

Fitokimia, Kadar Fenolik Total, dan Flavonoid Total serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksana Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb)

Ika Resmeiliana¹, Ishika Jauza Nasywa¹, Fadia Fahira¹, Nafisa Muthia Wafa¹, M. Raffi Rayandhika¹, Andi Thariq Muhammad¹, Arini Septianti¹, Hafizah Fatunisa¹, Auliya Ilmiawati^{2,3*}

¹Program Studi Analisis Kimia, Sekolah Vokasi IPB, Kota Bogor, Indonesia

²Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor, Indonesia

³Pusat Studi Biofarmaka IPB, Bogor, Indonesia

Corresponding Author:

Auliya Ilmiawati

aulia.ilmiawati@apps.ipb.ac.id

Received: March 2023

Accepted: May 2023

Published: Sept 2023

©Auliya Ilmiawati et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Abstract

The rhizome of black turmeric (*Curcuma aeruginosa*) is a plant rich in benefits and has been used as a herbal medicine to treat various health problems. This study aims to obtain the *n*-hexane extract of black turmeric rhizome and perform phytochemical tests, determine total phenolic and total flavonoid levels, as well antioxidant tests using the DPPH method. Extraction of *n*-hexane from black turmeric rhizome obtained yield of 4.88%, total phenolic content of 3.01 mg QE/g extract and total flavonoids of 6.31 mg QE/g extract. The phytochemical test obtained positive results for the presence of alkaloids and flavonoids; negative tannins, steroids/triterpenoids and saponins. Antioxidant tests using the DPPH method obtained the percentage of DPPH capture ranging from 76-78%, with the largest percentage value obtained when the extract concentration was 125 ppm, which was 78.02%. This shows that black turmeric *n*-hexane extract has weak antioxidant activity.

Keywords: *antioxidant, black turmeric, curcuma aeruginosa, flavonoids, phenol.*

Pendahuluan

Indonesia identik dengan keragaman sumber daya alam terutama tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional dan telah dimanfaatkan sejak lama. Bahan baku tersebut mudah ditanam sendiri dan diperoleh. Salah satu tanaman tradisional yang banyak dimanfaatkan di Indonesia adalah jenis temu-temuan. Tanaman dari suku Zingiberaceae jenis temu-temuan selain digunakan sebagai rempah untuk memasak, juga biasa sebagai obat herbal. Salah satu tanaman jenis tersebut, yaitu temu hitam.

Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) merupakan tumbuhan dengan rimpang yang

banyak digunakan sebagai campuran jamu atau obat. Temu lotong atau temu ireng merupakan nama lain dari temu hitam. Terdapat berbagai khasiat dari tanaman temu hitam yang telah dilaporkan, diantaranya adalah sebagai antibakteri^[1], anti-androgenik^[2], antinosiseptiv^[3], antikanker^[4], antihelmintik^[5], antipiretik dan anti-inflamasi^[6], serta antioksidan^[7]. Berbagai khasiat tersebut berasal dari kandungan metabolit sekunder dalam tanaman temu hitam. Kandungan kimia dari rimpang temu hitam yang telah dilaporkan, yaitu saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri^[8].

Dari semua aktivitas yang dimiliki tanaman temu hitam, salah satu yang paling berpotensi

adalah sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa turunan fenolik yang paling banyak ditemukan pada jenis temu-temuan dan sangat aktif sebagai antioksidan^[9]. Selain itu dari beberapa spesies famili Zingiberaceae, kapasitas antioksidan tertinggi dihasilkan pada minyak atsiri daun temu hitam^[10]. Berdasarkan penelusuran literatur, penelitian terkait antioksidan tanaman temu hitam banyak dilakukan terhadap minyak atsiri atau ekstrak etanol, sedangkan belum banyak yang menguji ekstrak *n*-heksana temu hitam sebagai antioksidan. Oleh karenanya pada penelitian ini bertujuan melihat kemampuan antioksidan dari ekstrak *n*-heksana temu hitam.

Terdapat beberapa metode pengujian aktivitas antioksidan, diantaranya yaitu metode *Thiobarbituric acid (TBA)*, *Ferrous Ion Chelating (FIC)* (reaksi kelat atau melalui pembentukan kompleks), *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)* (reaksi reduksi-oksidasi), dan *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)* (reaksi dengan radikal bebas)^{[10],[11]}. Pada percobaan ini digunakan metode DPPH. Sebelum diuji aktivitas antioksidan, dilakukan analisis fitokimia terlebih dahulu untuk skrining keseluruhan metabolit sekunder yang ada pada ekstrak *n*-heksana temu hitam. Pada percobaan ini juga dikerjakan penentuan kadar fenolik total dan flavonoid total karena aktivitas antioksidan biasanya berasal dari senyawa golongan fenolik dan flavonoid, sehingga akan dilihat hubungan ketiganya.

Metodologi Penelitian

Bahan kimia

Bahan-bahan yang digunakan pada percobaan ini yaitu rimpang temu hitam asal Bogor, pelarut *n*-heksana teknis, FeCl₃, Serbuk Mg, HCl pekat, Amil alkohol, Kloroform, Amonia, Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Liebermann-Burchard, metanol, larutan asam galat 100 ppm, Na₂CO₃, pereaksi Folin-Ciocalteu, vitamin C, K₃Fe(CN)₆ 1%, buffer fosfat pH 6.6 0.2 M, akuades, kuersetin, asam asetat 5%, pereaksi AlCl₃ 10%, etanol, metanol, DPPH.

Peralatan

Beberapa peralatan pada percobaan ini yaitu gelas piala, sudip, neraca analitik, batang pengaduk, aluminium foil, kertas saring, gelas ukur, evaporator, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, spektrofotometer, vortex, labu takar, kaca arloji, botol vial, pipet mohr, pipet tetes.

Prosedur penelitian

Ekstraksi Rimpang Temu Hitam

Sebanyak 25 g rimpang temu hitam ditimbang menggunakan neraca analitik sebanyak 4 ulangan. Selanjutnya sampel dilarutkan dengan *n*-heksana sebanyak 250 mL. Kemudian gelas piala ditutup oleh aluminium foil dan selama 30 menit dilakukan pengadukan manual menggunakan batang pengaduk. Setelah itu sampel disaring memakai kertas saring. Perendaman tersebut dikerjakan sebanyak tiga kali dengan ulangan kedua digunakan volume *n*-heksana sebanyak 150 mL dan ulangan ketiga volume *n*-heksana sebanyak 50 mL. Selanjutnya maserat pada masing-masing perlakuan dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Tahap terakhir ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dihitung total rendemennya.

Pengujian Fitokimia [12]

Pengujian fitokimia dilakukan dengan berbagai uji kualitatif yaitu uji flavonoid, alkaloid, triterpenoid/steroid, saponin, dan tanin.

Uji Kualitatif Flavonoid

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 25 mL air panas, kemudian selama 5 menit dididihkan lalu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Sejumlah 5 mL filtrat di dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL HCl pekat, 0.1 mg serbuk Mg, dan 1 mL amil alkohol lalu dikocok kuat. Setelah itu, diamati warna yang terbentuk. Warna pada lapisan amil alkohol merah, kuning, jingga menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Kualitatif Alkaloid

Sebanyak 0.3 g ekstrak dilarutkan dalam 10 mL kloroform-ammonia (3:1) lalu disaring. Kemudian, hasil filtratnya ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2 M lalu dikocok sehingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan asam yang tidak berwarna. Lapisan asam dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi berbeda kemudian pada tabung 1 ditambahkan pereaksi Mayer, tabung 2 pereaksi Dragendorf dan tabung 3 pereaksi Wagner. Selanjutnya diamati adanya alkaloid dari adanya endapan yang berwarna putih pada tabung reaksi 1, jingga pada tabung reaksi 2 dan coklat pada tabung reaksi 3.

Uji Kualitatif Triterpenoid/Steroid

Sebesar 0.3 g ekstrak ditambahkan 25 mL dietil eter dan dihomogenkan. Terbentuk 2 fase yaitu lapisan dietil eter dipisahkan (disaring) untuk uji steroid/triterpenoid dan residunya untuk uji saponin. Ke dalam lapisan dietil eter ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Dilakukan pengamatan pada lapisan dietil eter, enunjukkan adanya steroid/triterpenoid jika terbentuk warna hijau-biru.

Uji Kualitatif Saponin

Residu pada sampel uji triterpenoid/steroid dilarutkan dalam 5 mL air kemudian selama 5 menit dipanaskan. Lalu larutan didinginkan dan dikocok kuat. Terbentuknya busa yang bertahan selama 15 menit diartikan positif terhadap saponin.

Uji Kualitatif Tanin

Sebesar 0.1 g ekstrak dilarutkan dalam 1 mL metanol lalu disaring dan diambil filtratnya. Setelah itu filtrat ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1% dan diamati. Warna hijau, biru atau ungu ditunjukkan sebagai hasil positif dari adanya tanin.

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Temu Hitam^[13]

Standar Asam Galat dibuat dengan cara dilakukan pengenceran asam galat dari 100

ppm menjadi 0, 10, 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm dalam labu takar 25 mL, lalu labu takar ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu, dibuat larutan stok 2000 ppm ekstrak temu hitam. Sebanyak 100 mg ekstrak temu hitam ditimbang dan dilarutkan dengan metanol lalu ditera pada labu takar 50 mL. Kemudian, sebesar 2.5 mL larutan standar asam galat dimasukkan ke dalam masing-masing labu takar 25 mL lalu ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu ditambahkan 2 mL Na_2CO_3 dan dibiarkan selama 2 menit, kemudian ditambahkan 0.5 mL Folin-Ciocalteu dan ditera dengan akuades. Lalu larutan didiamkan di ruang gelap selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm (pada penelitian ini tidak menentukan panjang gelombang terlebih dahulu karena sudah melakukan di penelitian-penelitian sebelumnya). Prosedur yang sama dilakukan juga terhadap ekstrak.

Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Temu Hitam^[14]

Penetapan kadar Flavonoid total dalam simplisia tumbuhan dilakukan dengan metode spektrofotometri. Pembuatan deret standar dilakukan dengan cara menimbang standar kuersetin 0.5 g kemudian dilarutkan dengan metanol 1 L. Lalu dibuat larutan kuersetin 100 ppm dari stok awal yang dibuat, dan dibuat deret standar dari kuersetin 100 ppm dengan memipet 2.5; 5; 10; 20, dan 40 mL kemudian masing-masing ditera dengan metanol sampai 50 mL. Pengukuran serapan dengan spektrofotometer dilakukan dengan cara sebanyak 10 mL standar/ekstrak dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan ditera dengan asam asetat 5%, lalu selama 30 menit diinkubasi. Kemudian diukur serapannya dengan panjang gelombang 425 nm (pada penelitian ini tidak menentukan panjang gelombang terlebih dahulu karena sudah melakukan di penelitian-penelitian sebelumnya).

Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH^[15]

Penetapan uji aktivitas antioksidan melalui metode spektrofotometri dilakukan dengan cara disiapkan larutan DPPH 0.02% dalam metanol dan larutan bahan uji 50-500 µg/mL, lalu dalam tabung reaksi dicampurkan 2 mL larutan DPPH 0.02% dengan 6 mL larutan sampel/standar. Kemudian campuran dikocok kuat dengan vortex pada suhu kamar di ruang gelap selama 30 menit. Kemudian serapan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai control negative adalah DPPH tanpa sampel dan sebagai kontrol positif/standar digunakan vitamin C (pada penelitian ini tidak menentukan panjang gelombang terlebih dahulu karena sudah melakukan di penelitian-penelitian sebelumnya).

Hasil dan Diskusi

Rendemen Ekstrak

Bagian rimpang merupakan bagian yang digunakan sebagai sampel. Rimpang temu hitam dikeringkan terlebih dahulu dengan menggunakan oven sebelum dilakukan proses ekstraksi, hal ini dengan tujuan untuk mengurangi kandungan air di dalam rimpang. Proses selanjutnya adalah proses ekstraksi metode maserasi. Proses maserasi adalah kegiatan pengambilan senyawa kimia secara sederhana dengan merendam simplisia rimpang menggunakan pelarut tertentu yang sesuai sehingga bahan menjadi lunak dan larut pada suhu kamar. Maserasi merupakan teknik ekstraksi untuk mengambil zat-zat berkhasiat pada simplisia yang tidak tahan terhadap panas^[16]. Rendemen ekstrak yang didapatkan adalah sebesar 4.88%. Hasil percobaan lebih besar jika nilainya dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh penelitian lain yang menghasilkan rendemen sebesar 1.46% dengan penggunaan 100 g simplisia dan volume pelarut yang sama pada penelitian ini (250 mL *n*-heksana)^[8]. Hal tersebut terjadi dikarenakan perbedaan metode ekstraksi yang digunakan, dimana penelitian pada literatur tersebut menggunakan metode Soxhlet dan

distilasi yang menggunakan suhu tinggi sehingga kemungkinan banyak metabolit sekunder yang menguap atau terdegradasi dan membuat rendemen yang dihasilkan pada penelitian tersebut lebih rendah. Faktor lain yang juga mempengaruhi rendemen yaitu tempat tumbuh tanaman yang berbeda.

Fitokimia Ekstrak

Pengujian kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam sampel dilakukan dengan uji kualitatif fitokimia. Pada pengujiannya dilakukan dengan penambahan pereaksi yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil data uji kualitatif fitokimia dari ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan pengujian fitokimia pada ekstrak *n*-heksana temu hitam menunjukkan hasil yang positif terhadap alkaloid dan flavonoid. Hasil ini sedikit berbeda dengan literatur yang melaporkan ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam positif terhadap flavonoid, saponin, dan triterpenoid^[17]. Perbedaan hasil tersebut dimungkinkan karena perbedaan lokasi tumbuh dari tanaman. Kondisi agrobiofisik dari daerah yang berbeda akan menentukan respon dan pertumbuhan yang berbeda sehingga memberikan perbedaan ekspresi genetik^[18]. Adanya senyawa flavonoid pada ekstrak *n*-heksana yang bersifat nonpolar dimungkinkan karena flavonoid yang terekstrak merupakan flavonoid yang kurang polar. Berdasarkan penelusuran literatur, pernah dilaporkan senyawa isoflavon yang semua gugus hidroksinya termetilasi dan juga mengikat gugus alkil pada cincin benzenanya^[19]. Ini membuat flavonoid yang biasanya bersifat polar menjadi kurang polar.

Kadar Fenol

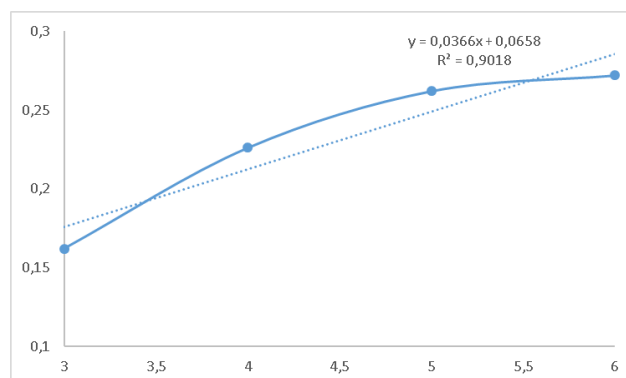
Pereaksi Folin Ciocalteu digunakan untuk analisis kandungan kadar fenolik total. Pereaksi ini ialah larutan kompleks ion polimerik yang terbentuk dari asam fosfotungstat ($H_3PW_{12}O_{40}$) dan asam fosfomolibdat ($H_3PmO_{12}O_{40}$) yang dapat mengukur senyawa fenolik dalam sampel.

Tabel 1. Hasil data uji fitokimia ekstrak *n*-heksana rimpang

Parameter Fitokimia	Indikator	Perubahan	Hasil percobaan
Alkaloid	- Mayer	- terdapat endapan putih	+
	- Dragendorf	- terdapat warna jingga	+
	- Wagner	- terdapat warna coklat	+
Flavonoid	Amil alkohol	Jingga	+
Steroid / triterpenoid	Lieberman-Buchard	Jingga	-
Saponin	-	tidak terbentuk busa	-
Tanin	FeCl ₃ 1%	kuning	-

Keterangan:

- + = Positif
- = Negatif

**Gambar 1.** Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat pada Panjang Gelombang 750 nm

Tahap selanjutnya dengan penambahan Na_2CO_3 yang berfungsi sebagai pemberi suasana basa sehingga terbentuk oksotungstat dan oksomolibdat di dalam campuran, dan terjadi proses disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat dengan dihasilkannya warna biru pada sampel. Warna biru yang dihasilkan semakin pekat ketika semakin besar kadar fenolik total dalam suatu ekstrak^[20]. Metode Folin-Ciocalteu memiliki beberapa kelebihan, yaitu cepat dan mudah pengerjaannya, serta tidak membutuhkan instrumentasi yang rumit maupun pereaksi yang mahal^[21].

Pembuatan kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi standar asam galat dan serapannya seperti pada Gambar 1 dengan melakukan pengukuran serapan larutan standar asam galat pada panjang gelombang 750 nm, sehingga persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = 0.0366x + 0.0658$ dan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0.9018. Nilai koefisien determinasi yang didapatkan merupakan nilai koefisien determinasi yang menggambarkan persamaan yang baik, yaitu mendekati 1. Hal ini karena pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat adalah besar^[22].

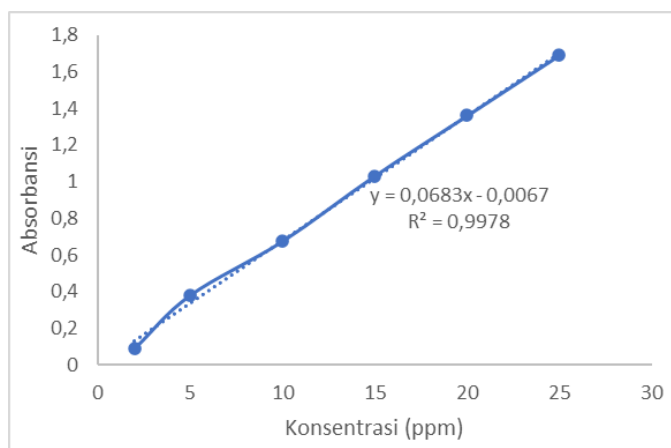
Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa hubungan yang erat antara konsentrasi dan serapan. Nilai serapannya semakin besar jika nilai konsentrasinya semakin besar. Persamaan regresi linear yang diperoleh pada Gambar 1 digunakan untuk menentukan kadar fenolik total ekstrak dengan cara memasukkan nilai serapan dari ekstrak temu hitam ke dalam persamaan regresi. Berdasarkan perhitungan, diperoleh kadar total fenol ekstrak *n*-heksana temu hitam pada percobaan sebesar 3.01 mg GAE/g ekstrak. Menurut literatur, dilaporkan kadar fenol dari ekstrak etanol rimpang temu hitam sebesar 51.49 mg GAE/g ekstrak^[23], sedangkan dari penelitian lainnya diketahui kadar fenol ekstrak etil asetat daun temu hitam sebesar 80.53 mg GAE/g ekstrak dan kadar fenol ekstrak metanol sebesar 91.71 mg GAE/g ekstrak^[24]. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar fenolik total pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan ekstrak lainnya. Berdasarkan penelusuran literatur belum ditemukan laporan mengenai kandungan fenolik total ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam, sehingga untuk membandingkan total fenolik pada ekstrak *n*-heksana dilakukan terhadap spesies lain yang berada dalam satu genus, yaitu *Curcuma*. Ekstrak *n*-heksana *Curcuma aromatica* Salisb dilaporkan memiliki kandungan total fenolik yang paling kecil diantara ekstrak lainnya dari spesies yang sama (ekstrak metanol, etil asetat, dan kloroform *C. aromatica*), yaitu dibawah 20 GAE/g ekstrak^[25]. Hal ini semakin menguatkan bahwa *n*-heksana memang pelarut yang kurang baik dalam mengekstrak senyawa fenol, dikarenakan *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar, sedangkan senyawa fenol umumnya merupakan senyawa polar sehingga hanya sedikit senyawa fenol yang terekstrak menggunakan pelarut *n*-heksana. Salah satu senyawa turunan fenol yang bisa terekstrak pada pelarut nonpolar yaitu golongan kumarin. Hal ini seperti yang didapatkan dari literatur bahwa ekstrak *n*-heksana juga memungkinkan mengandung kumarin walau dengan konsentrasi yang rendah^[26].

Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak rimpang temu hitam dikerjakan secara analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Penggunaan metode ini karena senyawa flavonoid mengandung sebuah cincin aromatik yang terkonjugasi, sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak^[27]. Penetapan kadar flavonoid total dengan menggunakan metode kolorimetri dengan aluminium klorida. Sampel ekstrak akan membentuk kompleks larutan yang berwarna ketika direaksikan dengan aluminium klorida. Pada percobaan ini, kuersetin digunakan sebagai larutan standar dengan konsentrasi 2, 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Kuersetin merupakan salah satu senyawa turunan flavonoid golongan flavonol dengan gugus hidroksil pada atom C-5, C-7, C-3', dan C-4' sehingga dapat digunakan sebagai larutan standar^[28]. Deret konsentrasi standar digunakan karena metode penentuan kadar flavonoid ini merupakan metode yang menggunakan persamaan kurva standar kemudian diperoleh persamaan regresi linear dan selanjutnya digunakan untuk menghitung persen kandungan flavonoid total.

Hasil pengukuran serapan larutan standar kuersetin dilakukan pada panjang gelombang 425 nm (Gambar 2). Berdasarkan nilai serapan standar kuersetin, lalu dibuat kurva standar dan diperoleh persamaan garis linearnya ialah $y = 0.0683x - 0.0067$, dengan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0.9978 dan koefisien korelasi (R) = 0.9989.

Persamaan regresi linier yang diperoleh digunakan untuk menghitung kandungan flavonoid total pada ekstrak rimpang temu hitam dengan panjang gelombang 425 nm. Kandungan flavonoid total yang diperoleh yaitu 4.4 mg QE/g ekstrak. Menurut literatur kadar flavonoid ekstrak etanol rimpang temu hitam sebesar 33.36 mg QE/g ekstrak^[23], sedangkan dari penelitian lainnya diketahui kadar total flavonoid ekstrak etil asetat daun temu hitam sebesar 18.5 mg GAE/g ekstrak^[24].



Gambar 2. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin

Hasil penelitian tersebut menggambarkan bahwa kadar flavonoid total pada percobaan ini lebih kecil dibandingkan ekstrak lainnya. Jika dibandingkan dengan spesies lainnya dalam genus *Curcuma*, ekstrak *n*-heksana *Curcuma domestica* valetton dilaporkan memiliki kandungan flavonoid sebesar 7.5 ppm, lebih kecil dari ekstrak kloroform, metanol, dan air^[29]. Alasan yang sama seperti pada hasil penentuan kadar total fenol, dimana flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenolik dan sebagian besar bersifat polar, sehingga hanya sedikit yang terekstrak menggunakan pelarut *n*-heksana yang merupakan pelarut nonpolar.

Kadar Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang bisa mencegah terjadinya reaksi oksidasi dengan cara pengikatan senyawa radikal bebas untuk mengembalikan bentuk molekul normalnya dan mencegah berbagai kerusakan yang diakibatkannya. Untuk mengetahui kandungan antioksidan ekstrak temu hitam dikerjakan analisis dengan metode DPPH. Pada metode tersebut digunakan vitamin C sebagai pembanding atau standar. Hal ini karena Vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan terbesar dengan memiliki 2 gugus hidroksi (-OH) pada ikatan rangkapnya, sehingga mempermudah terjadinya oksidasi oleh radikal bebas. Selain itu vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi karena tidak mengalami proses ekstraksi dan fraksinasi^{[30],[31]}.

Pada umumnya pengukuran daya penangkapan radikal bebas menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil, memiliki fungsi sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas. Reduksi dari larutan DPPH oleh zat antioksidan merupakan dasar metode cara penangkapan radikal bebas. Ketika zat yang bersifat antioksidan bertemu dengan larutan DPPH yang berwarna ungu maka larutan DPPH akan tereduksi dan menyebabkan terpudarnya warna ungu menjadi berwarna kuning yang berasal dari gugus pikril^[32].

Untuk menentukan kadar antioksidan pada sampel temu hitam dilakukan pengukuran standar vitamin C serta larutan sampel menggunakan spektrofotometer ultraviolet – sinar tampak. Serapan yang terukur digunakan untuk menghitung persen penangkapan DPPH oleh antioksidan. Antioksidan yang terhitung dalam sampel temu hitam dinyatakan dalam persen penangkapan DPPH dan mg/g ekuivalen vitamin C. Berikut data hasil pengukuran kadar antioksidan metode DPPH (Tabel 2 dan 3).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak temu hitam yang dianalisis mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah. Tabel 3 menunjukkan persentase penangkapan DPPH pada ekstrak temu hitam yang berkisar antara 76-78%, dengan nilai persentase terbesar didapatkan saat konsentrasi ekstrak 125 ppm, yaitu sebesar 78.02%.

Tabel 2. Data aktivitas antioksidan vitamin C metode DPPH

Konsentrasi Vitamin C (ppm)	Absorbansi	Penangkapan DPPH (%)
Kontrol	1.511	-
1	0.308	79.62
2	0.275	81.80
3	0.152	89.94
4	0.166	89.01
5	0.125	91.73
6	0.113	92.52

Tabel 3. Data aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam metode DPPH

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Absorbansi	Penangkapan DPPH (%)	Kandungan Antioksidan (%)	mg/g ekuivalen vitamin C
50	0.355	76.51	1.39	0.0083
75	0.342	77.37	4.44	0.0266
125	0.332	78.02	5.11	0.0307

Nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Pada vitamin C digunakan rentang konsentrasi yang lebih kecil dan didapatkan persentase penangkapan DPPH lebih besar, yaitu 79-92%. Persentase penangkapan DPPH terbesar diperoleh pada konsentrasi 6 ppm, dengan nilai penangkapan DPPH 92.52%. Kandungan antioksidan pada ekstrak temu hitam kemudian dikonversi menjadi miligram/gram ekuivalen vitamin C, karena pada penelitian ini digunakan vitamin C sebagai standar atau kontrol. Jika dikonversikan, ekstrak temu hitam memiliki kandungan antioksidan yang setara dengan 0.0083-0.0307 mg/g ekuivalen vitamin C. Data hasil penelitian dibandingkan dengan literatur yang menggunakan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*) didapatkan persentase DPPH pada konsentrasi 50 ppm dan

70 ppm berturut-turut sebesar 77.48% dan 83.78%^[33]. Persentase DPPH yang didapatkan pada analisis memiliki nilai yang lebih kecil jika dibandingkan dengan persentase DPPH pada literatur. Hal ini menunjukkan rendahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak *n*-heksana temu hitam.

Kesimpulan

Rendemen ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam diperoleh sebesar 4.88% dan dari hasil kualitatif uji fitokimia menunjukkan positif alkaloid dan flavonoid; serta negatif terhadap uji kualitatif tanin, steroid/triterpenoid, dan saponin. Kadar fenolik total yang didapatkan sebesar 3.01 mg QE/g ekstrak dan kadar flavonoid total sebesar 4.4 mg QE/g ekstrak. Persentase penangkapan DPPH pada ekstrak temu hitam berkisar antara 76-78%, dengan

nilai persentase terbesar didapatkan saat konsentrasi ekstrak 125 ppm, yaitu sebesar 78.02%. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa ekstrak *n*-heksana rimpang temu hitam memiliki kemampuan antioksidan yang rendah.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Program Studi Analisis Kimia Sekolah Vokasi IPB yang sudah memberikan fasilitas pengukuran dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Marliani, L., Sukmawati, I. K., Juanda, D., Anjani, E. & Anggraeni, I., Penapisan Fitokimia, Kadar Kurkuminoid dan Aktivitas Antibakteri Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* (Christm) Roscoe.), Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Herb-Medicine J.*, **4(1)**: 57–64 (2021).
- Suphrom, N., Pumthong, G., Khorana, N., Waranuch, N., Limpeanchob, N. & Ingkaninan, K., Anti-androgenic effect of sesquiterpenes isolated from the rhizomes of *Curcuma aeruginosa* Roxb. *Fitoterapia*, **83(5)**: 864–871 (2012).
- Hossain, C. F., Al-Amin, M., Sayem, A. S. M., Siragee, I. H., Tunan, A. M., Hassan, F., Kabir, M. M., *et al.*, Antinociceptive principle from *Curcuma aeruginosa*. *BMC Complement. Altern. Med.*, **15(197)**: 1–7 (2015).
- Fitria, R., Seno, D. S. H., Priosoeryanto, B. P., Hartanti. & Nurcholis, W., Volatile compound profiles and cytotoxicity in essential oils from rhizome of *Curcuma aeruginosa* and *Curcuma zanthorrhiza*. *Biodiversitas*, **20(10)**: 2943–2948 (2019).
- Vanda, H., Parindra, R., Hambal, M. & Athaillah, F., Anthelmintic Activity of *Curcuma Aeruginosa* Roxb Extract on *Fasciola gigantica* in Vitro. *E3S Web Conf.*, **151(01046)**: 1–3 (2020).
- Reanmongkol, W., Subhadhirasakul, S., Khaisombat, N., Fuengnawakit, P., Jantasila, S. & Khamjun, A., Investigation the antinociceptive, antipyretic and anti-inflammatory activities of *Curcuma aeruginosa* Roxb. extracts in experimental animals. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, **28(5)**: 999–1008 (2006).
- Simoh, S., Shin, S. Y., Rahim, F. A., Ahmad, M. A. & Zainal, A., Comparative analysis of metabolites and antioxidant potentials from different plant parts of *Curcuma aeruginosa* Roxb. *Sains Malaysiana*, **47(12)**: 3031–3041 (2018).
- Arsa, A. K. & Achmad, Z., Ekstraksi minyak atsiri dari rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Rox) Dengan Pelarut etanol dan *n*-heksana. *J. Teknol. Technoscintia*, **13(1)**: 83–94 (2020).
- Maesaroh, K., Kurnia, D. & Al Anshori, J., Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chim. Nat. Acta*, **6(2)**: 93–100 (2018).
- Batubara, I., Zahra, U., Darusman, L. K. & Maddu, A., Minyak atsiri daun Zingiberaceae sebagai antioksidan dan antiglikasi. *Indones. J. Essent. Oil*, **1(1)**: 44–52 (2016).
- Sumazian, Y., Syahida, A., Hakiman, M. & Maziah, M., Antioxidant activities, flavonoids, ascorbic acid and phenolic contents of Malaysian vegetables. *J. Med. Plants Res.*, **4(10)**: 881–890 (2010).
- Shaikh, J. R. & Patil, M., Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *Int. J. Chem. Stud.*, **8(2)**: 603–608 (2020).
- Aghajani, Z. & Engashte-Vahed, A. A., Composition of volatile oils and antioxidant activity of water extracts of leaves of *Ziziphus jujuba* mill. From central Iran. *Malaysian Appl. Biol.*, **44(2)**: 93–98 (2015).
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N., Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, **97**: 654–

- 660 (2006).
15. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T., Antioxidative Properties of Xanthan on the Autoxidation of Soybean Oil in Cyclodextrin Emulsion. *J. Agric Food chem*, **40**: 945–948 (1992).
 16. Zulfiah, Z., Megawati, M., Herman, H., H. Ambo Lau, S., Hasyim, M. F., Murniati, M., Roosevelt, A., *et al.*, Uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J. Farm. Sandi Karsa*, **6(1)**: 44–49 (2020).
 17. Mustariani, B. A. A., Izuddin, A., Hasyim, D. M. & Batubara, I., Uji Toksisitas dan Aktivitas Antimakan Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*curcuma aeruginosa* roxb). *J. Farmasetis*, **6(1)**: 1–8 (2017).
 18. Nurcholis, W., Khumaida, N., Syukur, M. & Bintang, M., Analisis Kemiripan 20 Aksesi Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Berdasarkan Warna Rimpang, Hasil Ekstrak, dan Kandungan Fitokimia. *J. Agron. Indones. (Indonesian J. Agron.)*, **44(3)**: 315–321 (2016).
 19. Nugrahaningtyas, K. D., Matsjeh, S. & Wahyuni, T. D., Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi*, **3(1)**: 32–38 (2005).
 20. Ahmad, A. R., Juwita, J., Ratulangi, S. A. D. & Malik, A., Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharm. Sci. Res.*, **2(1)**: 1–10 (2015).
 21. Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N. & Walsh, P. J., A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochem. Anal.*, **30(6)**: 587–599 (2019).
 22. Zuhri., Analisis Regresi Linier dan Korelasi menggunakan Pemrograman Visual Basic. *J. Ilman J. Ilmu Manaj.*, **8(2)**: 42–50 (2020).
 23. Sandrasari, D. A., Sabariman, M. & Azni, I. N., Determination of potential level of Indonesian rhizomes as an antioxidant based on phenolic compound and antioxidant activity. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, **383(012017)**: (2019).
 24. Zahra, u., Kartika, y., Batubara, i., Darusman, I. K. & Maddu, A., Short Communication: Screening the potency of Zingiberaceae leaves as antioxidant and antiaging agent. *Nusant. Biosci.*, **8(2)**: 221–225 (2016).
 25. Al-reza, S. M., Rahman, A., Sattar, M. A., Rahman, M. O. & Fida, H. M., Essential oil composition and antioxidant activities of *Curcuma aromatica* Salisb. *Food Chem. Toxicol.*, **48(6)**: 1757–1760 (2010).
 26. Febriani, A. K. & Anam, K., Identifikasi Kumarin dan Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Total Kumarin pada Ekstrak Buah Api-Api Putih (*A. marina*). *Med. Sains*, **7(4)**: 735–742 (2022).
 27. Aris, M. & Adriana, A., Penentuan Kadar Total Flavonoid Dan Nilai SPF (Sun Protection Factor) Ekstrak Etanol Rimpang Temu Ireng (*Curcuma Aeruginosa* Roxb.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *J. Pharm. Sci.*, **12(2)**: 85–93 (2022).
 28. Azizah, D. N., Kumolowati, E. & Faramayuda, F., Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dyah Nur Azizah, Endang Kumolowati, Fahrauk Faramayuda. *KARTIKA J. Ilm. Farm.*, **2(2)**: 45–49 (2014).
 29. Lee, J. H., Cho, S., Paik, H. D., Choi, C. W., Nam, K. T., Hwang, S. G. & Kim, S. K., Investigation on Antibacterial and Antioxidant Activities, Phenolic and Flavonoid Contents of Some Thai Edible Plants as an Alternative for Antibiotics. *Asian Australas. J. Anim. Sci*, **27(10)**: 1461–1468 (2014).
 30. Wibawa, J. C., Arifin, M. Z. & Herawati, L., Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *J. Sport Sci. Educ.*, **5(1)**: 57–63 (2020).
 31. Zuliani, N. E. & Kusuma, I. W., Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH)

- Ekstrak Metanol dan Fraksi - Fraksinya dari Daun Rumpun Knop (*Hyptis capitata* Jacq.). *J. At.*, **04(1)**: 36–40 (2019).
32. Rahmawati, R., Muflihunna, A. & Sarif, L. M., Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan metode DPPH. *J. Fitofarmaka Indones.*, **2(2)**: 97–101 (2016).
33. Kaban, A. N., Daniel. & Saleh, C., Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana dan Etil Asetat Terhadap Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *amarum*). *J. Kim. Mulawarman*, **14(1)**: 24–28 (2016).