jika muncul busa setinggi 1–10 cm yang bertahan minimal 10 menit, uji dilanjutkan dengan menambahkan 1 tetes asam klorida 2N. Sampel positif mengandung saponin jika busa tetap ada setelah penambahan asam klorida.

Uji Tanin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun kunyit dilarutkan dalam 10 ml aquadest, lalu disaring. Sebanyak 2 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Sampel dinyatakan positif mengandung tanin jika muncul warna biru atau hijau kehitaman.

Uji fenolik

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun kunyit ditambahkan 3-4 tetes FeCl₃ terjadinya perubahan warna hitam kebiruan hingga hitam pekat menunjukkan adanya kandungan fenol.

Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun kunyit dicampur dengan 20 ml kloroform dalam tabung reaksi kering, kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Sampel positif mengandung terpenoid jika terbentuk cincin jingga atau ungu, dan positif mengandung steroid jika warnanya berubah menjadi hijau kebiruan.

Uji Kadar Fenolik Total

(Saputri & Sa'ad, 2023)

Pembuatan kurva asam galat

Sebanyak 300 µL larutan asam galat dari larutan baku dibuat menjadi 5 konsentrasi yaitu 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, dan 50 µg/mL masing-masing masukkan kedalam

tabung kemudian ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin Ciocalteu* (1:10), kemudian dikocok selama 3 menit dan diamkan lalu tambahkan Na_2CO_3 7,5% 1,2 mL kocok homogen, inkubasi dalam suhu ruang sesuai waktu hasil *operating time* yang didapat dan dibaca panjang gelombang maksimum yang didapat.

Uji kadar fenolik total daun kunyit

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam metanol p.a., lalu 300 μL larutan dipipet dan ditambahkan 1,5 mL pereaksi *Folin-Ciocalteu*. Dikocok selama 3 menit, didiamkan, kemudian ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, dan diinkubasi pada suhu ruang sesuai waktu inkubasi diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum, dengan tiga kali pengulangan.

Uji Kadar Flavonoid Total

(Astika Winahyu *et al.*, 2019)

Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan untuk pembuatan kurva baku dibuat dari larutan intermediet 100 ppm, kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol p.a hingga batas volume. Masing-masing larutan baku kuersetin dipipet 1 mL, ditambah 3 mL metanol p.a., 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M, dan aquades hingga volume 10 mL. Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi terhadap absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum sesuai *Operating Time*.

Uji Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 10 mg ekstrak daun kunyit (*Curcuma longa L.*) ditimbang, lalu dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. Selanjutnya, 1 mL larutan sampel dipipet dan ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M, serta aquades hingga mencapai tanda batas dalam labu ukur 10 mL. Campuran dikocok hingga homogen, kemudian dibiarkan selama *Operating Time* (OT) yang telah ditentukan. Setelah itu, serapan larutan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kunyit dengan Metode ABTS

Larutan Stok ABTS^{•-}, sebanyak 5 mL kalium persulfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) dengan 5 mL larutan ABTS, inkubasi di ruang gelap pada 22–24°C selama 12–16 jam. Larutan ABTS pekat diencerkan dengan PBS pH 7,4 hingga absorbansi $0,70 \pm 0,02$, diukur pada 734 nm.

Larutan baku pembanding kuersetin, Larutkan 10 mg kuersetin dalam metanol p.a. hingga 100 mL (100 ppm). Buat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm dengan mengambil volume tertentu dari larutan stok dan mengencerkan ke 5 mL dengan metanol p.a. ditambahkan metanol p.a. hingga mencapai tanda batas.

Larutan blanko, campur 1 mL larutan ABTS dengan 2 mL PBS pH 7,4, inkubasi di ruang gelap pada 22–24°C selama waktu *operating time*. Ukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Larutan uji, timbang 50 mg ekstrak daun kunyit (ekstraksi dengan etil asetat, metanol, etanol 96%, n-heksana), larutkan dalam metanol p.a. hingga 50 mL (stok 1000 ppm). Buat seri

konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dari larutan intermediet 100 ppm dengan pengenceran ke 5 mL. Setiap larutan 0,1 mL dicampur dengan 2 mL larutan ABTS, inkubasi selama *operating time*, lalu ukur absorbansi menggunakan UV-Vis. Nilai IC₅₀ menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh perhitungan persen penghambatan radikal ABTS (kapasitas antioksidan) terhadap konsentrasi larutan uji.

HASIL

Maserasi daun kunyit

Ekstraksi dengan maserasi menggunakan 4 jenis pelarut yaitu metanol, etanol 96%, etil asetat dan n-heksana menghasilkan rendemen yang bervariasi. Data presentase rendemen masing masing dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Daun Kunyit

| Pelarut | Bobot simplisia(gr) | Bobot ekstrak (gr) | Rendemen(%) |
|-------------|---------------------|--------------------|-------------|
| N-Heksana | 350 | 10,23 | 2,92 |
| Etil asetat | 300 | 12,54 | 4,18 |
| Etanol 96% | 300 | 31,64 | 10,55 |
| Metanol | 300 | 32,88 | 10,96 |

Skrining fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kunyit

| Sampel ekstrak | Golongan senyawa | | | | | | | |
|----------------|------------------|--------------|--------|--------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|----------------------------------|
| | Alkaloid | | | Flavonoid | Saponin | Tanin | Steroid | Fenolik |
| | Mayer | Dragend roof | Wagner | Sebuk mg+HCL pekat | Aquadest + HCl 1N | FeCl ₃ 10% | Lieberman Burchard | FeCl ₃ 10% + aquadest |
| Etanol 96% | - | - | - | + | + | + | + | + |
| Metanol | - | - | - | + | + | + | + | + |
| Etil Asetat | - | - | - | + | + | + | - | + |
| N-heksana | - | - | - | + | - | + | + | + |

Uji kadar fenolik total

Pengujian fenolik total menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standar. Asam galat dipilih sebagai standar kurva baku karena merupakan turunan dari asam hidrobenzoat yang termasuk dalam kelompok asam fenol sederhana (Kupina *et al.*, 2019). Dilakukan pengukuran pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 708 nm dengan nilai absorbansi 0,536 dan ditemukan persamaan garis linear $Y = 0,005x + 0,2002$.

Tabel 3. Hasil Absorbansi Asam galat

| Konsentrasi | Rata-Rata | Abs | | |
|-------------|-----------|-------|-------|-------|
| | | I | II | III |
| 10 | 0.255 | 0.275 | 0.278 | 0.212 |
| 20 | 0.292 | 0.294 | 0.296 | 0.285 |
| 30 | 0.358 | 0.357 | 0.359 | 0.358 |
| 40 | 0.394 | 0.395 | 0.398 | 0.389 |
| 50 | 0.455 | 0.454 | 0.456 | 0.454 |

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total

| Sampel | Repikasi | Abs | TPC | Rata- Rata \pm SD |
|---------------------|----------|-------|--------|---------------------|
| Ekstrak Etanol 96% | I | 0,508 | 61,560 | 61,427 \pm 1,007 |
| | II | 0,512 | 62,360 | |
| | III | 0,502 | 60,360 | |
| Ekstrak Etil asetat | I | 0,511 | 62,160 | 62,627 \pm 0,503 |
| | II | 0,513 | 62,560 | |
| | III | 0,516 | 63,160 | |
| Ekstrak N-heksana | I | 0,246 | 9,160 | 8,960 \pm 0,529 |
| | II | 0,247 | 9,360 | |
| | III | 0,242 | 8,360 | |
| Ekstrak Metanol | I | 0,246 | 9,160 | 64,893 \pm 0,808 |
| | II | 0,529 | 65,760 | |
| | III | 0,521 | 64,160 | |

Uji kadar flavonoid total

Pengujian total flavonoid daun kunyit (*Curcuma longa L.*) menggunakan metode kolorimetri untuk pengukuran berdasarkan reaksi pembentukan warna, dengan pereaksi spesifik $AlCl_3$ dan kuersetin sebagai pembanding.

Tabel 5. Hasil Absorbansi Kuersetin

| Konsentrasi | Rata-Rata | Abs | | |
|-------------|-----------|-------|-------|-------|
| | | I | II | III |
| 10 | 0,121 | 0,121 | 0,124 | 0,119 |
| 20 | 0,185 | 0,184 | 0,189 | 0,183 |
| 30 | 0,250 | 0,251 | 0,257 | 0,242 |
| 40 | 0,338 | 0,339 | 0,343 | 0,333 |
| 50 | 0,381 | 0,387 | 0,389 | 0,368 |

Tabel 6. Hasil penetapan kadar flavonoid total

| Sampel | Repikasi | Abs | TFC | Rata- Rata \pm SD |
|---------------------|----------|-------|--------|---------------------|
| Ekstrak Etanol 96% | I | 0,332 | 41,402 | 41.451 \pm 0.522 |
| | II | 0,329 | 40,956 | |
| | III | 0,336 | 41,996 | |
| Ekstrak Etil asetat | I | 0,362 | 45,859 | 46.404 \pm 0.522 |
| | II | 0,369 | 46,899 | |
| | III | 0,366 | 46,454 | |
| Ekstrak N-heksana | I | 0,127 | 10,941 | 10.892 \pm 0.227 |
| | II | 0,128 | 11,090 | |
| | III | 0,125 | 10,644 | |
| Ekstrak Metanol | I | 0,417 | 54,032 | 54.032 \pm 0.149 |
| | II | 0,418 | 54,180 | |
| | III | 0,416 | 53,883 | |

Uji aktivitas antioksidan dengan metode abts

Metode ABTS dipilih karena waktu reaksi ABTS dengan antioksidan lebih cepat, ABTS juga dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik, selain itu ABTS mampu memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang visible (Neng Alfa Siska *et al.*, 2022).

Tabel 7. Uji aktivitas antioksidan dengan metode abts

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | % Inhibisi | IC ₅₀ \pm SD | Kategori |
|---------------------|-------------------|------------|---------------------------|-------------|
| Kuersetin | 5 | 32,493 | 5,697 \pm 0,115 | Sangat kuat |
| | 10 | 43,472 | | |
| | 15 | 46,736 | | |
| | 20 | 56,825 | | |
| | 25 | 63,798 | | |
| Ekstrak Metanol | 10 | 44,659 | 31.396 \pm 0,226 | Sangat kuat |
| | 20 | 47,774 | | |
| | 30 | 52,967 | | |
| | 40 | 58,160 | | |
| | 50 | 63,947 | | |
| Ekstrak Etanol 96% | 10 | 36,795 | 52,910 \pm 1,008 | Kuat |
| | 20 | 44,510 | | |
| | 30 | 52,671 | | |
| | 40 | 55,045 | | |
| | 50 | 59,347 | | |
| Ekstrak Etil Asetat | 10 | 48,665 | 34,426 \pm 0,602 | Sedang |
| | 20 | 50,445 | | |
| | 30 | 51,780 | | |
| | 40 | 54,451 | | |
| | 50 | 56,380 | | |
| Ekstrak N-Heksana | 10 | 43,323 | 190,193 \pm 0,140 | Lemah |
| | 20 | 44,065 | | |
| | 30 | 45,697 | | |
| | 40 | 48,368 | | |
| | 50 | 50,742 | | |

PEMBAHASAN

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun kunyit tertinggi diperoleh dengan pelarut metanol (10,96%), diikuti etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana. Rendemen tinggi pada metanol dan etanol 96% mengindikasikan kandungan senyawa polar yang dominan dalam daun kunyit. Ekstrak etil asetat dengan rendemen sedang menunjukkan adanya senyawa semi-polar, sementara rendemen rendah pada n-heksana menandakan ekstraksi komponen non-polar seperti minyak dan lemak (Cahya, 2019).

Berdasarkan Tabel 2 diketahui hasil uji fitokimia pada ekstrak daun kunyit (*Curcuma longa L.*) dengan menggunakan metode uji tabung dengan pelarut metanol, etanol 96%, etil asetat dan n-heksana tersebut meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/terpenoid. Dapat diketahui pada ekstrak daun kunyit n-heksana terdapat flavonoid, tannin, steroid, dan fenolik, pada ekstrak etil asetat terdapat fenolik, tanin, saponin dan flavonoid, ekstrak etanol 96% terdapat flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan fenolik, sedangkan pada ekstrak metanol terdapat fenolik, tanin, saponin, flavonoid dan steroid/triterpenoid.

Uji kadar fenolik total pada Tabel 4 diketahui hasil menunjukkan pelarut metanol menghasilkan fenolik total tertinggi dengan rata-rata 64,893 mg GAE/g, diikuti ekstrak etil asetat (62,627 mg GAE/g), etanol 96% (61,427 mg GAE/g), dan paling rendah n-heksana (8,960 mg GAE/g). Senyawa fenolik bersifat polar karena gugus hidroksil (-OH) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut polar. Metanol, sebagai pelarut sangat polar, paling efektif mengekstraksi fenolik seperti asam galat dan tannin, sedangkan etil asetat, pelarut semi-polar, mampu melarutkan fenolik dengan polaritas sedang seperti flavonoid aglikon yakni kuersetin dan kaempferol (Ummah, 2021). Ekstrak etanol 96%, meskipun polar, memiliki kandungan air yang rendah sehingga kurang efektif mengekstraksi senyawa fenolik yang sangat polar, namun masih mampu mengekstrak senyawa dengan polaritas sedang. Konsentrasi etanol tinggi (>90%) dapat menghambat pelarutan senyawa hidrofilik karena terbatasnya pembentukan ikatan hidrogen (Suhendra *et al.*, 2019). Ekstrak n-heksana yang non-polar tidak mampu melarutkan senyawa fenolik polar, sehingga kadar fenolik yang dihasilkan sangat rendah. Hanya senyawa fenolik non-polar tertentu, seperti flavonoid polimetoksilasi (sinensetin dan tangeretin), yang dapat larut dalam n-heksana (Ilyas *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil penetapan kadar flavonoid total pada Tabel 6 menunjukkan bahwa jenis pelarut memiliki pengaruh terhadap jumlah flavonoid yang berhasil diekstraksi dari daun kunyit (*Curcuma longa L.*). Nilai rata-rata *Total Flavonoid Content* (TFC) tertinggi diperoleh dari ekstrak menggunakan pelarut metanol sebesar 54,032 mg QE/g, diikuti oleh ekstrak etil asetat 46,404 mg QE/g, ekstrak etanol 96% diperoleh 41.451 mg QE/g, yang paling rendah adalah ekstrak n-heksana diperoleh 10,892 mg QE/g. Pada penelitian (Rosmiyati, 2021) menunjukkan uji flavonoid total pada ekstrak etanol daun kunyit dengan hasil berkisaran 68,53 mg QE/g. Perbedaan hasil dipengaruhi oleh polaritas masing-masing pelarut. Flavonoid merupakan senyawa fenolik polar, terutama karena keberadaan gugus hidroksil (-OH) dan gula pada flavonoid glikosida, yang memungkinkan pembentukan ikatan hidrogen dengan pelarut polar (Widiatmika, 2015).

Ekstrak metanol, sebagai pelarut sangat polar paling efektif mengekstraksi flavonoid polar seperti kuersetin glikosida. Ekstrak etil asetat yang bersifat semi polar mampu mengekstraksi flavonoid dengan polaritas menengah, seperti flavonol dan flavonon (luteolin dan naringenin). Ekstrak etanol 96%, meskipun polar tetapi memiliki derajat polaritas lebih rendah dari metanol karena kandungan air yang minim, sehingga kurang optimal untuk flavonoid

glikosida yang sangat hidrofilik. Sementara ekstrak n-heksana yang bersifat non polar hanya mampu melarutkan flavonoid non polar seperti aglikon polimetoksi (tangeretin dan sinensetin), sehingga menghasilkan kadar flavonoid paling rendah (Rahmati *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan pada Tabel 7, ekstrak metanol dari daun kunyit diatas menunjukkan kemampuan sangat kuat dalam aktivitas antioksidan karena memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ekstrak n-heksana menunjukkan kemampuan yang lemah karena memiliki nilai $IC_{50} > 150$. Nilai IC_{50} yang diperoleh secara berurutan dari sampel kuersetin, ekstrak metanol, ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana adalah 5,697 ppm, 31.396 ppm, 52,910 ppm, 34,426 ppm, 190,193 ppm. Nilai IC_{50} ini menunjukkan konsentrasi dari ekstrak atau senyawa yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas suatu radikal bebas. Nilai tersebut dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang menghubungkan antara konsentrasi sampel (variabel x) dan presentase penghambatan (variabel y). Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi kemampuan penghambatan dari senyawa ekstrak yang telah diuji.

Hasil pengukuran presentase penghambatan penggunaan pelarut akan menentukan tingkat aktivitas antioksidan yang diperoleh ekstrak n-heksana menunjukkan aktivitas antioksidan paling rendah karena sifatnya yang non polar sehingga tidak mampu melarutkan senyawa fenolik atau flavonoid polar yang berperan utama dalam aktivitas antioksidan (Rizki *et al.*, 2024). Senyawa yang mungkin terekstraksi oleh n-heksana hanyalah sterol non-polar (fukosterol, Karotenoid, asam lemak). Sedangkan metanol menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi karena bersifat polar, sehingga mampu mengekstrak senyawa aktif seperti fenolik dan flavonoid dari sampel, yang diketahui memiliki peran dalam aktivitas antioksidan (Izzah, 2022)

KESIMPULAN

Penggunaan pelarut berbeda metanol, etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana mempengaruhi hasil ekstraksi kandungan senyawa bioaktif. Ekstrak dengan pelarut metanol yang termasuk pelarut polar memberikan hasil kandungan flavonoid total yaitu 54,032 mg QE/g paling tinggi dibandingkan pelarut lain. Ekstrak dengan pelarut metanol yang termasuk pelarut polar memberikan hasil kandungan fenolik total 64,893 mg GAE/g paling tinggi. Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak metanol mempengaruhi aktivitas antioksidan yang kuat yaitu 31,396 ppm, diikuti oleh ekstrak etil asetat, ekstrak etanol 96%, n-heksana. Urutan aktivitas antioksidan dari yang paling kuat ke lemah. Semakin rendah nilai IC_{50} maka akan semakin kuat dalam menangkal radikal bebas.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih atas dukungan, inspirasi dan bantuan kepada semua pihak dalam membantu peneliti menyelesaikan penelitian ini, termasuk pada peserta yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian hingga selesai

DAFTAR PUSTAKA

- Access, O., & Repository, I. (2015). When Citing, Please Refer To The Published Version. Link To This Full Text: [Http://Hdl.Handle.Net/None](http://hdl.handle.net/None). *International Journal Of ...*, May, 1–6. [https://Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2017.04.065](https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2017.04.065).Terms
- Astika Winahyu, D., Retnaningsih, A., & Aprillia, M. (2019). Determination Of Flavonoid Levels In Raru Wood Stone (*Cotylelobiummelanoxylopn*) With Method Uv-Vis

- Spectrofotometry Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Raru (Cotylelobiummelanoxylopn) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Analisis Farmasi*, 4(1), 29–36.
- Cahya, D., & Prabowo, H. (2019). Standarisasi Spesifik Dan Non-Spesifik Simplisia Dan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (Curcuma Domestica Val.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(1), 29. <https://doi.org/10.24843/Jfu.2019.V08.I01.P05>
- Comunian, T. A., Ravanfar, R., De Castro, I. A., Dando, R., Favaro-Trindade, C. S., & Abbaspourrad, A. (2017). Improving Oxidative Stability Of Echium Oil Emulsions Fabricated By Microfluidics: Effect Of Ionic Gelation And Phenolic Compounds. *Food Chemistry*, 233, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.085>
- Duque-Acevedo, M., Belmonte-Ureña, L. J., Cortés-García, F. J., & Camacho-Ferre, F. (2020). Agricultural Waste: Review Of The Evolution, Approaches And Perspectives On Alternative Uses. *Global Ecology And Conservation*, 22. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.E00902>
- Hasibuan, A. S., & Edrianto, V. (2021). Sosialiasi Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (Allium Cepa L.). *Jurnal Pengmas Kestra (Jpk)*, 1(1), 80–84. <https://doi.org/10.35451/jpk.V1i1.732>
- Ilyas, A., Novianty, I., & Irmayanti, I. (2015). Senyawa Golongan Steroid Dari Ekstrak N-Heksana Kulit Batang Kayu Bitti (Vitex Cofassus) Dan Uji Toksisitas Terhadap Artemia Salina Leach. *Chimica Et Natura Acta*, 3(3), 120–124. <https://doi.org/10.24198/Cna.V3.N3.9220>
- Izzah, N. R. A. (2022). Perbandingan Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Metanol Dan Etanol Daun Seledri (Apium Graveolens L.). *Octoral Dissertation, Universitas Muhammadiyah Gresik, 2012*, 4–17.
- Junnaeni, J., & Mahati, E. (2019). Ekstrak Tomat (Lycopersicon Esculentum Mill.) Menurunkan Kadar Glutation Darah Tikus Wistar Hiperurisemia. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 8(2), 758–767.
- Kupina, S., Fields, C., Roman, M. C., & Brunelle, S. L. (2019). Determination Of Total Phenolic Content Using The Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.13. *Journal Of AOAC International*, 102(1), 320–321. <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.1.320>
- Malahayati, N., Widowati, T. W., & Febrianti, A. (2021). Karakterisasi Ekstrak Kurkumin Dari Kunyit Putih (Kaemferia Rotunda L.) Dan Kunyit Kuning (Curcuma Domestica Val.). *Agritech*, 41(2), 134. <https://doi.org/10.22146/agritech.41345>
- Mauliddiyah, N. L. (2021). *Penentuan Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Lanang*. 10(3), 6.
- Mewar, D., Sitti Hadijah, & Nadila Bandian. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Gatal (Laportea Decumana (Roxb.) Wedd) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product*, 6(02), 161–166. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.V6i02.2400>
- Neng Alfa Siska, R., Siwi Artini, K., & Raharjo, D. (2022). *Flavonoid Total Dan Antioksidan Ekstrak Etanol*.
- Ngibad, K. (2023). Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, Dan Kadar Flavonoid Total Daun Jati Cina (Senna Alexandrina) Khoirul. *Lenterabio : Berkala Ilmiah Biologi*, 12(2), 204–211. <https://doi.org/10.26740/Lenterabio.V12n2.P204-211>
- Pratiwi, A. ., Yusran, Islawati, & Artati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun

- Binahong Hijau Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 8(August 2022), 66–74. <https://Journal.Unhas.Ac.Id/Index.Php/Bioma>
- Rifai, B., Ihsan, P., Farmasi, J., Kedokteran, F., Brawijaya, U., Malang, J. V., Nurhayati, I. P., & Maysaroh, I. (2018). Validasi Metode Ultra High Performance Chromatography Double Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) Untuk Analisis Kurkumin Pada Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma Longa*) Dengan Berbagai Perbandingan. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 4(1), 29–34.
- Rizki, M. I., Rahmatullah, S. W., Sari, A. K., Lingga, H. N., Gustina, A. L., & Total, K. F. (2024). *Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Daun Kacip Fatimah (Labisia Pumila) Menggunakan*. 08(02), 125–136.
- Saputri, A. D. S., & Sa'ad, M. (2023). Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolius*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 6(1), 51–58. <https://doi.org/10.35799/Pmj.V6i1.48197>
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata Cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 27. <https://doi.org/10.24843/ItEpa.2019.V08.I01.P04>
- Ummah, M. S. (2021). Buku Referensi Ekstraksi. Institut Agama Islam Palangkaraya. *Noor Hujjatusnaini*, 11(1), 1–14.
- Wahyuningtyas, S. E. P., Permana, I. D. G. M., & Wiadnyani, S. (2017). The Effect Of The Kinds Of Solvent To Curcumin Content And Antioxidant Activity Of The Extract Turmeric (*Curcuma Domestica* Val.). *Jurnal ITEPA*, 6(2), 61–70.
- Widiatmika, K. P. (2015). Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana Bertoni Dengan Variabel Jenis Pelarut Dan Temperatur. *Etika Jurnalisme Pada Koran Kuning : Sebuah Studi Mengenai Koran Lampu Hijau*, 16(2), 39–55.