

**ANTIOXIDANT ACTIVITY, DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC AND
TOTAL FLAVONOID CONTENT OF FRACTIONS AND EXTRACT OF
TURMERIC (*Curcuma longa* L.) LEAF**

Dwinata Rahayuningsih¹, Dian Marlina², Vivin Nopiyanti³
Email : rahayudwinata536@gmail.com

ABSTRACT

*Antioxidants are chemical compounds that donate electrons to free radicals to make them non-reactive and thus prevent degenerative diseases. A natural antioxidant that can be used is turmeric leaf (*Curcuma longa* L.). Turmeric leaf contain flavonoid which acts as antioxidant. The aim of this study is to determine the antioxidant activity of the n-hexane, ethyl acetate and water fractions of turmeric leaf extracts, as well as the total phenolic and total flavonoid levels of the fractions and extracts of turmeric leaves. Turmeric leaves were macerated using 96% ethanol. The extract obtained was fractionated with n-hexane, ethyl acetate and water and antioxidant activity was carried out with DPPH. Fractions and extracts were analyzed for total flavonoid content by $AlCl_3$ and total phenolic content by folin-ciocalteu, testing using UV-Vis spectrophotometry. The results of antioxidant activity testing with IC_{50} extracts, fractions of n-hexane, ethyl acetate and water amounted to $41,11 \pm 0,09$, $130,62 \pm 0,07$, $32,35 \pm 0,03$, $100,30 \pm 0,2$ ppm. Total flavonoid content in the extract, fractions of n-hexane, ethyl acetate and water were $39,79 \pm 0,33$, $10,38 \pm 0,26$, $42,00 \pm 0,56$, $12,91 \pm 0,14$ mg QE/g. Total phenolic content in the extract, fractions n-hexane, ethyl acetate and water amounted to $140,74 \pm 0,21$, $55,41 \pm 0,19$, $303,86 \pm 0,99$, $63,88 \pm 0,56$ mg GAE/g. It can be concluded that the ethyl acetate fraction of turmeric leaf extract has the highest antioxidant activity, total flavonoids and total phenolics.*

Keywords: *antioxidant, turmeric leaves, phenolic, flavonoid*

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, PENENTUAN TOTAL FENOLIK DAN
FLAVONOID FRAKSI DAN EKSTRAK DAUN KUNYIT
(*Curcuma longa* L.)**

Dwinata Rahayuningsih¹, Dian Marlina², Vivin Nopiyanti³
Email : rahayudwinata536@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa kimia yang menyumbangkan elektron ke radikal bebas agar menjadi tidak reaktif. Antioksidan alam yang bisa dimanfaatkan yaitu daun kunyit (*Curcuma longa* L.). Kandungan flavonoid dalam daun kunyit bertindak sebagai antioksidan. Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui aktivitas antioksidan, kadar fenolik total dan flavonoid total pada fraksi n-heksana, etil asetat dan air ekstrak daun kunyit. Daun kunyit dimaserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak yang didapatkan dilanjutkan difraksinasi dengan n-heksana, etil asetat dan air serta dilakukan aktivitas antioksidan dengan DPPH. Fraksi dan ekstrak dianalisis kadar flavonoid total dengan AlCl_3 dan fenolik total dengan folin-ciocalteu, Pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengujian antioksidan dengan IC_{50} ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air yaitu $41,11 \pm 0,09$, $130,62 \pm 0,07$, $32,35 \pm 0,03$, $100,30 \pm 0,2$ ppm. Kadar flavonoid total pada ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air sebesar $39,79 \pm 0,33$, $10,38 \pm 0,26$, $42,00 \pm 0,56$, $12,91 \pm 0,14$ mg QE/g. Kadar fenolik total pada ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air sebesar $140,74 \pm 0,21$, $55,41 \pm 0,19$, $303,86 \pm 0,99$, $63,88 \pm 0,56$ mg GAE/g. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun kunyit memiliki aktivitas antioksidan, flavonoid total dan fenolik total tertinggi.

Kata kunci: antioksidan, daun kunyit, fenolik, flavonoid

PENDAHULUAN

Ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan kemampuan sistem biologis untuk membersihkan radikal bebas dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti aterosklerosis, kanker, penyakit kardiovaskular (Pizzino *et al.*, 2017). Antioksidan alami memiliki efek samping lebih kecil dibandingkan sintetik. Antioksidan sintetik terbukti sangat efektif, namun penggunaannya dibatasi karena konsumsi yang berlebih dapat menghasilkan racun serta menyebabkan kanker. Antioksidan alami memiliki keamanan yang lebih baik bila dikonsumsi (Rini, 2020).

Tanaman kunyit memiliki potensi dalam pengembangan produk obat tradisional karena manfaatnya yang banyak. Bagian tanaman kunyit yang sering dimanfaatkan yaitu bagian rimpangnya, namun bagian daunnya pun memiliki senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan hanya saja belum banyak diketahui masyarakat. Senyawa dalam daun kunyit yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin (Ilham *et al.*, 2018). Daun kunyit diekstraksi dengan etanol dan diuji aktivitas antioksidan. Hasil uji yaitu IC_{50} 45,94 ppm, kadar tersebut

termasuk antioksidan sangat kuat (Septiana & Simanjuntak, 2015).

Fenolik memiliki peran dalam melindungi sel dari radiasi UV-B dan kematian sel, serta menjaga agar DNA tidak mengalami dimerisasi atau kerusakan. Salah satu kelompok senyawa fenolik yang paling banyak adalah flavonoid. Tumbuhan biasanya mengandung satu atau lebih senyawa dari golongan flavonoid, dengan kandungan flavonoid khas. Flavonoid terdapat hampir di seluruh bagian tumbuhan. Flavonoid memiliki sifat antioksidan yang meningkatkan sistem imunitas terhadap penyakit (Hanin & Rarastoeti, 2017). Fraksinasi adalah teknik untuk memisahkan komponen kimia suatu ekstrak berdasarkan polaritasnya. Fraksinasi bisa digunakan untuk memurnikan suatu senyawa dan memisahkan dari senyawa lain. Pelarut yang biasa dipakai adalah air, etil asetat, dan *n*-heksana (Putri *et al.*, 2023).

Pengujian untuk menentukan antioksidan dalam tanaman bisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip spektrofotometri UV-Vis yaitu ketika cahaya monokromatik melewati senyawa, sebagian cahaya akan masuk, serta ada yang akan dipantulkan dan dipancarkan (Ada, 2023).

Metode DPPH digunakan untuk menguji antioksidan sebab DPPH dengan keunggulan yaitu sederhana, peka, serta hanya membutuhkan sampel yang sedikit untuk mampu mendeteksi aktivitas antioksidan (Handayani *et al.*, 2014). Berdasarkan penjelasan tersebut, peneliti tertarik meneliti tentang aktivitas antioksidan, kadar flavonoid total, dan fenolik total dari fraksi ekstrak daun kunyit yang belum ada pada penelitian sebelumnya. Tujuan dari penelitian adalah mengetahui aktivitas antioksidan, kadar fenolik total dan flavonoid total dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak daun kunyit (*Curcuma longa* L.).

METODE PENELITIAN

1. Alat

Timbangan analitik (Ohaus), corong buchner (Duran[®]), *vacuum rotary evaporator* (IKA[®] HB 10 Basic), blender (Miyako), labu ukur, corong pisah (Pyrex), spektrofotometer UV-Vis (Scimadzu tipe UV-1800), tabung reaksi, gelas beaker, ayakan 40 mesh, wadah maserasi, oven (Memmert), *waterbath* (Memmert), pipet volume (Iwaki).

2. Bahan

Daun kunyit (*Curcuma longa* L) yang diperoleh dari daerah

Tawangmangu, aquadest, etanol 96%, etanol p.a, asam galat, kuersetin, DPPH, *n*-heksana, etil asetat, AlCl₃, natrium asetat, dan folin-Ciocalteu.

3. Prosedur Penelitian

a. Determinasi Tanaman

Tujuan dari determinasi adalah mengetahui keaslian dari tanaman dilihat dari ciri morfologi, makroskopis, mikroskopis daun kunyit sesuai pustaka dan di buktikan di Laboratorium Terpadu, B2P2TOOT Tawangmangu.

b. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk

Daun kunyit diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kota Karanganyar. Sampel daun kunyit segar disortasi untuk membersihkan sampel dari bahan asing dan pengotor. Selanjutnya pencucian dengan air mengalir, daun kunyit diangin-anginkan. Daun kunyit kering disortasi lagi, selanjutnya daun kunyit dihaluskan. Serbuk halus diayak dengan ayakan 40 mesh, kemudian simplisia disimpan (Kemenkes, 2017).

c. Uji Susut Pengeringan Simplisia

Pengujian susut pengeringan menggunakan alat *moisture analyzer*. Pengujian dilakukan dengan cara menimbang sebanyak

2 g sampel kemudian ditutup alatnya dan ditunggu hingga analisis selesai (Immanuel *et al.*, 2021).

d. Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk daun kunyit sebanyak 1200 g ditambah etanol 96% 12 liter dalam wadah maserasi. Didiamkan selama 3 hari sambil diaduk beberapa kali, kemudian maserat disaring. Ampas diremaserasi 2 hari dalam etanol 96% 6 liter. Maserat disaring dan dipekatkan pada suhu 40° C (Kemenkes, 2017). Pembuatan fraksi dengan menggunakan ekstraksi cair-cair (ECC). Caranya dengan ditimbang 10 g ekstrak kemudian di ECC dengan *n*-heksana 75 mL diulang sampai jernih, didapatkan fraksi *n*-heksana. Ampas kemudian di ECC dengan etil asetat 75 mL sampai jernih, sehingga didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi diuapkan di atas *waterbath* sampai terbentuk fraksi kental, kemudian dihitung rendemen yang didapatkan.

e. Uji Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan secara gravimetri. Ditimbang 0,5 g ekstrak dalam botol timbang dangkal yang telah ditara. Kemudian dipanaskan pada oven hingga bobot tetap yaitu dua

penimbangan selisihnya tidak lebih dari 0,25% yaitu 0,0012 g.

f. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi dan ekstrak meliputi uji alkaloid, flavononoid, fenolik, saponin dan steroid.

g. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Kuersetin digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan daun kunyit. pengujian λ maks dilakukan dengan cara DPPH 0,2 mM 2 mL dalam vial ditambahkan etanol p.a 2 mL. Kuersetin 10 mg dilarutkan dalam etanol p.a (konsentrasi 100 ppm). Kemudian dibuat pengenceran konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Ditimbang sampel sebanyak 80 mg, lalu ditambahkan etanol p.a 10mL (konsentrasi 8000 ppm). Kemudian dilakukan dibuat 5 seri pengenceran. *Operating time* dilakukan pada semua sampel dan kuersetin selama 60 menit.

Pengujiannya dengan cara masing-masing konsentrasi sampel dan kuersetin 2 mL dan dicampurkan 2 mL larutan DPPH 0,2 mM. Diinkubasi larutan selama *operating time* dan diukur absorbansi pada λ maks 518,5 nm (Amalia *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2020).

h. Penetapan Kadar Fenolik Total

Asam galat digunakan sebagai standar yang digunakan. Pengujian panjang gelombang maksimum dan *operating time* dengan cara 0,5 mL asam galat dicampurkan dengan 2,5 mL larutan Folin-Ciocalteu 7,5% diamkan 8 menit dan ditambahkan 2 mL NaOH 1%. Konsentrasi asam galat yang dipakai yaitu 30, 40, 50, 60, 70, 80 ppm.

Sampel ditimbang 80 mg ditambahkan metanol p.a 10 mL (konsentrasi 8000 ppm). Kemudian sampel dipipet 0,5 mL dan dicampurkan 2,5 mL larutan Folin-Ciocalteu 7,5%, diamkan 8 menit dalam vial. Ditambahkan 2 mL NaOH 1%, diinkubasi selama 58 menit dan diukur pada 730 nm (Kemenkes, 2017).

i. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Kuersetin digunakan sebagai standar yang digunakan. Pengujian panjang gelombang maksimum dan *operating time* dengan cara 0,5 mL asam galat direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan AlCl_3 10%, 0,1 mL $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 1M dan aquadest 2,8 mL. Konsentrasi kuersetin yang dipakai adalah 25, 50, 75, 100, 125 ppm.

Sampel 80 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol (konsentrasi

8000 ppm). Diinkubasi selama 25-38 menit dan absorbansi diukur pada 434,9 nm (Kemenkes, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi

Determinasi tanaman kunyit dilaksanakan pada Laboratorium Terpadu, B2P2TOOT Tawangmangu Karanganyar. Hasil determinasi tanaman kunyit dengan nomor TL.02.04/D.XI.6/2772.279/2024.

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel benar merupakan tanaman kunyit (*Curcuma longa* L).

2. Uji Susut Pengerinan Simplisia

Susut pengerinan suatu zat diukur berdasarkan zat yang menguap di dalam simplisia. Susut pengerinan dimaksudkan untuk mengetahui batas jumlah senyawa yang hilang selama proses pengerinan. Hasil yang didapatkan yaitu $4,5 \pm 0,36\%$. Hasil tersebut memenuhi syarat susut pengerinan yaitu tidak lebih 10%. Jika simplisia memiliki kandungan yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada simplisia terutama dapat menyebabkan tumbuhnya jamur pada simplisia selama masa penyimpanan.

3. Rendemen Ekstrak dan Fraksi

Daun kunyit yang telah kering didapatkan 1.400 g dari sampel

segar 12.200 g. Daun kunyit serbuk diekstraksi menggunakan etanol 96% karena etanol ini adalah pelarut universal yang mampu larutkan berbagai senyawa dengan polaritas yang bervariasi. Selain itu, etanol juga ekonomis, mudah menguap, dan tersedia secara luas. Metode maserasi yaitu ekstraksi dengan cara dingin atau tanpa pemanasan dengan beberapa kali pengadukan. Maserasi adalah metode ekstraksi yang prosesnya mudah, sederhana, serta tidak perlu pemanasan sehingga dapat mencegah kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan pemanasan. Simplisia daun kunyit diekstraksi dalam pelarut dengan rasio 1:10.

Remaserasi untuk meningkatkan banyaknya senyawa yang masih bisa tersari dari maserasi. Ekstrak etanol daun kunyit yang didapatkan yaitu 169,89 g dengan rendemen 14,16%. Rendemen tersebut lebih banyak daripada penelitian sebelumnya oleh Septiana dan Simanjuntak (2015), yaitu 6,7%.

Proses ECC dengan corong pisah, lapisan atas terdiri dari fraksi *n*-heksana dan etil asetat, sedangkan lapisan bawah terdiri dari fraksi air. Proses ECC merupakan pemisahan berdasarkan pada kelarutan

senyawa dalam pelarut, seperti kepolaran.

Fraksi kental yang didapatkan yaitu fraksi *n*-heksana 51%, etil asetat 9,7% dan air 12,14%. Berdasarkan hasil tersebut menggambarkan bahwa, ekstrak etanol daun kunyit memiliki sifat lebih non polar ditandai dengan fraksi yang didapatkan paling banyak yaitu fraksi *n*-heksana dengan presentase rendemen 51%. Kemudian fraksi yang paling banyak selanjutnya adalah fraksi air sebesar 12,14%. Fraksi yang paling sedikit didapatkan adalah fraksi etil asetat dengan persentase rendemen 9,7%.

4. Uji Kadar Air

Kadar air digunakan untuk menentukan jumlah air yang terkandung dalam sampel. Kadar air sangat penting karena dapat mempengaruhi kualitas, stabilitas serta konsentrasi sampel.

Tabel 1 Hasil Kadar Air

Sampel	Kadar Air (%)
Ekstrak	2,17 ± 0,43
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,83 ± 0,04
Fraksi etil asetat	0,30 ± 0,03
Fraksi air	0,40 ± 0,13

5. Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan dengan uji tabung sebagai berikut.

Tabel 2 Hasil Skrining Fitokimia

Uji	Hasil Pengujian			
	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Alkaloid	(-) Endapan coklat (Bouchardat)	(-) Endapan oranye (Dragedroff)	(-) Endapan oranye (Dragedroff)	(-) Endapan putih (Mayer)
Flavonoid	(+) kuning	(+) kuning kehijauan	(+) kuning kehijauan	(+) kuning
Fenolik	(+) hitam	(+) hitam	(+) hitam	(+) hitam
Saponin	Terbentuk busa	Terbentuk busa	Tidak berbusa	Terbentuk busa
Steroid	(+) Warna hijau	(+) Warna hijau	(+) Warna hijau	(-) Warna coklat kemerahan

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran λ_{maks} dimaksudkan untuk mengukur perubahan serapan pada setiap satuan konsentrasi analitik maksimum yang diperoleh.

λ_{maks} yang diperoleh yaitu 518,5 nm pada DPPH 0,2 mM. *Operating time* dilakukan menggunakan larutan DPPH 0,2 mM yang direaksikan dengan larutan kuersetin konsentrasi 1ppm selama 60 menit pada panjang gelombang 518 nm. *Operating time* yang didapatkan adalah kuersetin 26-30 menit, ekstrak 29-34 menit, *n*-heksana 27-31 menit, etil asetat 31-36 menit, dan air 24-32 menit. Hasil tersebut mendekati dengan *operating time* teoritis yaitu 30 menit (Amalia *et al.*, 2023).

Pengujian antioksidan daun kunyit menggunakan metode DPPH yang dapat mengetahui aktivitas penghambatan terhadap radikal

bebas dengan menggunakan serapan pada cahaya tampak. Prinsip dari pengujian antioksidan dengan DPPH yaitu mengukur derajat penurunan intensitas warna karena adanya interaksi DPPH dan antioksidan. DPPH akan direduksi menjadi bentuk non-radikal menjadi kuning (Flieger *et al.*, 2021).

Tabel 3 Hasil Uji Antioksidan

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Kuersetin	2,77 ± 0,02
Ekstrak	41,11 ± 0,15
Fraksi <i>n</i> -heksana	130,62 ± 0,07
Fraksi etil asetat	32,35 ± 0,03
Fraksi air	100,30 ± 0,2

Pembanding yang digunakan yaitu kuersetin, kuersetin telah banyak dalam penelitian karena aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Pada penelitian ini, nilai IC₅₀ yang dihasilkan oleh kuersetin sebesar 2,77 ± 0,02 ppm, yang termasuk aktivitas antioksidan

sangat kuat. Kuersetin termasuk senyawa polar. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid alami yang telah terbukti aktivitasnya dalam mencegah beberapa masalah kesehatan seperti alergi, penyakit kardiovaskular dan infeksi bakteri (Siswarni *et al.*, 2017).

Ekstrak menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $41,11 \pm 0,09$ ppm, yang termasuk kategori aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada penelitian ini lebih kecil daripada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Septiana dan Simanjuntak (2015), ekstraksi etanol daun kunyit dengan nilai IC_{50} 45,94 ppm. Beberapa faktor dapat mempengaruhi kandungan senyawa dari suatu tanaman, seperti faktor lingkungan, suhu, pemupukan, serta tanah. Sehingga setiap tanaman akan memiliki aktivitas yang sedikit berbeda.

Fraksi *n*-heksana menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $130,62 \pm 0,07$ ppm, yang merupakan kategori aktivitas antioksidan sedang. Fraksi etil asetat menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $32,35 \pm 0,03$ ppm, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada fraksi etil

asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa semi polar sehingga akan semakin banyak senyawa yang akan tersari dalam pelarut etil asetat daripada etanol. Fraksi air menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $100,30 \pm 0,2$ ppm, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang. Berdasarkan hasil analisis *one way* ANOVA dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total dan fenolik total berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan daun kunyit.

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh jumlah dan letak gugus -OH pada sampel. Semakin banyak jumlah radikal bebas yang dapat distabilkan, semakin besar jumlah elektron yang dipindahkan dari gugus hidroksil senyawa tersebut. Hal ini terjadi pada ekstrak etanol 96%, bagian etil asetat, dan bagian air. Fraksi *n*-heksana memiliki kekuatan yang sedang karena adanya senyawa dengan gugus lipofilik yang panjang. Bersamaan dengan bertambahnya waktu, jumlah gugus lipofilik yang menempel pada gugus OH akan berkurang. Kurangnya efektivitas aktivitas antioksidan senyawa triterpenoid bisa disebabkan oleh ikatan senyawa triterpenoid dengan senyawa lain penghambat interaksi

transfer elektron dan pengikatan triterpenoid. Senyawa memiliki sedikit gugus hidroksil dan jumlah atom hidrogen lebih sedikit dibandingkan radikal bebas, sehingga tidak dapat menstabilkan radikal (Susmayanti & Rahmadani, 2023).

7. Penetapan Kadar Fenolik Total

Standar yang dipakai yaitu asam galat. Panjang gelombang maksimum ditandai dengan absorbansi tertinggi. λ maks yang didapatkan adalah 730 nm pada konsentrasi asam galat 60 ppm. Hasil tersebut sesuai λ maks teoritis yaitu 730 nm (Kemenkes, 2017). *Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan suatu senyawa untuk bereaksi secara optimal. *Operating time* yang didapatkan adalah 58-60 menit. Hasil tersebut sesuai dengan *operating time* teoritis yaitu 60 menit (Kemenkes, 2017).

Pada pengujian, lingkungan yang asam memperlambat reaksi, sehingga menambahkan natrium hidroksida untuk membentuk suasana basa yang dapat mempercepat reaksi yang terjadi. Asam galat membentuk warna kuning ketika direaksikan dengan Folin-Ciocalteu menandakan keberadaan fenol, kemudian diikutkan larutan natrium hidroksida sebagai basa. Ketika terjadi reaksi, gugus hidroksil dari

senyawa fenolik berinteraksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu untuk membentuk kompleks tungsten molybdenum dengan cara Follin-Ciocalteau mengoksidasi gugus hidroksil pada senyawa fenolik. semakin banyak ion fenol yang mengurangi asam heteropoli (fosfomolibdenum-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungste, sehingga warna biru yang dihasilkan semakin gelap (Ningsih *et al.*, 2020).

Tabel 4 Hasil Uji Fenolik Total

Sampel	Kadar (mg GAE/g)
Ekstrak	140,74 $\pm$ 1,88
Fraksi n-heksana	55,41 $\pm$ 0,19
Fraksi etil asetat	303,86 $\pm$ 0,99
Fraksi air	63,88 $\pm$ 0,56

Ekstrak etanol daun kunyit menghasilkan kadar fenolik 140,74 $\pm$ 0,21 mg GAE/g. Ekstrak merupakan pelarut universal sehingga ekstrak memiliki kadar fenolik yang cukup tinggi. Fraksi *n*-heksana menghasilkan kadar fenolik 55,41 $\pm$ 0,19 mg GAE/g. Pada penelitian ini, kadar tersebut merupakan kadar fenolik total terkecil yang didapatkan. Pada fraksi *n*-heksana hanya dapat menyari senyawa non polar, sehingga senyawa fenolik yang tersari pun hanya sedikit. Pada fraksi etil asetat menghasilkan kadar fenolik total tertinggi yaitu

303,86 $\pm$ 0,99 mg GAE/g. Pada fraksi air menghasilkan kadar fenolik total 63,88 $\pm$ 0,56 mg GAE/g. Fraksi air hanya dapat menyari senyawa polar, sehingga fenolik yang disari tidak sebesar ekstrak etanol. Kemudian dilakukan analisis data dengan *one way ANOVA*, hasil uji tukey memberikan nilai sig < 0,05 maka terdapat perbedaan yang signifikan, hal ini dikarenakan terdapat perbedaan kadar fenolik total pada setiap sampel.

Kandungan total fenolik masing-masing sampel dinyatakan dalam *Galat Acid Equivalent* (GAE). Fraksi etil asetat memiliki kandungan fenolik total tertinggi, yakni 303,86 $\pm$ 0,99 mg GAE/g, yang berarti setiap g fraksi etil asetat setara dengan 303,86 mg asam galat. Fenolik adalah senyawa yang bisa menarik dalam pelarut etil asetat (semipolar) (Aprilianti *et al.*, 2023). Jumlah kadar fenolik fraksi etil asetat lebih besar daripada ekstrak etanol disebabkan oleh fraksinasi yang telah dilakukan dapat memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan polaritasnya dari ekstrak.

8. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Standar yang digunakan yaitu kuersetin. Amaks yang diperoleh adalah 434,9 nm pada konsentrasi

kuersetin 25 ppm. Hasil tersebut mendekati dengan panjang gelombang teoritis yaitu 434,5 nm (Azizah *et al.*, 2014). *Operating time* yang diperoleh adalah 25-38 menit. Hasil tersebut sesuai dengan *operating time* teoritis yaitu 30 menit (Kemenkes, 2017).

Perhitungan flavonoid total didasarkan pada hukum Lambert-Beer, yang menggambarkan hubungan antara serapan dan konsentrasi analit adalah sebanding. Prinsip penentuan kadar menggunakan AlCl₃ yaitu terbentuknya kompleks aluminium klorida yang stabil dengan gugus hidroksi pada atom C-3 / C-5 dan keto pada atom C-4 dari flavonol dan flavon (Nofita *et al.*, 2020). Fungsi natrium asetat yaitu untuk mendeteksi gugus 7-hidroksil dan menjaga agar panjang gelombang analit tetap pada daerah tampak.

Tabel 5 Hasil Flavonoid Total

Sampel	Kadar (mg QE/g)
Ekstrak	39,79 $\pm$ 0,33
Fraksi n-heksana	10,38 $\pm$ 0,26
Fraksi etil asetat	42,00 $\pm$ 0,56
Fraksi air	12,91 $\pm$ 0,14

Ekstrak etanol daun kunyit menghasilkan kadar flavonoid 39,79 $\pm$ 0,33 mg QE/g. Ekstrak merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa polar dan juga non polar sehingga ekstrak memiliki kadar terbesar

kedua setelah fraksi etil asetat. Fraksi *n*-heksana menghasilkan kadar flavonoid total $10,38 \pm 0,26$ mg QE/g. Pada fraksi *n*-heksana hanya dapat menyari senyawa non polar, sehingga senyawa flavonoid yang tersari pun hanya sedikit. Pada fraksi etil asetat menghasilkan kadar flavonoid total tertinggi yaitu $42,00 \pm 0,56$ mg QE/g. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa semi polar, sehingga jumlah senyawa flavonoid yang tersari akan semakin banyak. Pada fraksi air menghasilkan kadar flavonoid total $12,91 \pm 0,14$ mg QE/g. Kemudian dilakukan analisis data dengan *one way* ANOVA, analisis menggunakan uji tukey memberikan nilai sig < 0,05 maka terdapat perbedaan yang signifikan, hal ini dikarenakan terdapat perbedaan kadar flavonoid total pada setiap sampel.

Berdasarkan hasil uji kadar flavonoid total daun kunyit ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid terbanyak adalah pada fraksi etil asetat. Kadar total fenolik masing-masing sampel dinyatakan dalam *Quercetin Equivalent* (QE). Flavonoid yang ada dalam fraksi etil asetat berbentuk aglikon (tidak berbentuk glikosida), namun flavonoid dalam fraksi air berupa glikosida sehingga

kadar yang dihasilkan lebih rendah. Flavonoid yang bisa berinteraksi dengan $AlCl_3$ adalah flavonoid yang terhidrolisis secara semi polar, sementara heksana adalah pelarut yang nonpolar. Kenaikan gugus -OH akan menambah kelarutan flavonoid dalam air, sementara penurunan gugus -OH dan peningkatan substituen kurang polar seperti gugus metoksi akan mengurangi kelarutan flavonoid (Kumalasari *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Pengujian aktivitas antioksidan daun kunyit didapatkan IC_{50} ekstrak $41,11 \pm 0,09$, fraksi *n*-heksana $130,62 \pm 0,07$, fraksi etil asetat $32,35 \pm 0,03$, dan fraksi air $100,30 \pm 0,2$ ppm. Pembanding yang digunakan yaitu kuersetin dengan IC_{50} sebesar $2,77 \pm 0,02$ ppm. Antioksidan yang paling aktif yaitu fraksi etil asetat dengan aktivitas sangat kuat. Kadar fenolik total daun kunyit pada ekstrak sebesar $140,74 \pm 0,21$, Fraksi *n*-heksana $55,41 \pm 0,19$, fraksi etil asetat $303,86 \pm 0,99$ dan fraksi air $63,88 \pm 0,56$ mg GAE/g. Kadar flavonoid total daun kunyit pada ekstrak sebesar $39,79 \pm 0,33$, fraksi *n*-heksana $10,38 \pm 0,26$, fraksi etil asetat $42,00 \pm 0,56$ dan fraksi air $12,91 \pm 0,14$ mg QE/g. Sampel yang memiliki kadar fenolik

total dan flavonoid total paling tinggi yaitu fraksi etil asetat.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait dengan isolasi senyawa antioksidan dari daun kunyit (*Curcuma longa* L).
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait pembuatan sediaan agar pengaplikasian antioksidan pada tubuh digunakan dengan maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

Ada, G. V. G. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Larut n-Heksan dari Daun Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. deglabrata dengan Metode DPPH. *Skripsi, Universitas Hasanuddin Makassar*, 1–22.

Amalia, B. R., Muliasari, H., & Hidayati, A. R. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 10(1), 69–81. <https://doi.org/10.20527/jps.v>

10i1.14863

Aprilianti, N. M., Purgiyanti, P., & Barlian, A. A. (2023). Penentuan Kadar Total Fenol Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Dan Air Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 77–85. <https://doi.org/10.30591/pjif.v12i1.4348>

Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49. <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. In *Materials*. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>

Handayani, V., Ahmad, A. R., Sudir, M., Etlingera, P., & Sm, R. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol

- Bunga dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Abstrak. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Hanin, N. N. fadia, & Rarastoeti Pratiwi. (2017). Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum* L.) Fertil dan Steril. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*.
- Ilham, L. A., Herla, R., Dwi, S., & Dewirestuwana, S. (2018). Antimicrobial activity of turmeric leaf extract against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, and *Lactobacillus acidophilus*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/205/1/012048>
- Imanuel, L. K., Sunarni, T., & Herdwiani, W. (2021). Aktivitas Sitotoksik Dan Ekspresi Protein p53 dan bcl-2 Ekstrak Dan Fraksi Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) Terhadap Sel Kanker T47D. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(1), 74–81. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v6i1.39540>
- Kemenkes. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Direktorat Jenderal Kefarmasian Dan Alat Kesehatan.
- Kumalasari, K., Septia, A., Febrianti, D. R., & Aisyah, N. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etanol, Fraksi Kloroform, Fraksi N-Heksana, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat Dari Daun Bawang Dayak. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 9(2), 173–180. <https://doi.org/10.51352/jim.v9i2.678>
- Ningsih, D. S., Henri, H., Roanisca, O., & Gus Mahardika, R. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baekea frutescens* L.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3), 178–185. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06>
- Nofita, D., Sari, S. N., & Mardiah, H. (2020). Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J.R& G.Forst) secara

- Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 8(1), 36–41.
<https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26600>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (pp. 1–13).
<https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46.
<https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Rini, I. T. T. (2020). Uji Efektivitas Lima Tumbuhan Hutan Penelitian Borneo Sebagai Antimikrobia Dan Antioksidan Alami. *Skripsi, Universitas Borneo Tarakan*.
<https://repository.ubt.ac.id/repository/UBT09-08-2022-093621.pdf>
- Septiana, E., & Simanjuntak, P. (2015). Aktivitas Antimikroba Dan Antioksidan Ekstrak Beberapa Bagian Tanaman Kunyit (*Curcuma longa*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), 31–40.
<https://doi.org/10.33751/jf.v5i1.193>
- Siswarni, MZ., Putri, Y. I., & Rinda, R. (2017). Ekstraksi Kuersetin Dari Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol Dengan Metode Maserasi dan Sokletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(1), 36–41.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v6i1.1563>
- Susmayanti, W., & Rahmadani, A. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Melinjo (*Gnetum Gnetum* L.) Menggunakan Metode CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 6(1), 97–106.
<https://doi.org/10.35473/ijpn.v6i01.2178>
- Yang, S. xiang, Liu, B., Tang, M., Yang, J., Kuang, Y., Zhang, M. zhe, Zhang, C. ying, Wang, C. yi, Qin, J. chun, Guo, L. ping,

& Zhao, L. chun. (2020).
Extraction of flavonoids from
Cyclocarya paliurus
(Juglandaceae) leaves using
ethanol/salt aqueous two-
phase system coupled with
ultrasonic. *Journal of Food
Processing and Preservation*,
1–12.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.14469>