TUGAS MAKALAH

PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS ORGANIK

TEKNIK MASERASI DAUN KUNYIT

*(Curcuma longa* Linn*.)*



Disusun oleh :

Kelompok 12

Felie Virgayani K (136689)

Karisa Nur Azizah (136741)

Kelas 2D1

Politeknik AKA Bogor

2014/2015

KATA PENGANTAR

 Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan tugas laporan Kimia Analisis Organik ini. Tugas ini disusun untuk memenuhi tugas mata kuliah praktikum Kimia Analisis Organik.

 Dalam penyusunannya kami menggunakan data dari media elektronik yang dapat dipertanggungjawabkan sebagai sumber. Tugas ini menjelaskan secara terperinci mengenai teknik maserasi daun kunyit dan pengujian aktivitas antioksidan beserta skrining fitokimianya.

 Kami mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyelesaian makalah ini.

Kami pun menyadari bahwa makalah ini masih terdapat kekurangan. Kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat kami harapkan. Semoga tugas ini bermanfaat bagi kami dan pembaca sekalian.

 Bogor, Mei 2015

 Penyusun

DAFTAR ISI

TINJAUAN PUSTAKA

1. Taksonomi Tumbuhan Kunyit 1
2. Manfaat Tumbuhan Kunyit 3
3. Kandungan Kimia tumbuhan Kunyit 4
4. Teknik Maserasi pada Tumbuhan Kunyit 5
5. Teknik Isolasi pada Tumbuhan Kunyit 6
6. Skrining Fitokimia pada Tumbuhan Kunyit 7
7. Uji Aktivitas pada Tumbuhan Kunyit 12
8. Spektrum Senyawa Hasil Isolasi Zat Aktif tumbuhan Kunyit 18

DAFTAR PUSTAKA 20

TINJAUAN PUSTAKA

1. **Taksonomi Tumbuhan Kunyit**

Kunyit atau kunir, (*Curcuma longa* Linn. [syn.](http://id.wikipedia.org/wiki/Sinonim%22%20%5Co%20%22Sinonim)*Curcuma domestica* Val.), adalah termasuk salah satu tanaman [rempah-rempah](http://id.wikipedia.org/wiki/Rempah-rempah%22%20%5Co%20%22Rempah-rempah) dan [obat](http://id.wikipedia.org/wiki/Obat%22%20%5Co%20%22Obat) asli dari wilayah [Asia Tenggara](http://id.wikipedia.org/wiki/Asia_Tenggara%22%20%5Co%20%22Asia%20Tenggara). Kunyit merupakan tumbuhan daerah subtropis sampai tropis dan tumbuh subur di daratan rendah lebih kurang 90 meter sampai ketinggian 2000 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini kemudian mengalami penyebaran ke daerah [Malaysia](http://id.wikipedia.org/wiki/Malaysia%22%20%5Co%20%22Malaysia), [Indonesia](http://id.wikipedia.org/wiki/Indonesia), [Australia](http://id.wikipedia.org/wiki/Australia) bahkan [Afrika](http://id.wikipedia.org/wiki/Afrika). Hampir setiap orang [Indonesia](http://id.wikipedia.org/wiki/Indonesia%22%20%5Co%20%22Indonesia) dan [India](http://id.wikipedia.org/wiki/India%22%20%5Co%20%22India) serta bangsa [Asia](http://id.wikipedia.org/wiki/Asia%22%20%5Co%20%22Asia) umumnya pernah mengonsumsi [tanaman rempah](http://id.wikipedia.org/wiki/Tanaman_rempah%22%20%5Co%20%22Tanaman%20rempah) ini, baik sebagai pelengkap bumbu masakan, jamu atau untuk menjaga kesehatan dan kecantikan. Dalam [bahasa Banjar](http://id.wikipedia.org/wiki/Bahasa_Banjar%22%20%5Co%20%22Bahasa%20Banjar) kunyit atau kunir ini dinamakan "Janar".

Kunyit tergolong dalam kelompok [jahe-jahean](http://id.wikipedia.org/wiki/Jahe%22%20%5Co%20%22Jahe), [Zingiberaceae](http://id.wikipedia.org/wiki/Zingiberaceae). Kunyit juga dikenal di berbagai daerah dengan beberapa nama lokal, seperti *turmeric* (Inggris), *kurkuma* (Belanda), *kunyit* (Indonesia dan Malaysia), *kunir* (Jawa), *koneng* (Sunda), *konyet* (Madura).

Berdasarkan klasifikasi botani, tanaman kunyit termasuk ke dalam klasifikasi berikut :

Klasifikasi Tumbuhan Kunyit (C. Domestica)

Kingdom : Plantae

Division : Spemathophyta

Subdivision : Angiospermae

Classis : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Familia : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Spesies : Curcuma domestica Vahl.

Susunan tanaman kunyit terdiri atas akar, rimpang, batang semu, pelepah-pelepah daun, daun, tangkai bunga, dan kuntum bunga.

1. Akar

Akar rimpang terbentuk dengan sempurna dan bercabang kuat, berwarna hijau gelap.Rimpang induk dapat memiliki 3-4 buah rimpang.Warna kulit rimpang adalah cokelat kemerahan atau kuning tua, sedangkan warna daging rimpang adalah oranye tua atau kuning. Rimpang temulawak terbentuk di dalam tanah pada kedalaman sekitar 16 cm. Tiap rumpun umumnya memiliki 6 buah rimpang tua dan 5 buah rimpang muda. Rimpang.

1. Batang

Temulawak termasuk jenis tumbuh-tumbuhan herbal yang batang pohonnya berbentuk batang semu dan tingginya dapat mencapai 2 sampai 2,5 meter, berwarna hijau atau cokelat gelap. Pelepah daunnya saling menutupi membentuk batang.Tumbuhan yang patinya mudah dicerna ini dapat tumbuh baik di dataran rendah hingga ketinggian 750 meter di atas permukaan laut. Umbi akan muncul dari pangkal batang, warnanya kuning tua atau coklat muda, panjangnya sampai 15 sentimeter dan bergaris tengah 6 sentimeter. Baunya harum dan rasanya pahit agak pedas.

1. Daun

Tiap batang mempunyai daun 2 – 9 helai dengan bentuk bundar memanjang sampai bangun lanset, warna daun hijau atau coklat keunguan terang sampai gelap, panjang daun 31 – 84cm dan lebar 10 – 18cm, panjang tangkai daun termasuk helaian 43 – 80cm. Mulai dari pangkalnya sudah memunculkan tangkai daun yang panjang berdiri tegak. Tinggi tanaman antara 2 sampai 2,5 m. Daunnya bundar panjang , mirip daun pisang.

1. Bunga

Temulawak mempunyai bunga yang berbentuk unik (bergerombol) dan.bunganya berukuran pendek dan lebar, warna putih atau kuning tua dan pangkal bunga berwarna ungu. Bunga mejemuk berbentuk bulir, bulat panjang, panjang 9-23 cm, lebar 4-6 cm. Bunga muncul secara bergiliran dari kantong-kantong daun pelindung yang besar dan beraneka ragam dalam warna dan ukurannya. Mahkota bunga berwarna merah.Bunga mekar pada pagi hari dan berangsur-angsur layu di sore hari.Kelopak bunga berwarna putih berbulu, panjang 8 – 13mm, mahkota bunga berbentuk tabung dengan panjang keseluruhan 4.5cm, helaian bunga berbentuk bundar memanjang berwarna putih dengan ujung yang berwarna merah dadu atau merah, panjang 1.25 – 2cm dan lebar 1cm.

1. Buah

Aroma dan warna khas dari rimpang temulawak adalah berbau tajam dan daging buahnya berwarna kekuning-kuningan.Warna kulit rimpang adalah cokelat kemerahan atau kuning tua, sedangkan warna daging rimpang yaitu oranye tua atau kuning.

1. Biji

Sejauh ini, temulawak belum pernah dilaporkan menghasilkan biji. Karena penanaman temulawak dengan cara menanam rimpang temulawak tersebut. Perbanyakan tanaman temulawak dilakukan menggunakan rimpang rimpangnya baik berupa rimpang induk (rimpang utama) maupun rimpang anakan (rimpang cabang).



**Tanaman temulawak**

1. **Manfaat Tumbuhan Kunyit**

Bagian yang sering dimanfaatkan adalah rimpang. Beberapa penelitian secara in vitro dan in vivo menunjukkan, kunyit mempunyai aktivita yang berfungsi sebagai antikoagulan, antiedemik, aktivitas terhadap peptic ulcer, antihiperlipidemia, aktivitas anti kanker,menurunkan tekanan darah, obat malaria, obat cacing, sakit perut, memperbanyak ASI, stimulan, mengobati keseleo, memar, dan rematik. Kurkuminoid pada kunyit berkhasiat sebagai antihepatotixic (Kiso et al., 1983), enthelmintik, antiedemik, analgesik. Selain itu kurkumin juga daat berfungsi sebagai antiinflamasi (anti peradangan), dan antioksidan ( Masuda et al., 1993). Kunyit memiliki efek sebagai inhibitor transkripsi COX-2 dalam empedu pada saluran pencernaan manusia (Zhank dkk., 1999), inhibitor enzim biotransformasi obat terutama enzim sitokrom P-450 (Oetari dkk., 1995 cit Nugroho, 2000), inhibitor enzim IL-6 yang diinduksi dengan STAT3 pada sel myeloma (Alok dkk., 2003).

1. **Kandungan Kimia tumbuhan Kunyit**

Rimpang kunyit mengandung 28% Glukosa, 12% Fruktosa, 8% Protein, Vitamin C, dan mineral kandungan Kalium dalam rimpang kunyit cukup tinggi (Rismunandar, 1998), 1,3-5,5% minyak atsiri yang terdiri 60 % keton seskuiterpen, 25% zingiberina dan 25 % kurkumin beserta trunannya. Keton seskuiterpen yang terdapat dalam rimpang kunyit adalah tumeron dan antueron, sedangkan kurkumin dalam rimpang kunyit meliputi kurkumin ( diferuloilmetana), dimetoksikurkumin (hidroksisinamoil feruloilmetan), dan bisdemetoksi-kurkumin (hidroksisinamoil metana) (Stahl, 1985). Kurkumin atau diferuloilmetana pertama kali diisolasi pada tahun 1815. Kemudian tahun 1910, kurkumin didapatkan dalam bentuk kristal, dan bisa dilarutkan tahun 1913. Kurkumin tidak dapat larut dalam air, tetapi larut dalam etanol dan aseton (Joe dkk., 2004 ; Chattopadhyay dkk., 2004 ; Araujo dan Leon, 2001). Sedangkan menurut Kiso (1985) kurkumin merupakan senyawa yang sedikit pahit, larut dalam aseton, alkohol, asam asetat glasial, dan alkali hidroksida, serta tidak larut dalam air dan dietileter.

Kunyit mengandung senyawa yang berkhasiat obat, yang disebut kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, desmetoksikumin sebanyak 10% dan bisdesmetoksikurkumin sebanyak 1-5% dan zat- zat bermanfaat lainnya seperti minyak atsiri yang terdiri dari Keton sesquiterpen, turmeron, tumeon 60%, Zingiberen 25%, felandren , sabinen , borneol dan sineil. Kunyit juga mengandung Lemak sebanyak 1 -3%, Karbohidrat sebanyak 3%, Protein 30%, Pati 8%, Vitamin C 45-55%, dan garam-garam mineral, yaitu zat besi, fosfor, dan k.



**Struktur kimia kurkumin [1,7-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)hepta-1,6-diena-3,5-dion]**

Kunyit terasa agak pahit dengan campuran sedikit pedas, berbau khas aromatik, berwarna kuning serta tidak beracun. Senyawa kimia utama yang terdapat didalam rimpang kunyit yaitu minyak atsiri serta kurkuminoid. Warna kuning kunyit datang dari kurkuminoid yang memiliki kandungan kurkumin. Aroma khasnya yaitu dari minyak atsiri yang memiliki kandungan alkohol seskuiterpen. Rimpang kunyit juga memiliki kandungan protein, kalsium, fosfor, besi, lemak serta gom.

1. **Teknik Maserasi pada Tumbuhan Kunyit**

****Maserasi adalah suatu proses perendaman simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Ada 2 macam maserasi yaitu maseras kinetik dan remaserasi. Maserasi kinetik adalah maserasi yang di lakukan dengan cara pengadukan terus-menerus, sedangkan remaserasi adalah menambahkan pelarut setelah maserat deisaring dan seterusnya.

**Pembuatan ekstrak daun kunyit**

Pembuatan ekstrak daun kunyit dilakukan oleh peneliti di laboratorium biologi dengan menggunakan metode maserasi dan remaserasi yaitu menggunakan **pelarut etanol** dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Setelah dilakukan maserasi selama 24 jam dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat kemudian dilakukan evaporasi menggunakan rotator evaporator pada suhu 370C untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak daun kunyit sehingga didapatkan ekstrak kental daun kunyit. Kemudian residu direndam lagi dalam pelarut metanol untuk dilakukan remaserasi.

1. **Teknik Isolasi pada Tumbuhan Kunyit**

Kunyit kuning (*Curcuma longa* Linn) merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia yang kaya akan kandungan senyawa-senyawa bahan alam. Senyawa utama yang terkandung dalam tanaman kunyit kuning adalah kurkuminoid yang memberi warna kuning pada kunyit. Berdasarkan karakter struktur senyawa yang terdapat dalam kurkuminoid, antara lain ikatan rangkap terkonjugasi dan pasangan elektron bebas diduga kurkuminoid mempunyai aktivitas sebagaitabir surya. Hal ini terjadi karena karakter senyawa tersebut dapat melakukan transisi elektron jika diradiasi sinar ultraviolet (UV).

Kunyit kuning yang dipergunakan pada penelitian ini berupa rimpang kunyit kuning basah dan kering. Isolasi kurkuminoid yang terkandung dalam rimpang kunyit kuning basah dan kering menggunakan metode ekstraksi secara maserasi dan soxhletasi dengan pelarut etanol. Hasil ekstrak diuapkan hingga diperoleh suatu padatan yang kemudian direkristalisasi dengan pelarut metanol. Kurkuminoid hasil isolasi ditentukan titik leburnya, diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri  Inframerah (IR).

Tahapan-tahapan pengujian

1. **Preparasi Sampel**

Sampel Kunyit dicuci dengan air sampai bersih, ditiriskan lalu dipotong tipis kecil-kecil. Potongan kunyit lalu dimasukkan dalam timbel yang terbuat dari kertassaring.Timbel yang berisi kunyit kemudian ditimbang dan dimasukkan dalamekstraktor Soxhlet. Labu alas bulat pada ekstraktor lalu diisi dengan etanol 96%sampai volume labu. Ekstraktor Soxhlet lalu dirangkai dan dilakukan prosesekstraksi hingga 5-6 kali sirkulasi. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnyadengan rotary evaporator hingga volume ekstrak sekitar 15 mL.

1. **Pemisahan Kurkumin dan Turunannya dengan MetodeKLT**

**Plat KLT** dipotong dengan ukuran 5 x 10 cm lalu ditandai dengan pensil1,5 cm dari batas bawah dan 0,5 cm dari batas atas. Disiapkan bejana pengembangyang berisi **eluen campuran kloroform : toluene : etanol 96% (4,5 : 4,5 : 1)**.Ekstrak hasil ekstraksi ditotolkan pada garis bawah plat KLT kemudiandimasukkan dalam bejana pengembang. Hasil KLT diambil setelah spot terelusisampai batas atas platKLT lalu dikeringkan di udara. Diukur nilai Rf dari masing-masing spot hasil pemisahan lalu spot dikerok. Proses KLT diulangi 3 kali laluhasil kerokan untuk tiap spot yang mempunyai nilai Rf sama digabungkan dandilarutkan dalam etanol, lalu disentrifugasi dan diambil filtratnya. Filtrat yangdiperoleh dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis.

Dari penelitian diperoleh kurkuminoid hasil isolasi berupa serbuk berwarna kuning jingga dengan rendemen dari rimpang kunyit kuning basah dan rimpang kunyit kuning kering berturut-turut 0,214% dan 1,21% dengan titik lebur masing-masing adalah 165-178oC dan 164-169oC.

1. **Skrining Fitokimia pada Tumbuhan Kunyit**

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencangkup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Harborne, 1987).

Skrining fitokimia meliputi pengujian :

1. **Alkaloid**

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukanpada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satuatau 2 atom nitrogen (Harborne, 1987; Bhat et al., 2009). Alkaloid sering beracunbagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga seringdigunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid dibentuk berdasarkanprinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yangmengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yangditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khaselemen-elemen pada alkaloid (Sirait, 2007). Alkaloid tidak mempunyai tata namasistematik, oleh karena itu, suatu alkaloid dinyatakan dengan nama trivial yangberakhiran -in (Lenny, 2006). Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahuisecara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalaudan penarik serangga (Harborne, 1987).

1. **Triterpenoid dan Steroid**

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik,yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal,sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukardicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Harborne, 1987).Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4cincin yang saling bergabung (Lehninger, 1982; Bhat et al, 2009). Steroid yangpaling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunanesternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dariplasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Membran sel tumbuhanmengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterolhanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Lehninger, 1982; Bhat etal., 2009).Bhat et al. (2009) mengklasifikasikan sterol menjadi beberapa golongansebagai berikut :

* Zoosterol, merupakan sterol yang terdapat pada hewan. Contoh 5α-cholestan-3β-cholestan-3β-ol.
* Fitosterol, merupakan sterol yang terdapat pada tumbuhan. Contohstigmasterol.
* Mycosterol, merupakan sterol yang ditemukan pada yeast dan fungi.Contoh mycosterol.
* Marine sterol, merupakan sterol yang ditemukan pada organisme laut.
1. **Saponin**

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalamlebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gulapereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyaisatuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanyasaponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantapsewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987).

1. **Fenol**

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandungcincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larutdalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalamvakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagaijenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanamanmelalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak et al., 2007). Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya ligninsebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Namun beberapalainnya hanya sebatas dugaan sementara. Senyawa fenol diduga mempunyaiaktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenolmerupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuatterhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenolsederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana : orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol.Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987; Apak et al.,

2007).

1. **Kuinon**

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar sepertikromofor dasar pada benzokuinon, yang terdiri dari 2 gugus karbonil yangberkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap. Kuinon untuk tujuan identifikasi dibagimenjadi 4 kelompok, yaitu benzokuinon (kuinon dengan kromofor yang terdiridari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap karbon-karbon),naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertamabiasanya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol serta mungkin secara in vivoterdapat dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinon tanpa warna dan terkadang juga dalam bentuk dimer. Dengan demikiandiperlukan hidrolisis asam untuk melepaskan kuinon bebasnya. Senyawa kuinonyang terdapat sebagai glikosida mungkin larut sedikit dalam air, tetapi umumnyakuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terdeteksi dari tumbuhanbersama-sama dengan karotenoid dan klorofil (Harborne, 1987).

1. **Flavonoid**

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiridari C6-C3-C6 dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentukglikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksilfenolik (Sirait, 2007; Bhat et al., 2009). Flavonoid merupakan golongan metabolitsekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat et al., 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubahbila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaituantosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon,auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warnakuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid seringditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golonganpigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dariberbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah danbiji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agenpolinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yangpenting adalah sebagai antioksidan (Bhat et al., 2009). Bagi manusia, flavondalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darahkapiler, sebagai diuretic dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

Cara mengidentifikasi Skrining Fitokimia dalam kunyit meliputi :

1. Identifikasi alkaloid

3 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL HCl. Campuran dipanaskan selama 20 menit, kemudian di dinginkan dan disaring. Filtrat direaksikan dengan pereaksi Mayer, Dragendrof, dan Wagner. Hasil reaksinya adalah:

Pereaksi Mayer atau pereaksi Bouchardat membentuk endapan putih kekuningan.

Pereaksi Dragendorff membentuk endapan kuning kecoklatan.

Pereaksi Wagener membentuk endapan coklat kemerahan.

1. Identifikasi Saponin

5 mL ekstrak di campur dengan 20 mL air suling kemudian di agitasi selama 15 menit busa yang menandakan adanya saponin

.

1. Identifikasi Steroid

1 mL ekstrak dilarutkan dengan 10 mL kloroform dan dengan volume yang sama ditambahkan asam sulfat pekat dari dinding tabung reaksi. Lapisan atas membentuk warna merah dan lappisan H2SO4 menunjukkan warna kuning dengan hijau floresein yang menandakan adanya steroid.

1. Identifikasi Tanin

4 mL ekstrak direaksikan dnegan 4 mL FeCl3 membentuk warna hijau yang menandakan adanya tanin.

1. Identifikasi Flavonoid
* Pereaksi basa: ekstrak ditambahkan dengan NaOH 10% akan membentuk warna kuning yang menandakan adanya Flavonoid.
* Pereaksi NH4OH : 3 mL ekstrak ditambhkan dengan NH4OH 10% akan membentuk warna kuning flouresein yang merupakan uji positif.
* Pereaksi Zink : 2 mL ekstrak direaksikan dengan serbuk seng dan HCl pekat akan membentuk warna merah yang menandakan adanya Flavonoid.
* Pereaksi Mg : ekstrak direaksikan dengan Mg dan ditambahkan HCl pekat dan 5 mL etanol 95 % membentuk warna merah yang menandakan adanya flavonoid.

1. Identifikasi Fenol :

Ekstrak ditambahkan dengan 4 drop FeCl3 dalam pelarut alkohol akan membentuk warna hitam kebiruan yang menandakan adanya Fenol.

1. Identifikasi Antrakuinon

5 mL ekstrak dihidrolisis dengan H2SO4 dan kemudian ditambahkan 1mL benzena dan 1 mL NH3 akan membentuk merah muda yang menandakan adanya antrakuinon.

**Tabel hasil pengujian fitokimia**

|  |  |
| --- | --- |
| Fitokimia | Hasil Uji |
| Alkaloid :1. Pereaksi Wagner
2. Pereaksi Dragendrof
3. Pereaksi Mayer
 | +++ |
| Saponin | + |
| Steroid | - |
| Flavonoid1. NaOH 10%
2. NH4OH 10%
3. Pereaksi Mg
4. Pereaksi Zn
 | --+- |
| Fenol | - |
| Antrakuinon | + |

1. **Uji Aktivitas pada Tumbuhan Kunyit**

Banyak penyakit yang pada awalnya disebabkan oleh radikal bebas, sehingga radikal bebas dan antioksidan banyak diteliti di dunia kesehatan. Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga menyebabkan elektron yang tidak berpasangan berusaha mendapatkan pasangannya dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada disekitarnya. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel. Bila radikal bebas berikatan dengan elektron dari senyawa kovalen yang umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein, dan DNA, maka dapat mengakibatkan kerusakan yang lebih parah. Dampak yang terjadi akibat kerja radikal bebas untuk mencari pasangannya adalah terbentuknya radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil. Dapat juga berasal dari atom atau molekul yang telah diberikan elektron oleh radikal bebas. Radikal bebas bisa stabil bila berikatan dengan radikal bebas lainnya. Berbagai kerusakan dapat terjadi akibat aktivitas radikal bebas, seperti gangguan fungsi sel dan kerusakan struktur sel yang memicu terjadi berbagai penyakit.

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autooksidasi, oksidasi enzimatik, dan fagositosis dalam respirasi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar tubuh, misalnya sinar UV dan aktivitas lingkungan.

Secara umum terdapat 3 tahapan pembentukan radikal bebas, yaitu:2

1) Inisiasi (awal pembentukan).

2) Propagasi (pemanjangan rantai radikal).

3) Terminasi (radikal bebas bereaksi dengan radikal bebas lainnya atau dengan penangkapan radikal yang menyebabkan pemanjangan rantainya rendah).

Inisiasi : ZH 🡪 Z\* + H

Propagasi : Z\* + R-C(HO) = C(HO )- R🡪 ZH + R-C(OH) = C(O\*) -R’

Terminasi : Z\* + R-C(OH) = C(O\*)- R 🡪 ZH + R-C – C - R

 O O

KET : ZH = non radikal; Z\* = radikal bebas

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menangkal efek negatif radikal bebas yang terbentuk sebagai metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh dengan memberikan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas. Radikal bebas dapat dihambat dengan cara mencegah dan menghambat terbentuknya radikal bebas baru, menangkap radikal bebas, pemutusan rantaian dengan memotong propagasi, dan memperbaiki kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Secara umum antioksidan digolongkan menjadi 2 yaitu :

* Antioksidan enzimatis: enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksidase (GSH.Prx).
* Antioksidan non-enzimatis

-Larut lemak: tokoferol, karatenoid, flavonoid, dan quinon.

-Larut air: asam askorbat (Vitamin C), asam urat, protein pengikat logam, dan aprotein pengikat hem. 2

Selain itu, antioksidan juga digolongkan berdasarkan mekanisme kerjanya menjadi 3 kelompok, yaitu :

* Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan primer adalah suatu senyawa yang mampu dengan cepat memberikan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga berubah menjadi molekul yang kurang reaktif dan mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai (polimerasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

* Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogen atau non-enzimatis. Mekanisme kerjanya dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya, sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan.

* Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi sebagai perbaikan biomolekuler sel yang rusak akibat efek radikal bebas.

**Daun kunyit (Curcuma domestiva val) diduga memiliki aktivitas antioksidan** yang kuat seperti halnya rimpang kunyit yang mampu menangkal efek negatif dari radikal bebas. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun kunyit dapat dilakukan dengan menggunakan **metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).**Prinsipnya pada metode DPPH melihat perubahan warna DPPH dalam larutan dari ungu pekat menjadi kuning pucat karena aktivitas sampel yang mengandung antioksidan yang mampu menangkap dan meredam aktivitas radikal bebas. Semakin banyak DPPH yang diredam, warna larutan semakin berubah menjadi pucat. Perubahan warna selain dapat dilihat secara kualitatif juga bisa menggunakan spektrofotometer dan dinilai absorbansinya. Pada spektrofotometer akan dilihat perubahan serapan warna (nilai absorbansi). Absorbansi yang baik untuk larutan DPPH adalah kurang dari 1. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan pada sampel dilihat dari nilai efficient concentration (EC50) atau Inhibition Contentration (IC50) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya. **Semakin kecil nilai IC50 semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel**. Pengerjaan menggunakan DPPH harus cepat dan hati-hati karena molekul DPPH mudah terdegradasi oleh cahaya dan oksigen. Namun, metode DPPH lebih sederhana, akurat, cepat, dan bisa dilakukan dengan sedikit sampel.

Ekstrak daun kunyit didapatkan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kunyit dilakukan pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Ekstrak daun kunyit ditambah dengan DPPH (634μM). Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Pengukuran absorbansi untuk mengetahui aktivitas antioksidan daun kunyit menggunakan spektrofotomerer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm. Hasil penelitian ini didapatkan perubahan warna secara kualitatif baik pada esktrak daun kunyit dan vitamin C

Langkah-langkah pengujian :

1. **Penyiapan Sampel atau Pembuatan Simplisia Nabati**
2. **Pembuatan ekstrak daun kunyit**

**( Lihat di teknik maserasi )**

1. **Pembuatan Larutan**
2. **Pembuatan Larutan DPPH 634 μM**

Ditimbang DPPH sebanyak 0,0014 gram 🡪 dilarutkan dalam 14 mL metanol 🡪Larutan dikocok hingga homogen kemudian dimasukan ke dalambotol gelap.

Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang maksimum.

1. **Pembuatan Larutan kontrol positif (vitamin C)**

Vitamin C berupa serbuk putih yang di gunakan sebagai larutan kontrol positif.

**1. Larutan Induk (100 ppm**)

1 mg vitamin C murni dilarutkan dalam 10 mL metanol.

**2. Larutan seri ( deret standar 2,4,6,8 ppm)**

* 2 ppm

40 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian ditambahkan 500 μL larutan DPPH.

* 4 ppm

80 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian ditambahkan 500 μL larutan DPPH

* 6 ppm

120 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian ditambahkan 500 μL larutan DPPH.

* 8 ppm

160 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500μL. Kemudian ditambahkan 500 μL larutan DPPH.

1. **Pembuatan Larutan Uji**
2. **Larutan Induk (1000 ppm)**

10 mg ekstrak daun kunyit dilarutkan kedalam 10 mL metanol = 10mg/10 mL = 1 mg/mL = 1000 μg/mL = 1000 ppm.

1. **Larutan Seri (deret )**
	* **200 ppm**

400 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian tambahkan 500 μL larutan DPPH.

* + **150 ppm**

300 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian tambahkan 500 μL larutan DPPH.

* + **100 ppm**

200 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian tambahkan 500 μL larutan DPPH.

* + **50 ppm**

100 μL dari larutan induk ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 1500 μL. Kemudian tambahkan 500 μL larutan DPPH.

1. **Pengukuran Absorbansi**

Semua larutan kontrol, larutan ekstrak daun kunyit dan larutan standar positif (vitamin C) dikocok menggunakan shaker waterbath dan diinkubasi pada suhu 37oC selama 30 menit dalam keadaan gelap (ditutup alumunium foil). Hal ini dilakukan karena radikal DPPH mudah didegradasi oleh cahaya. Kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Setelah nilai absorbansinya didapat, dihitung persen hambatan masing-masing larutan dengan menggunakan rumus:

**% Hambatan =** $\frac{(Abs standar– Abs sample) }{Abs standar}$**x 100%**

Setelah didapatkan % aktivitas hambatan dicari nilai IC50 melalui persamaan regresi linier y = a + bx.

1. **Analisis Data Antioksidan**

Data antioksidan pada radikal DPPH (% penghambatan) ekstrak daun kunyit dianalisis dan dihitung nilai IC50. Semakin kecil nilai IC50 berarti aktivitas antioksidan semakin kuat. Pada penelitian ini nilai IC50 dianalisis dan dihitung mengunakan persamaan regresi linear.

Data % hambatan dan konsentrasi larutan digunakan untuk mencari nilai IC50 dengan persamaan regresi linear y= a + bx, dimana y adalah % hambat 50 (senilai 50) dan x adalah nilai IC50. Nilai konstanta a menunjukkan besarnya nilai variabel y jika variabel x adalah 0. Sedangkan nilai bmenunjukkan besarnya perubahan variabel y jika variabel x berubah sebesar satu satuan. Berikut ini tabel mengenai klasifikasi aktivitas antioksidan.**. Nilai IC50 ekstrak daun kunyit yang di cari aktivitas antioksidannya didapatkan senilai 148.51 ppm dan termasuk aktivitas antioksidan sedang berdasarkan klasifikasi Blois.**

**Tabel Klasifikasi aktivitas antioksidan**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Nilai  | IC50 |
| 1 | <50 ppm | Sangat Kuat |
| 2 | 50-100 ppm | Kuat  |
| **3** | **100-150 ppm** | **Sedang**  |
| 4 | 151-200 ppm | Lemah  |

1. **Spektrum Senyawa Hasil Isolasi Zat Aktif tumbuhan Kunyit**

Identifikasi kurkumin menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FTIR.

Metode UV-Vis Spektroskopi UV-Vis adalah absorbansi sinar UV-Vis oleh molekul atauatom yang disebabkan promosi elektron dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi.Baik molekul organik maupun molekul anorganik dapat menyerap radiasi UV-Vis(Hayati.2007).Naama dkk.(2010) melakukan identifikasi kurkumin menggunakanmetode spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran spektra UV-Vis pada metanoldilakukan dengan menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV-Vis160 A padarentang 200-1000 nm. Keberadaan kurkumin mengabsorpsi maksimum pada 271,420 dan 435 nm, pita absorpsi pertama pada 271 nm menunjukkan transisi π→π\*, sedangkan pita absorpsi pada 420 nm menunjukkan salah satu dari transisi n→π\*atau gabungan dari transisi π→π\* dan n→π\*. Hasil Penelitian Sebelumnya Berdasarkan pada penelitian Trully M.S. Parinussa dan Kris H.Timotiustentang Pengaruh Penambahan Asam Terhadap Aktivifitas AntioksidanKurkumin, hasil analisa KLT ekstrak kasar kurkuminoid menghasilkan 3 spotutama dengan Rf sebagai berikut : (A) 0,7759; (B) 0,6034; (C) 0,4828. Sedangkananalisa menggunakan spektroskopi UV Tampak dalam methanol menghasilkanserapan maksimum pada 423,02 nm. Serapan maksimum fraksi A dalam methanolpada 423,93 nm, lalu fraksi B pada 417 nm dan fraksi C pada 419,01 nm. Sedangkan pada penelitian Zebib dkk (2010) yaitu, Stabilisasi Kurkuminoleh Kompleksasi dengan Kation Divalen pada Gliserol/Air, membandingkanspectra IR dari kurkumin dan semua kompleks kurkumin. Spektra kurkuminditunjukkan sebagai berikut: Lebar dua pita pada 3600 cm-1 dan 3560 cm -1 menunjukkan vibrasi dari gugus hidroksil bebas dari fenol (Ar−OH) dan gugus spectra (R−OH), berturut-turut,Lebar dua pita pada 1882 cm-1 dan 1857 cm-1 menunjukkan vibrasi dari ikatan C−H dari gugus alkena (RCH=CH2),Intensitas pita pada 1725 cm−1 menunjukkan vibrasi dari ikatan karbonil (C=O) diikuti oleh puncak kecil pada 1762 cm−1 berdasarkan tautomerisme Keto-enol dari senyawa kurkumin, Tiga pita pada (1406, 1332, 1320) cm−1 menunjukkan cara vibrasi dari pemanjangan C−O dari gugus alkohl dan fenol. Panjang gelombang mengubah sebagian besar model vibrasi dari IR (pelletKBr). Model vibrasi: (ν) regangan; (δ) ikatan pada bidang; (—) tidakdiamati Suatu spektra UV-Vis dari kompleks pada DMSO, absorpsi maksimumpada 435 nm menunjukkan pita π → π\* dari kurkumin. Dibandingkan dengankurkumin, kompleks pada DMSO menunjukkan pergeseran panjang gelombangmaksimum (1–8 nm), dengan variasi antara (427–434 nm), dan bahu pada (410–413 nm) dan (448–451 nm) menunjukkan kurkumin → logam (M2+) transfermuatan, kompleks spesifik terbentuk. Kita parcaya bahwa variasi dari puncak absorpsi kurkumin dan bahu muncul dengan tiba-tiba pada kompleks yangberbeda tergantung pada implikasi sifat ion (M2+).

DAFTAR PUSTAKA

**EDRIANA, NURHABIBA.** 2014. Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daun Kunyit (*Curcuma domestica* Val) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-pichrylhydrazyl). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

**PUTRANTI, RISTYANA IKA**. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antiokasidan Ekstark Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornate* dari Jepara. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang.

**RAHAYU, HERTIK DWI ISWAHYUNI**. 2010. Pengaruh Pelarut yang Digunakan Terhadap Optimasi Ekstraksi Kurkumin pada Kunyit (*Curcuma domestica*  Vahl*.).* Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

**SAWANT, R. S. and A. G. GODGHATE**. 2013. Qualitative Phytochemical Screening of Rhizomes of *Curcuma longa* Linn. International Journal of Science, Environment and Technology. Vol 2, No 4, 634-641.

<http://www.x3-prima.com/2009/11/laporan-fitokimia.html> diakses pada Sabtu, 23 Mei 2015 pukul 12:30