PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK RIMPANG KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia* Roxb.) DENGAN VARIASI PELARUT MENGGUNAKAN *MICROPLATE READER*

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk

memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

ZAHIRA FAHRIATI

22482011456

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA

SAMARINDA

2026

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK RIMPANG KUNYIT HITAM (*Curcuma caesia* Roxb.) DENGAN VARIASI PELARUT MENGGUNAKAN *MICROPLATE READER*

SKRIPSI

Oleh:

ZAHIRA FAHRIATI

22482011456

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA

SAMARINDA

2026

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Zahira Fahriati
NIM	: 22482011456
Tempat Tanggal Lahir	: Tanah Grogot, 31 Agustus 2004
Alamat	: Desa Samuntai Rt 03 Longikis, Kab. Paser

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi yang berjudul "Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma Caesia* Roxb.) Dengan Variasi Pelarut Menggunakan *Microplate Reader*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, seluruh ide, pendapat atau materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Samarinda, 03 Juni 2026

Zahira Fahriati

HALAMAN PERSETUJUAN SEMINAR SKRIPSI II

Judul Skripsi	: Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) Dengan Variasi Pelarut Menggunakan *Microplate reader*
Nama	: Zahira Fahriati
NIM	: 22482011456
Program Studi	: Sarjana Farmasi

Seminar Skripsi II telah diperiksa dan disetujui oleh :

Samarinda, 03 Juni 2026

PEMBIMBING

Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si

NIDN. 1103067801

MOTO DAN PERSEMBAHAN

"*Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya*"

(QS. Al-Baqarah: 286)

"*Jangan takut gagal, tapi takutlah tidak pernah mencoba*"

(Roy T. Bennett)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat, karunia, serta pertolongan-Nya sehingga penulis diberikan kekuatan, kemudahan, dan kelancaran dalam menghadapi setiap proses penyusunan skripsi ini. Berkat izin dan ridha-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga ilmu dan pengalaman yang diperoleh selama proses penyusunan skripsi ini dapat menjadi ilmu yang bermanfaat bagi penulis, keluarga, masyarakat, bangsa, dan negara. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi suri teladan bagi seluruh umat manusia serta membawa umat manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang penuh ilmu pengetahuan seperti saat ini.

Kepada kedua orang tua saya, Bapak Muhammad Ali dan Ibu Hj Maryam, S.Kom., yang telah berjuang dengan penuh cinta dan pengorbanan demi masa depan saya. Terima kasih atas setiap doa yang tak pernah terputus, dukungan yang selalu menguatkan, serta kasih sayang yang tidak pernah berkurang dalam keadaan apa pun. Tidak ada kata yang mampu menggambarkan besarnya perjuangan dan ketulusan kalian dalam mendidik, membimbing, dan menemani saya hingga mampu berada di titik ini. Terima kasih karena selalu percaya pada saya, bahkan di saat saya merasa lelah dan meragukan diri sendiri. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kesehatan, kebahagiaan, keberkahan umur, dan membalas segala kebaikan Bapak dan Ibu dengan balasan terbaik.

Kepada kakek dan nenek tercinta, H Syamsudin dan Hj Kasmawati, yang telah banyak menuntun, mendukung, dan membantu saya selama menempuh pendidikan. Terima kasih atas doa, perhatian, kasih sayang, serta semangat yang selalu diberikan. Terima kasih juga karena telah mengarahkan dan mendukung saya untuk masuk ke dunia farmasi hingga mampu bertahan sampai di titik ini.

Kepada saudari saya Nur Aliyah Raodah yang selalu memberikan dukungan dan semangat agar saya selalu menyelesaikan apa yang sudah saya mulai. Terima kasih karena selalu hadir dalam setiap proses dan menjadi tempat berbagi cerita.

Kepada ke tiga sahabat seperjuangan saya Rilly Anggreani Pambunan, Stefania Maria Mercindy dan Yugita Bagensa yang tidak pernah berubah sampai akhir perjuangan kita semua. Terimakasih untuk selalu berproses bersama, selalu mendukung, memotivasi dan membantu disaat kesulitan, dan selalu yakin setiap tantangan pasti ada jalan untuk dilewati.

Kepada pembimbing saya Ibu Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si. Saya ucapkan banyak sekali terima kasih yang sebesar besarnya karena telah membimbing saya dengan penuh keikhlasan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya.

Kepada Zahira Fahriati yaitu saya sendiri terima kasih sudah bertahan dan berjuang hingga sejauh ini meskipun sering merasa takut, bingung, dan putus asa dalam melewati masa sulit. Terima kasih karena tetap kuat menjadi anak sulung yang belajar mencari jalannya sendiri tanpa banyak tuntunan, namun tetap tegar dan selalu mencoba tersenyum menghadapi setiap masalah. Semoga kamu bahagia selalu dan kehidupan yang penuh hal baik.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmatnya, penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul " **Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma Caesia* Roxb.) Dengan Variasi Pelarut Menggunakan *Microplate Reader*".** Pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu moril maupun materil dalam penyusunan proposal ini, mudah-mudahan mendapat ridho dari Allah SWT, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak apt. Supomo, M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda;
2. Ibu Henny Nurhasnawati, S, Si., M.Si selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran dan pengarahan dengan penuh kesabaran kepada Penulis dari awal penyusunan proposal sampai penyelesaian penulisan proposal ini.
3. Kedua orang tua penulis, Bpk Muhammad Ali dan Ibu Hj. Maryam S.Kom, Terima kasih atas segala doa kasih sayang yang diberikan dalam membesarkan dan membimbing penulis selama ini sehingga penulis dapat terus berjuang dalam meraih mimpi dan cita-cita.
4. Seluruh dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda yang telah memberikan ilmu dan pengalamannya kepada penulis.
5. Kepada sahabat penulis yaitu Rilly Anggreani Pambunan, Stefania Maria Mercindy, Yugita Bagensa, dan Rabiatul Adawiyah yang telah memberikan motivasi dan dukungan dalam menyelesaikan perkuliahan ini.
6. Teman – teman satu bimbingan penelitian proposal Desyfa Adellia Maharani dan Namira Azzahro yang telah berjuang bersama-sama penulis dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa proposal ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan

proposal ini. Penulis berharap semoga segala bantuan dan kebaikan yang diberikan oleh berbagai pihak mendapat balasan yang terbaik dari Tuhan Yang Maha Esa dan semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan menambah wawasan bagi pembaca.

Samarinda, 03 Juni 2026

Zahira Fahriati

ABSTRAK

Nama : Zahira Fahriati

NIM : 22482011456

Judul Skripsi : Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) Dengan Variasi Pelarut Menggunakan *Microplate Reader*

Dosen Pembimbing : Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si

Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) merupakan tanaman herbal yang mengandung senyawa bioaktif, khususnya senyawa fenolik, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Kandungan senyawa fenolik yang terekstraksi dari bahan alam dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, terutama berdasarkan tingkat polaritasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total ekstrak rimpang kunyit hitam dengan variasi pelarut metanol, etanol 70%, dan etanol 95% menggunakan *microplate reader*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Tahapan penelitian meliputi determinasi tumbuhan, pengumpulan bahan baku, pengolahan simplisia, ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, etanol 70%, dan etanol 95%, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, skrining fitokimia, serta penetapan kadar fenolik total menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dengan pembanding asam galat. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kunyit hitam positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid. Hasil penetapan kadar fenolik total menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki kadar fenolik total tertinggi sebesar 85,8743 ± 0,8622 mg GAE/g, diikuti ekstrak metanol sebesar 53,9945 ± 0,4897 mg GAE/g dan ekstrak etanol 95% sebesar 49,9234 ± 0,9029 mg GAE/g. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai p-value 0,000 (<0,05), sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar fenolik total ekstrak kunyit hitam pada variasi pelarut yang digunakan.

Kata Kunci: *Curcuma caesia* (Roxb.), fenolik, etanol, metanol, *microplate reader*

ABSTRACT

Name : Zahira Fahriati

NIM : 22482011456

Thesis Title : Determination of Total Phenolic Content of Black Turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) Rhizome Extract Using Various Solvents by *Microplate reader*

Advisors : Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si.

Black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) is a herbal plant containing bioactive compounds, particularly phenolic compounds, which are known to possess high antioxidant activity. The extraction of phenolic compounds from natural materials is influenced by the type of solvent used, especially based on solvent polarity. This study aimed to determine the total phenolic content of black turmeric rhizome extracts using different solvents, namely methanol, 70% ethanol, and 95% ethanol, employing the *microplate reader*. This study was an experimental research. The research stages included plant determination, raw material collection, simplicia processing, extraction using the maceration method with methanol, 70% ethanol, and 95% ethanol solvents, determination of drying shrinkage, determination of moisture content, phytochemical screening, and determination of total phenolic content using the *Folin-Ciocalteu* reagent with gallic acid as a standard. The phytochemical screening results showed that the black turmeric rhizome extracts positively contained secondary metabolites, including alkaloids, phenolics, flavonoids, and triterpenoids. The total phenolic content results showed that the 70% ethanol extract had the highest total phenolic content of 85.8743 ± 0.8622 mg GAE/g, followed by the methanol extract at 53.9945 ± 0.4897 mg GAE/g and the 95% ethanol extract at 49.9234 ± 0.9029 mg GAE/g. The One Way ANOVA test showed a p-value of 0.000 (<0.05), indicating a significant difference in the total phenolic content of black turmeric extracts among the different solvents used.

Keywords: *Curcuma caesia* (Roxb.), phenolic, ethanol, methanol, *microplate reader*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN SEMINAR SKRIPSI II ..... **iii**
MOTO DAN PERSEMBAHAN ..... **iv**
KATA PENGANTAR ..... **vi**
ABSTRAK ..... **viii**
ABSTRACT ..... **ix**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xii**
DAFTAR TABEL ..... **xiii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xiv**

BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Hipotesis 3
D. Tujuan 3
E. Manfaat 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**
A. Kunyit Hitam 4
B. Simplisia 6
C. Ekstraksi 8
D. Maserasi 10
E. Pelarut 11
F. Skrining Fitokimia 11
G. Senyawa Fenolik 14
H. Microplate 15

BAB III METODE PENELITIAN 17
A. Rancangan Penelitian 17
B. Objek Penelitian 17
C. Sampel dan Teknik Sampling 17
D. Variabel Penelitian 18
E. Definisi Operasional 18
F. Teknik Pengumpulan Data 19
G. Analisis Data 26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 28
A. Determinasi tumbuhan 28
B. Pembuatan Simplisia 28
C. Penetapan Susut Pengeringan 29
D. Pembuatan Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 30
E. Penetapan Kadar Air 32
F. Skrining Fitokimia Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 34
G. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam Menggunakan Metode Microplate reader 37

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 42
A. Kesimpulan 42
B. Saran 42

DAFTAR PUSTAKA 43
LAMPIRAN 50

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Rimpang Kunyit Hitam 5
2. Struktur Kimia Fenolik 14
3. Diagram alat *Microplate reader* 15
4. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Seri Asam Galat 39

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Persentase Susut Pengeringan Serbuk Simplisia Rimpang Kunyit Hitam 30
2. Hasil Pengamatan Organoleptik 31
3. Jumlah Rendemen Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 32
4. Hasil Penetapan Kadar Air 33
5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 34
6. Nilai Absorbansi Larutan Standar Seri Asam Galat 38
7. Kadar Fenolik Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Alur Penelitian 50
2. Hasil Determinasi Tumbuhan 51
3. Tahapan Pembuatan Simplisia 52
4. Tahapan Susut Pengeringan Serbuk Simplisia Rimpang Kunyit Hitam 54
5. Perhitungan Susut Pengeringan Simplisia Rimpang Kunyit Hitam 55
6. Pembuatan Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Hitam 57
7. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Kunyit Hitam 59
8. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Rimpang Kunyit Hitam 61
9. Perhitungan Rendemen Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam 63
10. Tahapan Kadar Air Ekstrak Metanol 64
11. Tahapan Kadar Air Ekstrak Etanol 70% 65
12. Tahapan Kadar Air Ekstrak Etanol 95% 66
13. Penimbangan Dan Perhitungan Kadar Air 67
14. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Kunyit Hitam 70
15. Perhitungan Konsentrasi Larutan Induk Asam Galat 72
16. Tata Letak Larutan Seri Pada *Microplate 96-Sumuran* 73
17. Pembuatan larutan induk, seri konsentrasi asam galat dan larutan reagen lainnya 74
18. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat 76
19. Kurva Baku Standar Pembanding Asam Galat 77
20. Tata Letak Larutan Sampel Pada *Microplate 96-Sumuran* 78
21. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Kunyit Hitam Dan Replikasinya 79
22. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Kunyit Hitam 81
23. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Metanol Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Metanol Kunyit Hitam 82
24. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Kunyit Hitam 83
25. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 70% Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Etanol 70% Kunyit Hitam 84

26. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 95% Kunyit Hitam 85
27. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 95% Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Etanol 95% Kunyit Hitam..... 86
28. Hasil Uji Normalitas 87
29. Hasil Uji Homogenitas..... 89
30. Hasil Uji ANOVA 90

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Famili Zingiberaceae adalah kelompok tumbuhan berbunga yang dikenal di Indonesia sebagai jahe-jahean. Ciri khasnya terdapat pada rimpang yang mengandung minyak atsiri. Tanaman dari famili ini digunakan sebagai bumbu masak, obat-obatan, tanaman hias, bahan kosmetik, dan minuman. Beberapa genus yang banyak dimanfaatkan antara lain *Curcuma*. Salah satu spesies dari genus *Curcuma* adalah kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.)

Kunyit hitam memiliki aktivitas farmakologi serta dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit dengan pemanfaatan rimpang, akar, dan daun (Nuraeni *et al.*, 2023). Kunyit hitam secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai obat luar untuk mengatasi memar akibat keseleo, obat pembersih darah, sebagai antibakteri dalam pengobatan herbal, dan sebagai antidiabetikum (Utami, 2024). Kunyit hitam memiliki aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antibakteri, antimutagenik dan aktivitas sitotoksik (Udayani, 2022). Kunyit hitam digunakan dalam pengobatan tradisional karena terdapat kandungan senyawa bioaktifnya, terutama senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Menurut penelitian Yusnita, (2023) kunyit hitam memiliki senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan fenolik.

Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder tanaman dengan banyak manfaat seperti antioksidan, antiinflamasi, antidiabetik, imunoregulasi, antikanker, antimikrobia, dan sebagainya (Mahardani dan Yuanita, 2021). Fenolik memiliki satu atau lebih cincin benzen aromatik dan dianggap sebagai antioksidan yang paling melimpah. Ada lima seyawa yang termasuk ke dalam golongan fenolik, diantaranya asam fenolik, flavonoid, tanin, dan kumarin (Wardani *et al.*, 2020).

Senyawa fenolik dan flavonoid termasuk golongan senyawa polar hingga semi-polar. Secara kimiawi, keduanya memiliki gugus hidroksil (-OH) yang memungkinkan pembentukan ikatan hidrogen dengan pelarut polar, sehingga senyawa-senyawa ini larut baik dalam pelarut polar (Hakim dan Saputri, 2020).

Metanol dan etanol termasuk golongan alkohol yang bersifat polar. Metanol memiliki kepolaran yang sedikit lebih tinggi dibandingkan etanol disebabkan oleh rantai etil pada etanol yang lebih panjang dan cenderung hidrofobik. Kedua alkohol ini sangat mudah larut dalam air dalam berbagai komposisi, sehingga keduanya termasuk pelarut polar yang mampu melarutkan air secara efektif (Veronika *et al*., 2025). Metanol diketahui mampu mengekstraksi senyawa fenolik secara efektif, namun tingkat toksisitas yang relatif tinggi membatasi penggunaannya terutama untuk produk konsumsi. Sebaliknya, etanol terutama pada konsentrasi 70% lebih banyak digunakan karena keseimbangan polaritasnya yang baik dalam melarutkan berbagai senyawa fenolik dan flavonoid serta lebih aman untuk digunakan pada produk farmasi dan makanan (Setyaningum *et al.,* 2025).

Kadar fenolik total dapat diketahui dengan metode spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan reagen *Folin Ciocalteu* (Dewantara *et al*., 2021). Prinsip metode *Folin Ciocalteu* adalah reaksi oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi *Folin Ciocalteu* menghasilkan kompleks berwarna biru yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 765 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada di dalam sampel (Nofita *et al*., 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zulfisa *et al*., (2024) diperoleh hasil uji kadar total fenolik pada ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia Roxb*.) menggunakan metode *Folin Ciocalteu* yang menunjukkan bahwa sampel ekstrak etanol 70% memiliki kadar fenolik sebesar 192 mg GAE/g. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Rohmani *et al.*, (2024) yang menggunakan ekstrak etanol 96% menunjukkan kadar fenolik total, yaitu sebesar 61.823 mg GAE/g ekstrak.

Menurut penelitian sejenis yaitu pada genus *Curcuma* oleh Nurhasnawati *et al*., (2025) menggunakan pelarut etanol 95% ekstrak *Curcuma zedoaria*, *Curcuma*

xanthorrhiza dan *Curcuma longa* diperoleh kadar fenolik total berturut-turut sebesar 35,14 mg GAE/g, 108,39 mg GAE/g, dan 215,47 mg GAE/g. Rentang kadar fenolik ini menunjukkan variasi bioaktivitas yang potensial pada berbagai spesies *Curcuma* sebagai bahan baku kosmetik dan farmasi alami.

Sejauh ini belum ada dilakukan penelitian terkait kadar fenolik total dari ekstrak rimpang kunyit hitam menggunakan perbandingan tiga pelarut (metanol, etanol 70% dan etanol 95%) sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penetapan kadar fenolik total ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dengan variasi pelarut menggunakan *microplate reader*.

B. Rumusan Masalah

Berapa kadar fenolik total dari ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dengan perbedaan variasi pelarut (metanol, etanol 70% dan etanol 95%) menggunakan *microplate reader*?

C. Hipotesis

Ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dalam pelarut etanol 70% memiliki kadar fenolik total paling tinggi.

D. Tujuan

Mengetahui kadar fenolik total ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) dengan variasi pelarut (metanol, etanol 70% dan etanol 95%) menggunakan *microplate reader*.

E. Manfaat

1. Sebagai sumber data ilmiah mengenai kadar fenolik total dengan variasi pelarut pada ekstrak rimpang kunyit hitam
2. Sebagai referensi bagi pembaca atau peneliti selanjutnya dalam pengembangan dan penggunaan kunyit hitam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kunyit Hitam

1. Morfologi Tanaman

Tumbuhan Kunyit Hitam berasal dari India dan Bangladesh yang kemudian terdistribusi hingga ke Cina, Nepal, Malaysia, Thailand, hingga ke Indonesia. Tanaman kunyit hitam adalah tanaman herbal yang tingginya sekitar 0,5 hingga 1 meter. Tanaman ini memiliki rimpang yang bentuknya bulat memanjang seperti telur dan berfungsi menyimpan cadangan makanan. Rimpang ini berwarna cokelat tua sampai hitam kebiruan dengan permukaan berkerut menyerupai cincin. Bagian dalam rimpang menyimpan cadangan makanan yang digunakan tanaman untuk tumbuh dan berkembang. Akar-akar halus tumbuh dari permukaan rimpang ini. Permukaannya tampak seperti memiliki cincin-cincin kecil yang merupakan sisa daun yang melekat. Rimpang kunyit hitam juga beraroma khas seperti kamper dan biasanya berasa pahit. Rimpang ini sering digunakan dalam pengobatan tradisional karena kandungan bahan aktif di dalamnya.

Bagian atas tanaman terdiri dari batang yang tampak seperti batang semu, daun panjangnya sekitar 30-60 cm dengan warna hijau agak ungu di bagian tengah tulang daunnya saat muda, dan bunga yang warnanya kuning pucat dengan sedikit warna merah di pinggirnya serta berbentuk lonjong. Daun dan bagian lainnya memiliki aroma kuat dan rasa sedikit pahit (Paudel *et al.*, 2024)

2. Taksonomi Tanaman

Taksonomi dari kunyit hitam sebagai berikut (GBIF, 2022):

Kingdom : Plantae
Phylum : Tracheophyta
Class : Liliopsida
Order : Zingiberales
Family : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Spesies : *Curcuma caesia* Roxb.



Gambar 1. Rimpang Kunyit Hitam **(**Dokumentasi Pribadi, 2026)

3. Khasiat Tanaman

Rimpang kunyit hitam telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit seperti epilepsi, asma, demam, maag, kista, dan kanker. Tanaman ini mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, yang juga berhubungan erat dengan kemampuan kunyit hitam sebagai tabir surya alami, yaitu zat yang menyerap atau memantulkan sinar matahari sehingga membantu melindungi kulit dari gangguan. Selain itu, rimpang kunyit hitam dapat digunakan langsung pada kulit untuk mengatasi masalah seperti kutu dan bekas luka. Karena efek samping obat sintetis yang terkadang merugikan, kunyit hitam dipandang sebagai alternatif alami yang aman dan efektif. Senyawa bioaktif dalam kunyit hitam memberikan berbagai manfaat terapeutik yang berkontribusi pada kesehatan dan penyembuhan secara alami (Nuraeni *et al*., 2023).

Di Indonesia sendiri, kepopuleran manfaat dari kunyit hitam ini juga cukup terkenal. Kunyit hitam biasanya digunakan sebagai jamu untuk mengatasi nyeri perut, menambah nafsu makan, menambah stamina dan mengatasi batuk. Selain itu juga digunakan sebagai pembersih darah, kunyit hitam juga digunakan sebagai obat ruam, kadas dan kudis membantu mengatasi kulit gatal. Hal ini dikarenakan kandungan di dalam kunyit hitam yang mampu menjadi antiinflamasi sehingga selain mengatasi kulit gatal, kunyit juga dapat dijadikan sebagai anti radang pada kulit yang gatal tersebut (Yusnita, 2023). Masyarakat di India, selain meyakini dapat menyembuhkan penyakit, juga digunakan sebagai tanaman penangkal bencana dan membawa keberkahan (Pratiwi, 2023).

4. Kandungan Senyawa Pada Kunyit Hitam

Kunyit hitam mengandung berbagai senyawa bioaktif dan metabolit sekunder seperti kurkuminoid, minyak atsiri, flavonoid, senyawa fenolik, alkaloid, serta berbagai asam amino. Senyawa metabolit sekunder tersebut berkaitan dengan berbagai manfaat kunyit hitam, mulai dari sebagai antioksidan, pengharum, penyedap, hingga sebagai obat. Kurkuminoid dalam kunyit hitam berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, mempercepat penyembuhan luka, menurunkan gula darah (hipoglikemia), antikoagulan, dan memiliki aktivitas antimikroba. Flavonoid dan senyawa fenolik juga berperan sebagai antioksidan dengan kemampuan menangkal radikal bebas, serta memiliki sifat antiinflamasi dan antikarsinogenik (Nuraeni *et al.*, 2023).

B. Simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60˚C. Suatu simplisia dikatakan bermutu jika memenuhi persyaratan mutu yang tertera dalam monografi simplisia, antara lain susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan kandungan bahan aktif simplisia (Maslahah, 2024).

Simplisia ada 3 jenis. Simplisia nabati merupakan simplisia dari bagian utuh atau bagian tertentu tumbuhan maupun eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia bisa berupa hewan utuh atau zat-zat berguna dari hewan yang belum diubah menjadi bahan kimia murni misalnya, minyak ikan dan madu. Simplisia pelican dan mineral adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang diolah dengan sederhana yang belum berupa bahan kimia murni contohnya, serbuk seng dan serbuk tembaga (Evifania *et al*., 2020).

Tahapan pembuatan simplisia sebagai berikut:

1. Pengumpulan Bahan Baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda beda antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (Luciana *et al.*, 2024)

2. Sortasi Basah

Sortasi basah dilakukan saat hasil panen tiba di tempat pengolahan dengan tujuan memeriksa bahwa bahan yang dipanen masih segar dan tidak banyak mengalami kerusakan atau pembusukan. Proses ini merupakan pemisahan kotoran dan bahan asing dari tanaman, seperti tanah, kerikil, rumput, gulma, serta bagian tanaman yang tidak diinginkan, termasuk bagian yang busuk, kering, terlalu muda, atau terlalu tua. Hal ini dilakukan untuk mengurangi jumlah pengotor yang terbawa bersama hasil panen sehingga mutu bahan simplisia tetap terjaga (Widodo dan Subositi, 2021).

3. Pencucian

Pencucian dilakukan segera setelah sortasi untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada bahan, yang tidak bisa dibersihkan saat sortasi basah. Tujuannya adalah mengurangi jumlah mikroba sekaligus membuat tampilan fisik simplisia lebih baik. Pencucian menggunakan air bersih yang mengalir agar kotoran yang terlepas tidak kembali menempel. Penyikatan dengan sikat halus, baik manual maupun memakai alat sederhana, dilakukan terutama pada simplisia yang memiliki banyak lekukan seperti rimpang, akar, atau umbi (Widodo dan Subositi, 2021).

4. Perajangan

Untuk mempermudah proses ekstraksi, diperlukan peningkatan luas permukaan bahan diperlukan agar pelarut bisa lebih mudah menembus bahan tanaman. Perluasan ini bisa dilakukan dengan memotong atau merajang bahan tersebut. Perajangan bisa dilakukan secara manual dengan ketebalan irisan sekitar 3 mm atau lebih. Ketebalan ini penting karena kalau terlalu tebal, pengeringan jadi lama dan berisiko bahan menjadi busuk atau berjamur. Sebaliknya, jika terlalu tipis,

bahan kimia yang penting bisa hilang karena teroksidasi atau rusak. Pisau yang digunakan untuk merajang sebaiknya terbuat dari *stainless steel* agar tidak merusak bahan. Semakin tipis irisan bahan, air akan lebih cepat menguap dan pengeringan jadi lebih cepat. Namun, jika terlalu tipis, zat aktif yang mudah menguap bisa hilang dan mempengaruhi rasa, aroma, dan kualitas simplisia (BPOM, 2023).

5. Pengeringan

Pengeringan bertujuan mengurangi kadar air dalam simplisia agar bahan tidak mudah rusak dan dapat disimpan lebih lama. Proses ini juga menghentikan reaksi enzim dalam bahan tanaman serta mencegah pertumbuhan jamur, kapang, dan mikroorganisme lain yang dapat merusak. Ada dua cara pengeringan, yaitu pengeringan alami dan pengeringan buatan. Pengeringan alami dilakukan dengan mengeringkan bahan di bawah sinar matahari langsung, sedangkan pengeringan buatan menggunakan oven, uap panas, atau alat pengering lainnya.

Beberapa faktor penting yang perlu diperhatikan selama pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, lama pengeringan, dan luas permukaan bahan. Umumnya, simplisia dikeringkan pada suhu di bawah 60°C. Untuk bahan yang mengandung senyawa mudah menguap dan tidak tahan panas, suhu pengeringan ideal adalah antara 30-40°C selama waktu tertentu agar kualitas zat aktif tetap terjaga (Kemenkes RI, 2011).

6. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan (Luciana *et al.*, 2024).

C. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut, pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Proses ini bertujuan

menghasilkan ekstrak yang dapat digunakan dalam penelitian fitokimia, formulasi herbal, dan standarisasi obat tradisional. Menurut Triyanti *et al*. (2025), metode ekstraksi dibagi menjadi dua kelompok utama berdasarkan penggunaan suhu, yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

Ekstraksi cara dingin tidak dilakukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung yang bertujuan supaya senyawa yang diinginkan tidak rusak. Metode yang termasuk ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut diam atau dengan adanya pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Metode ini dapat dilakukan pengadukan. Pada umumnya perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian pelarut diganti dengan pelarut baru. Sedangkan perkolasi dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang sebelumnya telah dibasahi. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk dan akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel hingga jenuh (Lestari *et al.*, 2025).

Ekstraksi cara panas melibatkan proses pemanasan selama ekstraksi berlangsung. Pemanasan akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Metode yang termasuk metode ini antara lain refluks, soxhletasi, infusa, dekokta, destilasi dan digesti. Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Sedangkan soxhletasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat Soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan (Lestari *et al.*, 2025).

Selain metode cara dingin dan cara panas, terdapat metode ekstraksi modern yang memanfaatkan teknologi seperti sentrifugasi, ekstraksi superkritikal, dan ultrasonik (sonikasi) yang dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi dan hasil ekstrak (Triyanti *et al.*, 2025).

D. Maserasi

Metode maserasi merupakan teknik ekstraksi simplisia yang umum digunakan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alami yang tidak tahan panas. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut cair pada suhu kamar 20-30˚C selama waktu tertentu, sehingga senyawa aktif dapat larut keluar ke pelarut tanpa risiko kerusakan akibat panas. Prinsip metode maserasi yaitu perendaman, di mana cairan penyari akan menembus dinding sel simplisia dan masuk ke dalam rongga sel yang banyak mengandung zat aktif, kemudian zat aktif akan melarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, menyebabkan larutan terpekat didesak keluar. Peristiwa ini akan terjadi secara berulang, sehingga terjadilah kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Arviani *et al.*, 2023).

Metode maserasi dapat dioptimalkan dengan pengadukan, remaserasi, dan pemanasan. Pengadukan yang dilakukan secara berkala dapat membantu menghomogenkan senyawa kontak dengan pelarut dan membantu kelarutan zat aktif ke dalam pelarut sehingga dapat mengoptimalkan hasil ekstraksi. Sedangkan remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama, dan seterusnya. Penambahan pelarut baru pada proses remaserasi dapat membantu melarutkan metabolit sekunder yang masih tertinggal pada simplisia (Arviani *et al.*, 2023). Hal-hal yang perlu diperhatikan pada ekstraksi maserasi yaitu rasio pelarut dengan bahan baku, suhu, kecepatan pengadukan, waktu maserasi, optimasi derajat kehalusan simplisia (optimasi penggunaan alat ekstraksi, semakin halus simplisia akan semakin mudah terjerap di alat). Penggunaan pelarut disesuaikan dengan bahan dan tujuan senyawa aktif yang diekstraksi (BPOM, 2023).

Kelebihan metode maserasi adalah kesederhanaan prosesnya, pemeliharaan stabilitas senyawa termolabil, serta efisiensi dalam mengekstrak metabolit seperti flavonoid dan fenolik total (Triyanti *et al.*, 2025).

E. Pelarut

Pemilihan pelarut merupakan faktor penting yang mempengaruhi hasil ekstraksi. Pelarut yang baik harus memenuhi kriteria seperti selektivitas, kemudahan digunakan dalam proses, keamanan, ramah lingkungan, serta bersifat ekonomis (Depkes RI, 2000).

Pelarut mempunyai tiga tingkatan sifat kelarutan yaitu non polar, semi polar dan polar. Tingkat kepolaran pelarut dalam penelitian akan mempengaruhi kandungan senyawa yang di ekstraksi berdasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Yani *et al*., 2023). Contohnya, senyawa non polar dapat larut dalam pelarut seperti eter, kloroform, dan n-heksana. Senyawa dengan sifat semi polar akan larut pada pelarut semi polar seperti aseton dan etil asetat, sementara senyawa polar hanya dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Etanol dan metanol termasuk dalam golongan pelarut polar yang banyak digunakan pada proses ekstraksi senyawa bioaktif dari bahan alam. Keduanya mampu melarutkan senyawa polar maupun semipolar, namun memiliki perbedaan dalam hal efektivitas dan selektivitas terhadap jenis senyawa tertentu. Etanol dikenal lebih aman serta ramah lingkungan dibandingkan metanol, dan sering dipilih karena kemampuannya yang baik dalam mengekstraksi senyawa flavonoid, tanin, serta polifenol. Sebaliknya, metanol memiliki daya larut yang lebih kuat terhadap senyawa fenolik dan glikosida, tetapi penggunaannya dibatasi karena sifat toksiknya sehingga kurang direkomendasikan untuk aplikasi di bidang pangan maupun farmasi (Arafat *et al*., 2025).

F. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi kelompok senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk simplisia. Uji ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan metabolit sekunder

seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, serta senyawa golongan terpenoid atau steroid. Metabolit sekunder tersebut antara lain:

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia organik yang banyak ditemukan di alam sebagai hasil metabolit sekunder dari tumbuhan maupun hewan. Alkaloid biasa di temukan di dalam tanaman misalnya seperti pada daun, biji, ranting, akar, bunga, maupun pada batang tanaman yang mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Senyawa ini memiliki sedikitnya satu atom nitrogen dengan sifat basa, di mana sebagian besar atom nitrogen tersebut berada dalam struktur cincin heterosiklik. Umumnya, alkaloid berbentuk garam organik yang padat, berwarna tidak mencolok, serta memiliki bentuk kristal (Karim *et al*., 2022).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang dapat diperoleh dari alam yang telah digunakan secara luas oleh masyarakat. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang terhubung dengan dua atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Flavonoid merupakan golongan senyawa yang larut dalam air (Jannah *et al.*, 2024).

Flavonoid dapat ditemukan pada bagian akar, daun, bunga, dan buah. Flavonoid termasuk salah satu metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai anti mikroba, obat infeksi pada luka, anti jamur, antivirus, anti kanker, dan anti tumor. Selain itu, flavonoid juga dapat digunakan sebagai anti bakteri, anti alergi, sitotoksik, dan anti hipertensi (Putri *et al.*, 2024).

3. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan dengan ciri memiliki cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil. Senyawa ini berguna sebagai antioksidan, anti kanker, antiinflamasi, antimikrobia, melindungi dari penyakit jantung, dan lain sebagainya (Mahardani dan Yuanita, 2021). Struktur senyawa fenolik yang paling khas adalah cincin aromatik yang memiliki rantai cabang hidroksil (OH) serta rantai turunannya seperti ester, metil eter, glikosida, dan lain-lain) (Nadhira dan Cahyana, 2023).

4. Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Senyawa metabolik sekunder saponin dapat ditemukan diberbagai organ tumbuhan seperti buah, bunga, daun, batang dan akar. Struktur molekul saponin yang terdiri dari rangkaian atom C dan H membuat senyawa ini memiliki aktivitas biologis sebagai anti bakteri yang pada umumnya diaplikasikan dalam pembuatan sabun. Senyawa saponin diaplikasikan dalam dunia obat-obatan karena diketahui memiliki aktifitas sebagai obat antifungal, antibakteri serta anti tumor (Ngginak *et al.*, 2021).

5. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dengan berat molekul tinggi yang tersusun dari gugus hidroksil dan karboksil, yang memungkinkannya membentuk ikatan silang yang efektif dengan molekul lain seperti protein, polisakarida, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat. Tanin berwarna kuning atau putih mengkilat, hampir tidak berwarna, serta mempunyai aroma dan rasa yang khas. Senyawa tanin bersifat polar dan memerlukan pelarut yang bersifat polar (Suhaila *et al.*, 2024).

6. Steroid atau terpenoid

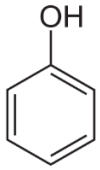
Steroid merupakan senyawa turunan dari hidrokarbon 1,2-Siklopentenoperhidrofenantrena, yang mana pada tumbuh-tumbuhan secara umum terdapat dalam bentuk sterol. Steroid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi (Sari, 2021).

Terpenoid adalah campuran unit isoprena, yang dapat berupa rantai terbuka atau siklik, dan dapat mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, atau gugus fungsional lainnya (Nola *et al.*, 2021). Terpenoid mempunyai manfaat sebagai antibakteri, dan anti jamur. Mekasisme kerja terpenoid yaitu dapat mengambat pertumbuhan dengan menggangu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ramadhan *et al*., 2023).

G. Senyawa Fenolik

1. Definisi senyawa fenolik dan struktur kimianya

Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder dari tanaman dengan kombinasi antara mono dan polisakarida yang berikatan dengan satu atau lebih gugus fenolik, atau sebagai turunan ester atau metil ester. Senyawa ini merupakan senyawa aromatik dengan strukturnya diturunkan dari benzena sehingga memiliki cincin aromatik serta adanya satu atau lebih gugus hidroksil (OH). Senyawa fenolik cenderung larut dalam air, umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan berada dalam vakuola sel (Mahardani dan Yuanita, 2021).



Gambar 2. Struktur Kimia Fenolik (Depkes RI, 1979)

Senyawa fenolik adalah senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman dan memiliki fungsi baik untuk tanaman itu sendiri maupun bagi manusia. Senyawa fenolik memiliki manfaat diantaranya sebagai antioksidan, anti bakteri dan sebagainya. Senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada tanaman sebagian besar merupakan senyawa bioaktif dan memiliki dua atau lebih gugus hidroksil pada strukturnya (Nadhira dan Cahyana, 2023).

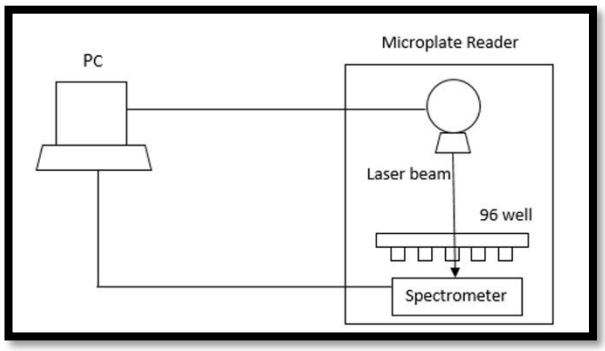
2. Penetapan kadar fenolik

Penetapan kadar fenolik total dapat dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis dengan metode *Folin–Ciocalteu*. Metode ini dipilih karena senyawa fenolik mampu bereaksi dengan reagen *Folin–Ciocalteu* sehingga menghasilkan larutan berwarna yang dapat diukur nilai absorbansinya (Yusuf dan Amalia, 2022). Prinsip kerja metode *Folin–Ciocalteu* didasarkan pada reaksi oksidasi senyawa fenolik oleh reagen *Folin-Ciocalteu* dalam kondisi basa, yang menghasilkan kompleks berwarna biru dengan serapan kuat pada panjang gelombang sekitar 765 nm. Intensitas warna biru yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel (Nofita *et al.*, 2020).

Dalam suasana basa, gugus fenolik akan mengalami disosiasi membentuk ion fenolat, kemudian gugus hidroksilnya bereaksi dengan komponen reagen *Folin–Ciocalteu* sehingga terbentuk kompleks molibdenum–tungsten berwarna biru yang selanjutnya dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer (Nofita *et al.,* 2020).

Penetapan kadar fenolik biasanya menggunakan asam galat sebagai larutan standar. Penggunaan asam galat didasarkan pada sifatnya sebagai senyawa fenol alami turunan hidroksibenzoat yang murni, stabil, serta memiliki reaktivitas tinggi terhadap reagen *Folin–Ciocalteu* (Yusuf dan Amalia, 2022). Reaksi antara asam galat, reagen *Folin–Ciocalteu*, dan Na_2CO_3 menghasilkan kompleks berwarna biru yang digunakan sebagai acuan untuk menentukan kadar fenolik total dalam sampel (Nofita *et al.,* 2020).

H. Microplate



Gambar 3. Diagram alat *Microplate reader* (Azahan *et al*., 2021).

Microplate reader merupakan jenis spektrofotometer khusus yang menggunakan sensor cahaya untuk mengukur nilai absorbansi secara langsung pada *microplate* (96-99 sumur). Prinsip kerja mirip dengan spektrofotometer konvensional, yaitu mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh sampel. Semakin besar konsentrasi zat yang dianalisis, maka semakin besar pula cahaya yang diserap. Menurut World Health Organization (2008), prinsip kerja *microplate reader* yaitu memiliki suatu sistem deteksi yang mendeteksi cahaya yang berasal dari sampel, menguatkan sinyal dan menentukan absorbansi sampel. Selanjutnya suatu sistem pembacaan mengubahnya menjadi data yang memungkinkan interpretasi hasil

pengujian. Dalam proses pengukurannya, sumber cahaya dengan panjang gelombang tertentu diarahkan ke sampel di dalam sumur *microplate*. Cahaya tersebut akan melewati sampel, kemudian detektor di sisi berlawanan akan mengukur sisa cahaya yang diteruskan. Selisih antara cahaya yang masuk dan yang diteruskan inilah yang digunakan untuk menentukan nilai absorbansi (Rismawati *et al.*, 2025).

Perbedaan *microplate reader* dengan spektrofotometer adalah spektrofotometer lebih akurat, dapat mengukur pada semua panjang gelombang, dapat merekam spektrum, dapat mengukur kinetik secara terus menerus dan lebih sensitif. Sedangkan *microplate reader* lebih cepat dibandingkan spektrofotometer, dapat menggunakan banyak sampel sekaligus, dapat menggunakan volume yang lebih kecil seperti 200-500 µl untuk *microplate 96-well*. Pembacaan *microplate reader* biasanya menggunakan *microplate 96-well*. Penggunaan *microplate* ini digunakan untuk mengukur banyak sampel pada jumlah dan waktu yang sama. Hal ini dikarenakan *microplate reader* mempunyai fitur khusus dimana mereka dapat mengukur lebih banyak sampel dalam periode waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan spektrofotometer yang hanya mengukur satu hingga enam sampel sekaligus (Maulidia, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental, yaitu peneliti mengubah atau memberikan perlakuan tertentu untuk kemudian mengamati pengaruh yang ditimbulkannya. Penelitian ini untuk menentukan kadar senyawa total fenolik yang terdapat pada ekstrak kunyit hitam dengan menggunakan metode microplate. Tahapan dalam penelitian ini meliputi determinasi kunyit hitam, pengambilan sampel kunyit hitam, pengolahan simplisia, ekstraksi, skrining fitokimia, dan uji kadar menggunakan metode *microplate reader*. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodeversitas Hutan Tropis, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman dan penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Analisis Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda pada bulan Desember 2025 – Mei 2026.

B. Objek Penelitian

Objek penelitian ialah kadar fenolik total kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) asal Loa Bakung, Samarinda, Kalimantan Timur, yang akan diuji dengan metode *microplate reader*.

C. Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kunyit hitam. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *Purposive Sampling*, yaitu berdasarkan kriteria tertentu yang ditetapkan oleh peneliti. Sampel kunyit hitam diperoleh dari daerah Loa Bakung, Kota Samarinda. Proses pengambilan dilakukan pada rentang umur tanaman 10 bulan, dengan kriteria sampel berupa rimpang kunyit hitam yang segar dan tidak rusak.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang memengaruhi variabel terikat. Pada penelitian ini, variabel bebas yang digunakan adalah ekstrak dengan variasi pelarut, yaitu metanol, etanol 70% dan etanol 95%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan faktor yang diamati dan diukur untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari variabel bebas. Pada penelitian ini, variabel terikatnya adalah hasil kadar fenolik pada sampel kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.).

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dijaga tetap konstan selama penelitian agar tidak memengaruhi hasil pengukuran. Pada penelitian ini, variabel kontrol yang digunakan adalah reagen *Folin-Ciocalteu*, larutan Na_2CO_3 (100 g/L), asam galat (*Gallic Acid*), microplate reader dan pelarut etanol 70% untuk analisis fenolik.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

Ekstrak rimpang kunyit hitam (*Curcuma casea* Roxb.) adalah ekstrak kental yang diperoleh dari simplisia rimpang kunyit hitam yang kemudian diserbuk dan diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, etanol 70% dan etanol 95%.

2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak kunyit hitam, seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid/steroid dan saponin (Udayani *et al*., 2022).

3. Penetapan kadar fenolik

Penetapan kadar fenolik dilakukan untuk mengetahui jumlah total senyawa fenolik dalam sampel kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.). Hasilnya dinyatakan

dalam satuan persentase (%) atau dalam bentuk mg asam galat per gram sampel (mg GAE/g).

4. Microplate reader

Microplate reader mengukur absorbansi cahaya ultraviolet dan tampak oleh sampel untuk menentukan konsentrasi senyawa. Teknik ini memanfaatkan karakteristik panjang gelombang serapan tiap senyawa.

F. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

   a. Alat

   Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *96-well plate,* ayakan mesh 40, alumunium foil, batang pengaduk, *beaker glass*, blender (Philips), *blue tip*, botol vial coklat, cawan porselin, corong bucher, corong kaca, desikator, eppendorf, gelas ukur 10 ml (pyrex), *hot plate*, kaca arloji, kertas saring whatman No. 41, labu ukur 25 ml (pyrex), labu ukur 5 ml (pyrex), maserator (IKA), *micropipet*, *microplate reader (Allsheng)*, pipet tetes, *rotary evaporator (Heidolph),* spatel*,* tabung reaksi (pyrex), toples kaca, timbangan analitik (Ohanus), vortex, *waterbath, dan yellow tip*.

   b. Bahan

   Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kunyit hitam yang diperoleh di pembudidayaan kunyit hitam daerah Loa Bakung Kota Samarinda adalah metanol, etanol 70%, etanol 95%, alumunium foil, pereaksi *Folin-Ciocalteu*, aquades, natrium karbonat (Na_2CO_3) (100g/L), Asam galat, perekasi mayer, perekasi bouchardat, pereaksi dragendorff, magnesium sulfat ($MgSO_4$), asam klorida (HCl) pekat, amil alkohol ($C_5H_{11}OH$), besi klorida 5% ($FeCl_3$), asam sulfat (H_2SO_4) pekat, anhidrat asetat $(CH_3CO)_2O$ dan dimetil sulfoksida $(CH_3)_2SO$.

2. Prosedur penelitian

   a. Determinasi tumbuhan

Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman kunyit yang digunakan dalam penelitian. Proses determinasi ini dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodeversitas Hutan Tropis, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman.

b. Pengumpulan Bahan Baku

Sampel yang digunakan berupa rimpang kunyit hitam yang diperoleh dari daerah Loa Bakung, Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Pengumpulan bahan baku dilakukan dengan cara mengambil rimpang kunyit hitam yang telah cukup umur, yaitu rimpang yang dipanen pada rentang umur 10 bulan setelah ditanam. Rimpang kemudian dibersihkan dari tanah dan kotoran yang menempel.

c. Pengolahan Simplisia

Sampel yang telah diperoleh terlebih dahulu disortasi basah untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang masih menempel pada rimpang kunyit hitam. Setelah proses sortasi, sampel kemudian dipotong tipis ± 3 mm, lalu dikeringkan dibawah suhu 60˚C hingga kadar air rendah. Setelah kering, sampel ditimbang dan dicatat berat keringnya, kemudian rimpang dihaluskan menjadi serbuk simplisia, diayak menggunakan mesh 40 untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam (Ramarao *et al.*, 2024). Setelah itu ditimbang kembali berat serbuk yang diperoleh dan disimpan dalam wadah tertutup untuk mencegah paparan cahaya dan udara.

d. Ekstraksi

Serbuk simplisia kunyit hitam sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan pelarut masing-masing 1 liter, pelarut yang digunakan yaitu metanol teknis, etanol 70% dan etanol 95% kemudian diaduk selama 3 jam pada suhu ruang menggunakan maserator dan didiamkan selama 21 jam. Setelah itu campuran disaring untuk memisahkan filtrat pertama dan ampasnya. Ampas yang tersisa kemudian di remaserasi dengan menambahkan pelarut masing-masing 500 mL dengan prosedur yang sama. Filtrat hasil remaserasi digabungkan dengan filtrat pertama dan diuapkan dibawah suhu 50˚C menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak

kental etanol kunyit hitam (Hasan *et al*., 2023). Kemudian dihitung rendemen ekstrak dengan rumus :

$$Rendemen\ (\%) = \frac{berat\ ekstrak\ kental\ (g)}{berat\ simplisia\ (g)}\ x\ 100\%$$

e. Penetapan Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan menimbang simplisia sebanyak 1 gram dalam krus porselen yang telah dipanaskan pada suhu 105˚C dan ditara. Ratakan bahan dalam krus porselen dengan cara menggoyangkan krus porselen hingga mendapat lapisan setebal kurang lebih 5-10 mm, kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 1 jam dengan suhu 105˚C, krus porselen dalam keadaan terbuka. Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit. Kemudian krus porselen ditimbang. Prosedur ini dilakukan berkali-kali hingga mendapatkan bobot yang konstan. Bobot konstan dapat diperoleh apabila perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Kemenkes RI, 2017). Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 2 kali dan dicatat bobot tetap yang didapatkan, persentase susut pengeringan dihitung menggunakan rumus menurut Depkes RI (2000) sebagai berikut:

$$Susut\ pengeringan\ (\%) = \frac{b - (c - a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan : a = berat cawan kosong (g)
b = berat sampel awal (g)
c = berat cawan dan sampel (g)

f. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan menimbang cawan porselen kosong. Kemudian ekstrak kunyit hitam masing-masing diambil sebanyak 1 gram dimasukkan dalam cawan porselen. kemudian dikeringkan pada suhu 105˚C selama 1 jam menggunakan oven. Kemudian dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit. Bobot tetap diperoleh apabila perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Kemenkes RI, 2017).

Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus menurut Depkes RI (2000) sebagai berikut:

$$Perhitungan\ kadar\ air\ = \frac{b-(c-a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan : a = berat cawan kosong (g)
b = berat sampel awal (g)
c = berat cawan dan sampel (g)

g. Uji Skrinning Fitokimia

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Supriningrum *et al*., (2019), Sebelum melakukan skrinning fitokimia, dibuat larutan uji yang terdiri dari 1 gram ekstrak dilarutkan dengan 25 ml air panas (suhu antara 60-80˚C) kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji berikut:

1) Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan 3 pereaksi yang berbeda.

a) Pereaksi Mayer

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi mayer dan 2-3 tetes HCl 2N. Endapan putih atau kuning yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

b) Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi bouchardat. Endapan coklat sampai hitam yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

c) Pereaksi Dragendorff

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi dragendorff. Endapan jingga sampai merah coklat yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

Hasil dinyatakan positif alkaloid apabila terbentuk endapan minimal dua reagen pengujian (Rosidah *et al.*, 2021)

2) Uji Flavonoid

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampurkan dengan sedikit serbuk magnesium dalam, 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol dalam tabung reaksi kemudian dicampur dan dibiarkan memisah. Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3) Uji Fenolik

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampur dengan aquades sampai tidak berwarna, tambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam yang terbentuk menandakan adanya senyawa tanin (Alda *et al.*, 2025).

4) Uji Terpenoid/Steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimaserasi dengan 10 mL n-heksan selama 1 jam lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap dan sisanya ditambahkan 1-2 tetes $(CH_3CO)_2O$ dan H_2SO_4 pekat. Warna ungu atau merah menunjukkan adanya triterpenoid, warna hijau dan biru yang terbentuk menunjukkan adanya steroid.

5) Uji Saponin

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampur dengan air secukupnya kemudian dikocok selama 10 detik, adanya buih yang terbentuk dalam waktu kurang dari 1 menit dengan ukurannya antara 1-10 cm dan tidak hilang meskipun ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2N, menunjukkan adanya senyawa saponin.

h. Penetapan Kadar Fenolik

Penetapan kadar fenolik total penelitian ekstrak rimpang kunyit hitam mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Hikmawanti *et al*., (2023) dan Farmakope Herbal Indonesia (2017) dengan sedikit modifikasi, menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteau* secara microplate dengan asam galat sebagai pembanding.

1) Pembuatan Reagen

a) Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dengan 25 mL aquades, kemudian diperoleh konsentrasi 1.000 ppm sebagai larutan induk asam galat.

b) Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (100g/L)

Sebanyak 0,5 g Na_2CO_3 dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan 3 mL aquades. Kemudian didihkan sampai serbuk Na_2CO_3 larut sempurna. Setelah itu, volume larutan ditambahkan dengan aquades hingga tepat tanda batas 5 mL. Larutan diinkubasi selama 24 jam untuk memastikan homogenitas dan kestabilan, sekaligus memungkinkan pengendapan kotoran atau partikel yang tidak larut. Selanjutnya, larutan disaring sebelum digunakan.

c) Pembuatan Reagen *Folin-Ciocalteau* 1:4

Larutan pereaksi *Folin-Ciocalteau* sebanyak 1 mL dilarutkan dengan 4 mL aquadest.

2) Pembuatan Deret Standar Asam galat

Larutan induk asam galat 1.000 ppm digunakan untuk membuat deret standar secara pengenceran bertingkat. Sebanyak 500 µL larutan induk 1000 ppm dipipet ke dalam tabung Eppendorf, kemudian ditambahkan 500 µL aquades. Campuran tersebut divortex selama 1 menit hingga homogen, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 ppm. Selanjutnya, dari larutan 500 ppm dipipet sebanyak 500 µL dan ditambahkan 500 µL aquades, kemudian divortex selama ±1 menit untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 250 ppm. Prosedur yang sama dilakukan secara bertingkat untuk menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 125 ppm, 62,5 ppm, dan 31,25 ppm.

3) Larutan Blanko

Etanol 70% diambil sebanyak 25 µL, ditambahkan 100 µL reagen *Folin-Ciocalteu* kemudian goyang pelan selama 1 menit, biarkan campuran selama 4 menit dalam kondisi terlindung dari cahaya. Selanjutnya, tambahkan 75 µL natrium karbonat, goyang dengan pelan selama 1 menit. Setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar.

4) Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar asam galat dengan konsentrasi 125 ppm diambil sebanyak 25 µL, ditambahkan 100 µL reagen *Folin-Ciocalteu* kemudian goyang pelan selama 1 menit, biarkan campuran selama 4 menit dalam kondisi terlindung dari cahaya. Selanjutnya, tambahkan 75 µL natrium karbonat, goyang dengan pelan selama 1 menit. Setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 600-850 nm.

5) Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Plate terdiri dari baris A-G masing-masing berjumlah 12 sumur. Sebanyak 25 µL etanol 70% dimasukkan pada baris A untuk blanko. Pada baris B dimasukkan sampel sebanyak 25 µL dengan konsentrasi 31,25 ppm. Pada baris C dimasukkan sampel sebanyak 25 µL dengan konsentrasi 62,5 ppm. Pada baris D dimasukkan sampel sebanyak 25 µL dengan konsentrasi 125 ppm. Pada baris E dimasukkan sampel sebanyak 25 µL dengan konsentrasi 250 ppm dan pada baris F dimasukkan sampel sebanyak 25 µL dengan konsentrasi 500 ppm. Baris A-F ditambahkan 100 µL reagen *Folin-Ciocalteu* kemudian goyang pelan selama 1 menit, biarkan campuran selama 4 menit dalam kondisi terlindung dari cahaya. Selanjutnya, baris A-F ditambahkan 75 µL natrium karbonat, goyang dengan pelan selama 1 menit. Setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum terhadap blanko.

Penggunaan kurva standar regresi linier $y = bx + a$ berdasarkan absorbansi dan konsentrasi larutan standar digunakan untuk menghitung kadar fenolik total. Nilai y adalah absorbansi dari *Microplate reader*, dan x

adalah konsentrasi fenolik (mg GAE/g). Persamaan ini kemudian diterapkan ke absorbansi sampel untuk menentukan kadar fenolik total dalam sampel tersebut dalam satuan mg GAE/g.

6) Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kunyit Hitam

Ekstrak kunyit hitam sebanyak 1 mg ditimbang kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1.000 ppm. Penentuan kadar fenolik dilakukan pada *microplate 96-sumuran*. Sebanyak 25 µL etanol 70% dimasukkan pada baris A untuk blanko. Pada baris B dimasukkan sebanyak 25 µL larutan uji ekstrak kunyit hitam dengan pelarut metanol. Pada baris C dimasukkan sebanyak 25 µL larutan uji ekstrak kunyit hitam dengan pelarut etanol 70%. Pada baris D dimasukkan sebanyak 25 µL larutan uji ekstrak kunyit hitam dengan pelarut etanol 95%. Kemudian pada baris A-D ditambahkan dengan 100 µL *Folin ciocalteu* (1:4), goyang dengan pelan selama 1 menit. Biarkan campuran selama 4 menit dalam kondisi terlindung dari cahaya. Selanjutnya, baris A-D tambahkan 75 µL natrium karbonat, goyang dengan pelan selama 1 menit. Setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar, dilakukan pembacaan pada panjang gelombang yang diperoleh.

Perhitungan kadar fenolik total menggunakan rumus berikut:

$$TPC\ (Total\ Phenolic\ Content) = \frac{c\ x\ v}{g}$$

Keterangan: TPC = *Total Phenolic Content* (mg GAE/g)
c = konsentrasi fenolik (mg/L)
v = volume ekstrak yang digunakan (mL)
g = berat sampel yang digunakan (g)

G. Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Hasil data kualitatif berupa skrining fitokimia dan hasil data kuantitatif diperoleh dari nilai kadar fenolik total ekstrak kunyit hitam dalam satuan mg GAE/g. Perhitungan kadar fenolik total dilakukan menggunakan kurva standar

asam galat yang diperoleh dari persamaan regresi linier $y = bx + a$ antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar.

Data kuantitatif terlebih dahulu diuji normalitas dan uji homogenitas menggunakan software Minitab versi 22.0. Data dikatakan terdistribusi normal dan homogen jika nilai signifikan P-Value > 0,05. Jika data memenuhi syarat normal dan homogen, maka data dianalisis menggunakan *One Way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara tiga jenis pelarut tersebut.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kunyit hitam yang diperoleh dari daerah Loa Bakung, Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodeversitas Hutan Tropis, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda Kalimantan Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tumbuhan merupakan spesies *Curcuma caesia* Roxb. Dengan nama Indonesia Kunyit Hitam. Hasil determinasi lengkap dapat dilihat pada lampiran 2.

B. Pembuatan Simplisia

Rimpang kunyit hitam yang digunakan dalam penelitian diperoleh dalam bentuk rimpang segar kemudian disortasi basah. Proses sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran tersebut dapat berupa tanah, kerikil, rumput atau gulma, bagian rimpang yang rusak atau busuk, serta bahan asing lain yang masih menempel pada rimpang kunyit hitam. Proses ini dilakukan untuk menjaga kemurnian bahan, mengurangi kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses selanjutnya dan menurunkan cemaran mikroba (Pangondian *et al.*, 2023). Setelah proses sortasi basah, dilakukan pencucian untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang melekat pada bahan simplisia. Pembersihan menggunakan aliran air bertujuan agar kotoran terlepas dan tidak melekat kembali (Azri *et al.*, 2024). Tahap selanjutnya dilakukan perajangan, rimpang kunyit hitam dipotong tipis ± 3 mm.

Proses perajangan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan simplisia, karena semakin luas permukaan bahan maka penguapan air akan berlangsung lebih cepat (Azri *et al.*, 2024). Rimpang kunyit hitam dirajang tidak terlalu tipis, dengan ketebalan ± 3 mm untuk menjaga kandungan senyawa aktif agar tidak mudah rusak selama proses pengeringan (Rakhmawatie *et al*., 2023). Tahap pengeringan dilakukan menggunakan oven dibawah suhu 60˚C hingga simplisia kering, yang ditandai dengan tekstur rimpang yang keras dan mudah dipatahkan (Rosiana *et al*., 2022). Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, menghentikan reaksi enzimatis, dan mencegah pertumbuhan kapang dan jamur (Riyani *et al*., 2022). Setelah kering, kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotoran lain yang masih tertinggal saat pengeringan simplisia (Arsyad *et al*., 2023). Kemudian sampel ditimbang dan dicatat berat keringnya. Rimpang yang telah kering dihaluskan menjadi serbuk simplisia. Menurut Riyanti *et al*., (2026) proses penyerbukan simplisia bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi karena ukuran partikel memengaruhi kemampuan senyawa untuk larut. Semakin kecil ukuran partikel, luas permukaan kontak akan semakin besar sehingga senyawa aktif lebih mudah terekstraksi. Serbuk simplisia selanjutnya diayak menggunakan mesh 40 untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam (Ramarao *et al.*, 2024). Serbuk yang terlalu halus dapat menyebabkan penggumpalan selama proses ekstraksi, sedangkan serbuk dengan ukuran terlalu kasar dapat menghambat pelarutan senyawa yang diinginkan. Oleh karena itu, pengaturan ukuran serbuk perlu diperhatikan agar diperoleh hasil ekstraksi yang optimal (Maulidah *et al.*, 2022). Setelah itu ditimbang kembali berat serbuk yang diperoleh dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu kamar (15-30˚C), sesuai rekomendasi Departemen Kesehatan RI (1985).

C. Penetapan Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui presentase dari penguapan air dan senyawa yang menghilang selama proses pemanasan pada suhu

105˚C selama 60 menit atau hingga diperoleh berat konstan (Wibowo *et al., 2024)*. Kemudian hasilnya dinyatakan dalam persen. Menurut Rahayuningsih *et al*., (2025), nilai susut pengeringan yang diperbolehkan tidak melebihi 10%, dengan selisih antara dua penimbangan terakhir tidak lebih dari 0,25%. Ketentuan ini sesuai dengan standar Depkes RI (2000) yang menetapkan batas maksimal kehilangan zat aktif selama pengeringan. Pada penelitian ini, penetapan susut pengeringan dilakukan menggunakan oven, dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 1. Persentase Susut Pengeringan Serbuk Simplisia Rimpang Kunyit Hitam

Pengujian ke-	Susut Pengeringan (%)
1	9,03
2	8,34
3	7,37
Rata-rata	8,25 ± 0,833926

D. Pembuatan Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif simplisia dengan menggunakan pelarut cair tertentu (Triyanti *et al.*, 2025). Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi sangat menentukan jenis senyawa fitokimia yang dapat terekstraksi, karena berkaitan dengan tingkat kepolaran masing-masing pelarut. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol, etanol 70% dan etanol 95%. Senyawa fenolik memiliki sifat polar, sehingga proses ekstraksinya lebih efektif menggunakan pelarut yang bersifat polar seperti metanol dan etanol (Saputri *et al*., 2025).

Serbuk simplisia rimpang kunyit hitam sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam masing-masing wadah kaca dan ditambahkan masing-masing pelarut metanol, etanol 70% dan etanol 95% sebanyak 1 liter. Metode maserasi dipilih karena dinilai paling sesuai untuk proses ekstraksi senyawa kimia dari tumbuhan yang bersifat tidak tahan terhadap panas (termolabil). Metode ini dilakukan tanpa pemanasan, sehingga dapat meminimalkan kerusakan komponen aktif, khususnya metabolit sekunder (Asworo dan Widwiastuti, 2023). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut pada suhu kamar selama waktu

tertentu, proses ini bekerja berdasarkan prinsip difusi, di mana pelarut akan menembus dinding sel tanaman, melarutkan senyawa aktif di dalamnya, dan membawa senyawa tersebut keluar hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara bahan dan pelarut (Arifin *et al.*, 2025).

Pengadukan pada saat melakukan proses maserasi dilakukan dengan maserator. Pengadukan bertujuan untuk menjamin bahwa semua permukaan serbuk dapat bersentuhan dengan cairan penyari sehingga zat aktifnya dapat terlarut dengan sempurna (Apriliana *et al*., 2019). Pengadukan dilakukan selama 3 jam kemudian larutan ekstrak didiamkan selama 21 jam (Rismayuti *et al*., 2024). Maserat disaring dengan kertas saring dan corong kaca, kemudian ampas diremaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak setengah dari volume pelarut awal yaitu 500 mL sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia (FHI). Seluruh maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan jumlah total pelarut yang digunakan adalah 1,5 liter.

Maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu < 50˚C hingga tidak ada lagi pelarut yang menetes ke labu penampung. Menurut Siska *et al*. (2024), prinsip kerja *rotary evaporator* adalah memisahkan ekstrak dari pelarut (metanol dan etanol) dengan cara menguapkan pelarut pada suhu yang lebih rendah dari titik didih normalnya dengan memanfaatkan tekanan rendah dan rotasi, memungkinkan penguapan pada suhu lebih rendah sehingga senyawa aktif tidak rusak oleh panas (Siska *et al.*, 2024). Selanjutnya, ekstrak diuapkan kembali dengan waterbath pada suhu 50˚C hingga diperoleh ekstrak kental, yaitu sekitar 6 hari untuk pelarut metanol, 5 hari untuk pelarut etanol 70% dan 95%. Ekstrak kental rimpang kunyit hitam yang diperoleh kemudian diuji secara organoleptik, meliputi bentuk, warna, dan bau. Hasil pengamatan organoleptik tercantum pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Organoleptik

Pemeriksaan	**Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam**		
	Metanol	**Etanol 70%**	**Etanol 95%**

Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Ungu kehitaman	Ungu kehitaman	Ungu kehitaman
Bau	Khas	Khas	Khas

Pada pemeriksaan organoleptik diperoleh hasil ekstrak yang berbentuk kental, berwarna ungu kehitaman dan berbau khas. Menurut Mangalu *et al.*, (2022) penentuan parameter organoleptik ekstrak ini bertujuan untuk memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana yang dilakukan dengan menggunakan panca indera. Ekstrak kental kemudian dihitung nilai rendemennya. Hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Rendemen Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

Sampel	**Berat ekstrak (g)**	**Rendemen (%)**
Metanol	12,01	12,01
Etanol 70%	16,6	16,60
Etanol 95%	8,44	8,44

Penentuan rendemen ekstrak rimpang kunyit hitam bertujuan untuk mengetahui efektivitas proses ekstraksi dan pelarut ekstraksi dalam mencari senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Mardiatun dan Azzahra, 2022). Pada penelitian ini hasil rendemen yang didapatkan untuk ekstrak metanol rimpang kunyit hitam sebesar 12,01%, rendemen ekstrak etanol 70% sebesar 16,6%, ekstrak etanol 95% sebesar 8,44%. Menurut Selviana *et al.*, (2024) perbedaan rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, dimana semakin tinggi tingkat polaritas pelarut maka semakin tinggi pula rendemen ekstrak yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena pelarut dengan polaritas yang mirip dengan senyawa aktif dalam sampel akan lebih efektif dalam melarutkan dan mengekstrak senyawa tersebut, sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 9.

E. Penetapan Kadar Air

Kadar air merupakan parameter untuk menetapkan residu air setelah proses pengeringan. Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Penetapan kadar air dapat dilakukan dengan menggunakan metode titrasi, destilasi, dan gravimetri (Depkes RI, 2000). Penetapan kadar air pada penelitian ini dilakukan dengan metode gravimetri dengan cara pemanasan menggunakan oven. Hasil pengujian kadar air ekstrak rimpang kunyit hitam disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Air

Pengujian Ke-	**Kadar Air Ekstrak Metanol (%)**	**Kadar Air Ekstrak Etanol 70 (%)**	**Kadar Air Ekstrak Etanol 95 (%)**
1	3,08	11,17	9,35
2	3,03	10,74	9,83
Rata-rata	3,06 ± 0,035355	10,96 ± 0,304056	9,59± 0,339411

Menurut Bakri *et al*., (2023), ekstrak cair memiliki kadar air lebih dari 30%, ekstrak kental memiliki kadar air 5-30% dan ekstrak kering dengan kadar air kurang dari 5%. Penentuan kadar air berkaitan dengan kemurnian suatu ekstrak karena semakin besar persentase kandungan air dalam suatu bahan maka semakin mudah suatu ekstrak mengalami kerusakan dan pembusukan yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroba. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa aktif dalam ekstrak akibat dari adanya aktivitas reaksi enzimatis (Sambode *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar air rimpang kunyit hitam masuk dalam kategori ekstrak kental karena memiliki kadar air antara 5-30%. Menurut Kemenkes RI (2017) suatu ekstrak yang baik seharusnya tidak lebih dari 10% agar stabil, tidak mudah terkontaminasi, dan dapat mencapai bobot konstan. Nilai perbedaan dari ketiga pengujian diperoleh rata-rata kadar air pada ekstrak metanol rimpang kunyit hitam sebesar 3,02%,

ekstrak etanol 70% sebesar 13,16%, dan ekstrak etanol 95% sebesar 9,61%. Hasil perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 13.

F. Skrining Fitokimia Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder pada suatu tanaman yang mempunyai aktivitas biologi. Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan reaksi warna dan pengendapan (Kiyato *et al.*, 2022). Kandungan metabolit sekunder yang diperiksa adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid/ triterpenoid. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

No.	Uji	Pereaksi	Teori	Hasil		
				Metanol	Etanol 70%	Etanol 95%
1.	Alkaloid	Meyer	Endapan putih/kuning	+	++	++
		Bouchardat	Endapan coklat/hitam	-	+	-
		Dragendorff	Endapan merah bata	+	+	+
2.	Fenolik	$FeCI_3$	Hijau kecoklatan	+	++	+
3.	Flavonoid	Serbuk Mg, HCI pekat, amil alkohol	Merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol	++	++	+
4.	Saponin	HCI 2N	Terbentuk buih/busa permanen	-	-	-
5.	Triterpenoid	n-heksan, anhidrat asetat, H_2SO_4 pekat	Triterpenoid akan ditandai warna ungu atau merah	+	-	++

Keterangan:

(+) = Mengandung senyawa kimia

(++) = Mengandung senyawa kimia (intensitas warna lebih pekat)

(-) = Tidak mengandung senyawa kimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak rimpang kunyit hitam dengan pelarut metanol, etanol 70% dan etanol 95% menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid. Hasil positif (+) ditandai dengan adanya perubahan warna dan terbentuknya endapan sedangkan hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan setelah penambahan pereaksi. Perubahan warna pada skrining fitokimia dapat dilihat pada lampiran 12.

Persiapan sampel merupakan tahap awal sebelum uji skrining. Sampel ditimbang 1 gram, kemudian dilarutkan dalam 25 ml air panas dan disaring. Pengujian alkaloid dilakukan dengan memasukkan masing-masing ekstrak yang telah dipreparasi ke dalam tabung reaksi. Uji alkaloid pada setiap sampel dilakukan menggunakan tiga pereaksi berbeda yaitu Mayer, Dragendorff dan Bouchardat, sesuai data pada Tabel 5. Hasil positif pada pengujian alkaloid dinyatakan apabila memenuhi syarat minimal, yaitu terbentuknya endapan pada sedikitnya dua dari tiga pereaksi yang digunakan (Rosidah *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak etanol 70% diperoleh tiga reaksi positif dari tiga pereaksi yang diuji, sedangkan ekstrak metanol dan etanol 95% masing-masing diperoleh dua pereaksi positif dari tiga pereaksi yang diuji. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% mengandung senyawa alkaloid. Hal ini sejalan dengan penelitian Hasan *et al.*, (2023) dan Kartini *et al*., (2024) yang juga menyatakan hasil positif pada uji alkaloid kunyit hitam.

Uji fenolik dilakukan dengan penambahan reagen $FeCl_3$ 1%. Menurut Alda *et al.*, (2025) pada uji fenol menunjukkan perubahan warna hijau kecoklatan yang menandakan adanya senyawa fenolik. Perubahan warna tersebut terjadi akibat reaksi antara $FeCl_3$ dengan gugus hidroksil pada cincin aromatik fenol yang terikat pada karbon tak jenuh, sehingga terbentuk kompleks berwarna hitam kebiruan melalui koordinasi ion Fe^{3+}. Skrining fitokimia senyawa fenolik pada ekstrak rimpang kunyit hitam memberikan hasil positif pada ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% dengan intensitas warna yang lebih pekat pada ekstrak etanol 70%,

maka dapat diasumsikan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan etanol 95%.

Pada uji senyawa flavonoid, filtrat ditambahkan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Tujuan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium. Serbuk Mg dan HCl bereaksi membentuk gelembung yang merupakan gas H_2 (Rismayuti *et al*., 2024). Uji flavonoid dinyatakan positif apabila pada saat pengujian terjadi perubahan warna hitam kemerahan, kuning atau jingga (Ningsih *et al.*, 2020). Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% memberikan hasil positif pada uji flavonoid. Hal ini sejalan dengan penelitian Pandey *et al.*, (2025) yang juga menyatakan hasil positif pada uji flavonoid kunyit hitam. Intensitas warna pada ekstrak etanol 70% lebih pekat dibandingkan ekstrak metanol dan etanol 95% hal ini dapat diasumsikan bahwa etanol 70% memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan etanol 95%.

Pada uji saponin, ketiga ekstrak menunjukkan hasil negatif saponin. Menurut Bawekes *et al*., (2023) sampel dinyatakan positif saponin apabila sampel menghasilkan buih yang stabil setinggi 1-10 cm dengan selang waktu kurang dari 10 menit.

Steroid/triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan dalam bahan alam. Menurut Ningsih *et al.*, (2020) warna biru sampai hijau menunjukkan hasil positif senyawa steroid, sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menunjukkan hasil positif senyawa triterpenoid. Hasil uji skrining fitokimia steroid/triterpenoid pada ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% memberikan perubahan warna merah, hal ini menandakan bahwa terdapat senyawa triterpenoid yang terkandung pada ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% rimpang kunyit hitam. Proses terbentuknya warna pada pengujian *Liebermen-Burchard* yaitu setelah air terserap oleh anhidrida asetat terjadi pengoksidasian asam oleh asam sulfat, kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas,

akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya warna merah (Rismayuti *et al*., 2024).

G. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam Menggunakan Metode Microplate reader

Microplate reader yaitu suatu spektrofotometer khusus yang disusun untuk membaca lempeng mikro (*microplate*) dengan kemudahan pengujian yang tidak menggunakan jumlah sampel yang banyak dalam waktu singkat (Wardaniati dan Taibah, 2019). Penetapan kadar fenolik pada ekstrak rimpang kunyit hitam adalah untuk mengetahui kadar fenolik total yang ada di dalam rimpang kunyit hitam pada ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95%.

Syarat suatu sampel dapat dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis adalah memiliki gugus kromofor, yaitu gugus yang mampu menyerap radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang dapat diukur menggunakan *microplate reader*. Pada sampel rimpang kunyit hitam mengandung senyawa fenolik yang secara alami mampu menyerap cahaya UV-Vis karena adanya gugus kromofor. Untuk mengetahui total fenolik senyawa ini direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan natrium karbonat hingga membentuk warna biru. Warna biru inilah yang diserap oleh spektrofotometer UV-Vis sehingga dihasilkan nilai berupa absorbansi (Supriningrum *et al*., 2020).

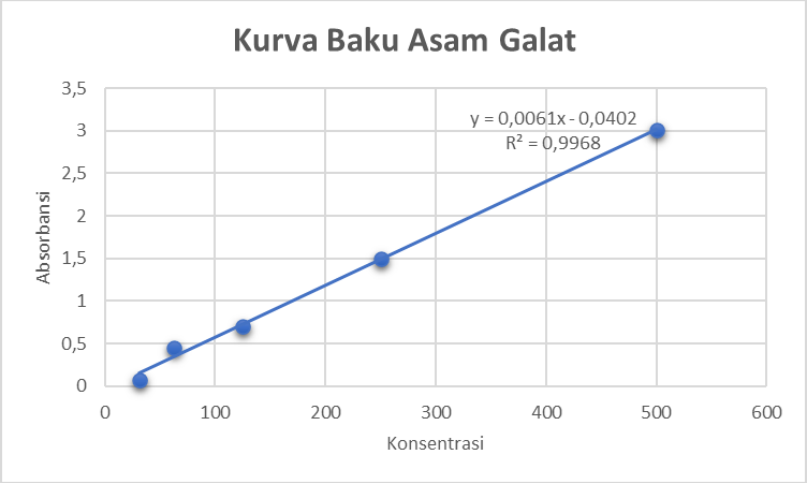
Penentuan kadar fenolik total dilakukan menggunakan metode microplate berbasis reagen *Folin-Ciocalteu* yang diadaptasi dari Hikmawanti *et al.* (2023). Pada tahap awal untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dilakukan pengukuran dengan larutan asam galat sebagai larutan pembanding penetapan kadar sampel. Dibuat larutan asam galat dengan konsenterasi 1.000 ppm, dengan seri pembanding yaitu 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dan 31,25 ppm serta larutan blanko. Masing-masing larutan seri dipipet sebanyak 25 µL ke dalam *microplate 96-sumuran,* kemudian direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan natrium karbonat sehingga terbentuk warna biru yang menandakan adanya senyawa

fenolik. Dalam penentuan panjang gelombang serapan maksimum, digunakan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 125 ppm. Intensitas warna yang dihasilkan kemudian diukur pada rentang panjang gelombang 600–850 nm menggunakan *microplate reader* untuk menentukan panjang gelombang serapan maksimum. Alasan pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum karena memberikan sensitivitas dan akurasi yang lebih baik. Pada panjang gelombang tersebut, perubahan konsentrasi akan menghasilkan perubahan absorbansi yang lebih jelas. Selain itu, di sekitar panjang gelombang maksimum, kurva absorbansi cenderung stabil sehingga hubungan antara absorbansi dan konsentrasi dapat mengikuti hukum Lambert-Beer dengan baik (Winahyu *et al*., 2019). Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dilakukan menggunakan *microplate reader* diperoleh panjang gelombang maksimum 745 nm dengan absorbansi maksimum 1,197. Sesuai dengan penelitian Pusparida *et al*., (2023) dan Nabila *et al*., (2025) yang menggunakan panjang gelombang maksimum 745 nm untuk asam galat. Selanjutnya panjang gelombang maksimum tersebut digunakan pada analisis ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95% dari rimpang kunyit hitam.

Analisis larutan standar asam galat dilakukan untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang digunakan untuk menghitung kandungan total fenolik. Berdasarkan hasil analisis menggunakan *microplate reader*, diperoleh data persamaan regresi linier asam galat yaitu y = 0,0061x – 0,0402 dengan koefisien korelasi (r) = 0,9968. Hubungan antara konsentrasi asam galat dan absorbansi ditunjukkan oleh nilai r yang mendekati 1. Nilai absorbansi dapat dilihat pada tabel 6. Dan pengukuran kurva baku standar dapat dilihat pada gambar 4.

Tabel 6. Nilai Absorbansi Larutan Standar Seri Asam Galat

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1.	31,25	0,072
2.	62,5	0,445
3.	125	0,701
4.	250	1,491
5.	500	3,014



Gambar 4. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Seri Asam Galat

Kemudian dilakukan penetapan kadar fenolik total dari ke tiga sampel, dilakukan sebanyak 3 kali replikasi untuk memastikan data lebih akurat. Nilai absorbansi dari ke tiga sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis linear pada kurva baku asam galat untuk menghitung kadar fenolik total menggunakan rumus *Total Phenolic Content* (TPC). Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak rimpang kunyit hitam dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 7. Kadar Fenolik Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

Sampel dengan variasi pelarut	Kadar fenolik (mg GAE/g)	Kadar rata-rata fenolik (mg GAE/g)
Metanol	53,4426	53,9945 ± 0,4897
	54,1639	
	54,3770	
Etanol 70%	84,9836	85,8743 ± 0,8622
	85,9344	
	86,7049	
Etanol 95%	49,0491	49,9234 ± 0,9029
	49,8688	
	50,8524	

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh hasil kadar rata-rata fenolik total ekstrak rimpang kunyit hitam dengan pelarut etanol 70% memiliki kadar paling tinggi yaitu 85,8743 ± 0,8622 mg GAE/g diikuti oleh ekstrak metanol sebesar 53,9945 ± 0,4897 mg GAE/g dan terendah pada ekstrak etanol 95% sebesar 49,9234

± 0,9029 mg GAE/g. Hasil ini menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh terhadap jumlah senyawa fenolik yang terekstraksi.

Hasil dari penelitian ini kadar fenolik total pada ekstrak etanol 70% lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan etanol 95%. Tingginya kadar fenolik pada ekstrak etanol 70% dapat dijelaskan berdasarkan konstanta dielektrik pelarut. Konstanta dielektrik dapat menentukan kepolaran suatu pelarut. Pelarut yang mempunyai konstanta dielektrik yang lebih besar akan lebih melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut yang mempunyai konstanta dielektrik yang lebih kecil akan melarutkan senyawa yang bersifat non polar (Evayana dan Aminah, 2022). Etanol 70% memiliki nilai konstanta dielektrik sekitar 41 (Listiawati *et al.*, 2022) yang lebih tinggi dibandingkan etanol 95% sekitar 25,3 (Faadhilah, 2019) sementara itu, metanol memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 33,62 (Larasati dan Mahbub, 2025) yang menunjukkan sifat polar, namun dalam penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan dengan etanol 70%.

Kepolaran etanol 70% yang lebih tinggi disebabkan oleh adanya kandungan air, sehingga meningkatkan kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa fenolik serta membantu penetrasi ke dalam matriks sel. Penurunan konsentrasi etanol akan meningkatkan polaritas pelarut akibat pengenceran dengan air, di mana etanol memiliki indeks polaritas sebesar 5,2 sedangkan air sebesar 9,0 (Fauziyah *et al*., 2022). Sebaliknya, etanol 95% memiliki kandungan air yang lebih sedikit sehingga kepolarannya menurun dan kurang optimal dalam mengekstraksi senyawa fenolik.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Zulfisa *et al*., (2024) yaitu ekstrak etanol 70% sebesar 192 mg GAE/g. Namun, nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian ini yaitu sebesar 85,8743 mg GAE/g. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor, seperti perbedaan kondisi bahan baku, seperti lokasi tumbuh, tingkat kematangan rimpang, ukuran partikel, waktu ekstraksi dan perbandingan pelarut dengan sampel.

Selain itu, hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan penelitian oleh Rohmani *et al*., (2024) yaitu ekstrak etanol 96% menghasilkan kadar fenolik total

sebesar 61,823 mg GAE/g. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian ini pada ekstrak etanol 95% yaitu sebesar 49,9234 mg GAE/g. Meskipun konsentrasi pelarut yang digunakan relatif serupa, perbedaan hasil ini kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi bahan dan proses ekstraksi yang berbeda. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pelarut dengan tingkat kepolaran yang lebih tinggi mampu mengekstraksi senyawa fenolik dalam jumlah lebih besar pada ekstrak rimpang kunyit hitam dibandingkan pelarut dengan kepolaran yang lebih rendah.

Hasil analisis statistik kadar fenolik total ketiga sampel diawali dengan uji normalitas menggunakan metode *Anderson-Darling* diperoleh nilai p-value dari ketiga data > 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan uji homogenitas menggunakan metode *Test for Equal Variances* diperoleh nilai p-value > 0,05 sehingga varians data antar kelompok bersifat homogen. Analisis data selanjutnya dilakukan uji *One Way Analysis of Variance* untuk uji signifikasi. Berdasarkan hasil uji *One Way Analysis of Variances*, diperoleh nilai signifikasi (p-value = 0,000 < 0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga perlakuan ekstrak metanol, etanol 70% dan etanol 95%.

BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar fenolik tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 70% dengan nilai rata-rata sebesar 85,8743 ± 0,8622 mg GAE/g, kemudian diikuti dengan ekstrak metanol sebesar 53,9945 ± 0,4897 mg GAE/g, dan ekstrak etanol 95% sebesar 49,9234 ± 0,9029 mg GAE/g.

B. Saran

1. Disarankan untuk peneliti selanjutnya dilakukan variasi metode ekstraksi, seperti sokletasi atau perkolasi, untuk membandingkan efektivitas dalam mengekstraksi senyawa fenolik dari rimpang kunyit hitam.
2. Peneliti selanjutnya disarankan untuk menguji aktivitas biologis seperti antioksidan dan antidiabetikum untuk mengetahui potensi farmakologis ekstrak rimpang kunyit hitam.
3. Disarankan untuk peneliti selanjutnya dilakukan fraksinasi ekstrak untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga dapat diketahui fraksi mana yang memiliki kandungan fenolik tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Alda, N., Astuti, K.N., Jumrah, E., dan Abubakar, A. N. F. (2025) 'Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Lotion Ekstrak Daun Lahuna (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12 (1), pp. 31-39.

Ali Rakhman Hakim, R.S. (2020) 'Narrative Review : Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik', *Surya Medika*, 6 (1), pp. 177–180.

Apriliana, A., Handayani, F. dan Ariyanti, L. (2019) 'Perbandingan metode maserasi dan refluks terhadap rendemen ekstrak daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack)', *Jurnal Farmasi Galenika*, 6(1).

Arafat, S.F., Hernayanti and Wiraswati, S.. (2025) 'Uji Efektifitas Pelarut Metanol dan Etanol pada Proses Identifikasi Metabolit Sekunder Cairan Kantong *Nepenthes sp* .', *Bioeksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 7, pp. 211–215.

Arifin, J.F.N., Devitri, R. W., Septriani, R.T., Zahara, E.S., Maulidya, V., Maulidya, Y.E., Rahmawati, E.E., Sabila, Z., Humaidah, Z., Hisbiah, A., S.klau, I.C., dan Ningsih, A.W. (2025) 'Tinjauan Literatur : Efektivitas Maserasi sebagai Metode Ekstraksi Fitokimia', *Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, 3(6), pp. 228–242. Available at: https://doi.org/https://doi.org/10.61132/obat.v3i6.19

Arviani., Larasati, D., Ramadhani, M.A., Vifta, R.L., Pujasuti, A., Krisnawati, M., Khoiriyah, S., Suyudi, S.D., Irma, R., Chusniasih, D. dan Indrayati, L.L. (2023) *Farmakognosi Menelusuri Rahasia Obat dari Alam*. Yayasan Kita Menulis.

Asworo, R.Y. dan Widwiastuti, H. (2023) 'Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), pp. 256–263. Available at: https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906.

Badan Pengawasan Obat dan Makanan. (2023) *Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak / Fraksi*. Jakarta: BPOM RI.

Bakri, N.F., Appa, F.E. dan Nuryanti, S. (2023) *Buku Ajar Obat Tradisional*. Jakarta Barat: Nuansa Fajar Cemerlang.

Bawekes, S.M., Yudistira, A. dan Rumondor, E.M. (2023) 'Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)', *Pharmacon*, 12(3), pp. 373–377.

Dewantara, L.A.R., Ananto, A.D. dan Andayani, Y. (2021) 'Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible', *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu*

Kefarmasian, 2(1), p. 102. Available at: https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3759.

Evayana dan Aminah, S. (2022) 'Penentuan Kadar Total Flavonoid Kunyit Putih (*Curcuma zedoria* Rosc.) dengan Variasi Jenis Pelarut', *Media Eksakta*, 18(1), pp. 1–5. Available at: https://doi.org/https://doi.org/10.22487/me.v18i1.995

Evifania, R.D., Apridamayanti, P. dan Sari, R. (2020) 'Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani (*Melastoma malabathricum* L .)', *Jurnal Cerebellum*, 6(1), pp. 17–20.

Faadhilah, A. (2019) 'Optimasi Microwave Assisted Extraction Terhadap Senyawa Bioaktif Antioksidan Dari Sarang Semut Papua (*Myrmecodia Pendans*) Dengan Variasi Konsentrasi Etanol, Suhu Dan Lama Ekstraksi', *Skripsi,* Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

Fauziyah, N., Widyasanti, A. dan Sutresna, Y. (2022) 'Kajian Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Karakteristik Oleoresin Ampas Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) Limbah Penyulingan', *Teknotan*, 16(3), p. 169. Available at: https://doi.org/10.24198/jt.vol16n3.6.

Hasan, T., Ida, N. dan Qifni, Z.F. (2023) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) Asal Luwu Utara Dengan Metode Dpph', *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 5(3), pp. 439–457.

Hasan, T., Ikbal, M., Syamsinar., dan Hasri. (2023) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb*.) Dengan Metode Abts (2,2 azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)', *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 8(2), p. 34. Available at: https://doi.org/10.23960/aec.v8i2.2023.p34-43.

Hikmawanti, N.P.E., Yumita, A., Rafiq, M., dan Lusiana, L. (2023) 'Kadar Fenolik dan Flavonoid Fraksi Daun *Epiphyllum oxypetalum* (DC .) menggunakan Pengujian Berbasis *Microplate*', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 10(1), pp. 45-51

Jannah, M. Dewi, F. Santi, I. dan Tahri, M. (2024) 'Review Artikel : Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol', *Makassar Natural Product Journal*, 2(1), pp. 23–32.

Karim, A., Adnan, J. dan Irmawati (2022) 'Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis', *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 2(2), pp. 42–47.

Kartini, S., Yusnita, F. dan Serawaldi, N.P.A. (2024) 'Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Evaluasi of Ethanol Extract of *Curcuma caesia* Roxb by DPPH Method', *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 7(2), pp. 143–149. Available at: https://doi.org/10.36341/jops.v7i2.4739.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011) *Pedoman Umum Panen & Pascapanen Tanaman Obat*. Badan Litbang Kesehatan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

Kementerian Kesehatan RI., 2017, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II,* Kemenkes, Jakarta

Kiyato, P., Kamu, V.S., dan Runtuwene, M.R.J. (2022) 'Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Pelarut dari Ekstrak Metanol Batang Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)', *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 7(2), pp. 1–7.

Larasati, I. dan Mahbub, K. (2025) 'Pengaruh Pelarut terhadap Kadar Saponin Ekstrak Daun Teratai (*Nymphaea nouchali* Burm. F.) menggunakan Metode Gravimetri', *Jurnal Farmasi Ma Chung: Sains, Teknologi, dan Klinis Komunitas*, 3(1), pp. 6–13. Available at: https://doi.org/10.33479/jfmc.v3i1.46.

Lestari, S.D. Dali, H.N., Febriaty, I.R., Sjamsiah., Apriyanto.H., Kolo, M.M., Chadjiah, S., Supriadi, A., Diningsih, A., Thahir, M.T., dan Utami, N.T., (2025) *Pemisahan Kimia*. Lingkar Edukasi Indonesia, Palembang.

Listiawati, M.D.A., Nastiti, K. dan Audina, M. (2022) 'Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.)', *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(1), pp. 110–120. Available at: https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i1.234.

Luciana, L. Ratih, G.A.M., Mokodongan, R.S., Husein, S., Yusnita., Sayuti, N.A., Rindengan, E.R., Utami, S.M., Maramis, R.N.M., Nahor, E.M., dan Taringan, R.E., (2024) *Fitokimia dan Farmakognosi*. Jawa Tengah: PT Medika Pustaka Indo.

Mahardani, O.T. dan Yuanita, L. (2021) 'Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan', *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), pp. 64–78. Available at: https://doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p64-78.

Mangalu, M.A., Herny, E.I. dan Suoth, E.J. (2022) 'Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*)', *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), pp. 20–26.

Manullang, L.B., Razoki dan Bangar, R.I. (2026) 'Penentuan Kadar Total Fenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L .) dengan Metode DPPH', *Herbal Medicine Journal*, 9(1), pp. 34–43.

Mardiatun, S.K. dan Azzahra, F. (2022) 'Penetapan rendemen dan kandungan kimia ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L .) Merr .) berdasarkan perbedaan metode pengeringan', *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2).

Maslahah, N. (2024) 'Standar simplisia tanaman obat sebagai bahan sediaan herbal', *Warta BSIP Perkebunan,* 2(2), pp. 1–4.

Maulidia, N.R. (2020) 'Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol 96% Daun Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) Pada Sel hFOB 1.19 Dengan Metode *Microtetrazolium* (Mtt) *Assay*', *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Nabila, Z.A., Riyanta, A.B. dan Purgiyanti (2025) 'Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Dari Ekstrak Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.)', *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 6(4), pp. 17647–17657.

Nadhira, R. dan Cahyana, Y. (2023) 'Kajian Sifat Fungsional dan Amilografi Pati dengan Penambahan Senyawa Fenolik (Review)', *Jurnal Penelitian Pangan*, 3, pp. 14–19.

Ngginak, J., Apu, M.T. dan Sampe, R. (2021) 'Analisis Kandungan Saponin Pada Ekstrak Seratmatang Buah Lontar (*Borassus flabellifer* Linn)', *Bioedukasi*, 12 (2), pp. 222–228.

Ningsih, D.S., Henri., Roanisca, O., dan Mahardika, R.G. (2020) 'Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea Frutescens* L.)', *Biotropika Journal of Tropical Biology*, 8(3), pp. 178–185. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06.

Nofita, D., Sari, S.N. dan 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), pp. 36–41. Available at: : https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26600

Nola, F., Putri, G.K., Malik, L.H., dan Andriani, N. (2021) 'Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid Dan Terpenoid Dari 5 Tanaman', *Syntax Idea*, 3(7), pp. 1613-1619. Available at: https://doi.org/10.36418/syntax-idea.v3i7.1307

Nuraeni, S. Raihandhany, R., Suparman, U., Warsono., dan Winajat, U. (2023) 'Ulasan Botani dan Potensi Kunyit Hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) sebagai Program Pengelolaan Keanekaragaman Hayati dan Pembinaan Kelompok Tani Cianjur oleh PT. Tirta Investama Cianjur', *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 25(1), pp.1–10. Available at: https://doi.org/10.14710/bioma.25.1.1-10.

Pandey, S. et al. (2025) 'Medicinal Potential of *Curcuma caesia* Roxb .: Phytochemical Composition and TLC Profile of Hydroalcoholic Rhizome Extract', *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 15(6), pp. 41–47. Available at: http://jddtonline.info

Paudel, A., Khanal, N., Khanal, A., Rai, S., dan Adhikari, R. (2024) 'Pharmacological insights into Curcuma caesia Roxb., the black turmeric: a review of bioactive compounds and medicinal applications', *Discover Plants*, 1(1). Available at: https://doi.org/10.1007/s44372-024-00076-1.

Pratiwi, N. (2023) Pengaruh Kardioprotektif Ekstrak Etanol Kunyit Hitam (*Curcuma Caesia* Roxb) Pada Tikus Yang Diinduksi Doksorubisin, *Tesis*, Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin. Makassar.

Pusparida, N.A., Tutik, T. dan Amalia, P. (2023) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)', *Jurnal Medika Malahayati*, 7(2), pp. 614–626. Available at: https://doi.org/10.33024/jmm.v7i2.9935.

Putri, A.O., Hati, M.C., Ishanti, N.P., dan Ilham, H.S. (2024) 'Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Beberapa Jenis Tanaman dengan Kromatografi Lapis Tipis : Literature Review', *PHARMADEMICA: Jurnal Kefarmasian dan Gizi*, 3(2), pp. 45–54. Available at: https://doi.org/10.54445/pharmademica.v3i2.40

Rahayuningsih, D., Marlina, D. and Nopiyanti, V. (2025) 'Total Flavonoid Content Of Fractions And Extract Of Turmeric (*Curcuma longa* L.) LEAF', *Analis Farmasi*, 10(2), pp. 63–78.

Ramadhan, A.D., Hakim, A.R. dan Byna, A. (2023) 'Identifikasi Senyawa Terpenoid Dari Ekstrak Etanol Daun Karinat (*Rubusmoluccanus* L) Dengan Metode Kromatografi', *Jurnal Farmasi Syifa*, 1, pp. 17–19.

Ramarao, K.D.R., Razali, Z., Somasundram, C., Kunasekaran, W., dan Jin, T.L. (2024) 'Effects of Drying Methods on the Antioxidant Properties of *Piper betle* Leaves', *Molecules*, 29(8), pp. 1–14. Available at: https://doi.org/10.3390/molecules29081762.

Rismawati, R., Kurnia, D., Hafiz, E., dan Zein, M.I.H.L. (2025) 'Statistical Validation of The Microplate Reader for Antioxidant Activity Measurement using The DPPH Assay', *Chimica et Natura Acta*, 13(3), pp. 207–214. Available at: https://doi.org/10.24198/cna.v13.n3.61575

Rismayuti, B.A., Supriningrum, R. dan Supomo (2024) 'Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L .)', *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan*, 10(2), pp. 107–117. Available at: https://doi.org/DOI: https://doi.org/10.51352/jim.v10i2.796.

Rohmani, S., Astirin, O.P., Marliyana, S.D., dan Handayani, N. (2024) 'Phytochemical Screening for Phenol and Optimizing the SNEDDS (Self - Nanoemulsifying Drug Delivery System) Formula Using the Simplex Lattice Design Method on Curcuma caesia Roxb Rhizome Extract', *ICHSN*, 1(2), pp. 12–27.

Rosidah, U., Sugito, S., Yuliati, K., Abdiansyah, A., dan Anggraini, F., (2021) 'Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Minuman Fungsional Cascara dari Kulit Kopi dengan Fermentasi Terkendali', pp. 611–620.

Sambode, Y.C., Simbala, H.E.I. dan Rumondor, E.M. (2022) 'Penentuan Skrining Fitokimia , Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Umbi Bawang Hutan (*Eleutherine Americana* Merr)', *Pharmacon*, 11(2), pp. 1389–1394.

Saputri, A.D.S., Sa'ad, M. dan Rudiyanto, M.R.P. (2025) 'Pengaruh Variasi Pelarut Pada Ekstrak Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolius*) Sebagai Antioksidan', *Pharmacy Medical Journal*, 8(1).

Sari, E.N. (2021) Uji Antioksidan Dan Identifikasi Isolat Steroid Fraksi Petroleum Eter Dan Etil Asetat *Hydrilla Verticillata* Hasil Kromatografi Kolom Gradien Eluen, *Skripsi,* Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Setyaningum, F., Raharjo, D., Luthfiyanti, N., (2025) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Infudasi terhadap Kadar Flavonoid Total serta Aktivitas Antioksidan Daun Kunyit (Curcuma Longa L.)', *Jurnal Kesehatan Amanah*, 9(2), pp. 196–206. Available at: https://doi.org/10.57214/jka.v9i2.943.

Siska, A.I., Rachmani, E.P.N., Widyawati. P.S., Darmakusuma, D., Kamarudin, A.P., Astuti, S.D., Budaraga, K.I., Arafah, E., Julianti, E., Lumbessy, A.S., Febriati, N., Kunarto, B., dan Mutis, A. (2024) *Teknologi Pengolahan Pangan Herbal*. Sumatera Barat: CV Hei Publishing Indonesia.

Suhaila, R., Husna, Z., Manurung, R., dan Siregar, A.G.A. (2024) 'Ekstraksi senyawa tanin dalam ampas kopi sebagai sumber daya tanin terbarukan', *Journal of Agrosociology and Sustainability*, 1(2), pp. 89–99.

Supriningrum, R., Nurhasnawati, H. and Faisah, S. (2020) 'Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena Odorata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis', *Al Ulum Jurnal Sains Dan Teknologi*, 5(2), p. 54. Available at: https://doi.org/10.31602/ajst.v5i2.2802.

Triyanti, S.B., Lestari, F.P., Fitriana, P.A.N., Rostiana, H.R., Silalahi, D.D., Syalsabina, T.D., Putri, R.Y., dan Saputra, I.S. (2025) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi , Sonikasi , dan Sokletasi Terhadap Nilai Rendemen Sampel Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*)', 8(1), pp. 71–78.

Udayani N.N.W., Ratnasari N.L.A.M., dan Nida, I.D.A.A.Y. (2022) 'Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Alkaloid, Flavonoid dan Tanin) pada Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb*.)', *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6(1), pp. 2088–2093.

Udayani N.N.W., Ratnasari N.L.A.M., dan Nida, I.D.A.A.Y. (2022) 'Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Alkaloid, Flavonoid dan Tanin) pada Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb*.)', Jurnal Pendidikan Tambusai, 6(1), pp. 2088–2093.

Udayani, N. N. W., (2022) 'Pemanfaatan Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb*.) Sebagai Obat Tradisional', *Emasains*, 11 (1), pp. 54–62.

Utami, B. (2024) 'Potensi Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb* .) Sebagai Antidiabetikum', *Seminar Nasional Sains, Kesehatan, dan Pembelajaran 4*, pp. 834–837.

Veronika, C.C., Siregar, E.G.A., Tama, G.C., Manik, W.I., Izwani, P.K., Jahro, I.S., (2025) 'Analisis Kelarutan Senyawa Kovalen Polar dan Non Polar Menggunakan Air Beras , Minyak dan Kertas Litmus Sebagai Indikator', *Journal of Humanities Education Management Accounting and Transportation*, 2(1), pp. 12–22.

Wahyuningsih, S., Yunita, I., Sundari, U.Y., Pagalla, D.B., Kalalinggi, S.Y., Alpian., Nurmalasari, E., Suryandani, H., Ramlah., dan Nasrullah, M. (2024) *Ekstraksi Bahan Alam*. Sumatera Barat: CV. Gita Lentera Redaksi.

Wardani, Y.K., Kristiani, E.B.E., and Sucahyo. (2020) 'Correlation Between Antioxidant Activity and Phenolic Compound Content and Plant Growth Locations of Celosia argentea Linn', *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), pp. 2598–2370.

Wardaniati, I. and Taibah, S. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bee Pollen Lebah Trigona (*Trigona itama*)', *Journal Of Pharmacy and Science*, 3(1), pp. 21–28. Available at: https://doi.org/10.36341/jops.v3i1.1103.

Wibowo, F.B., Tutik and Amalia, P. (2024) 'Standarisasi Mutu Simplisia Kulit Bawang Merah (Allium cepa L)', Analisis Farmasi, 9(2), pp. 163–172.

Widodo, H. dan Subositi, D. (2021) 'Penanganan Dan Penerapan Teknologi Pascapanen Tanaman Obat', *Agrointek*, 15(1), pp. 253–271. Available at: https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i1.7661.

Winahyu D.A, Retnaningsih, A. and Aprillia, M. (2019) 'Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Raru (*Cotylelobiummelanoxylonp*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis', *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), pp. 29–36.

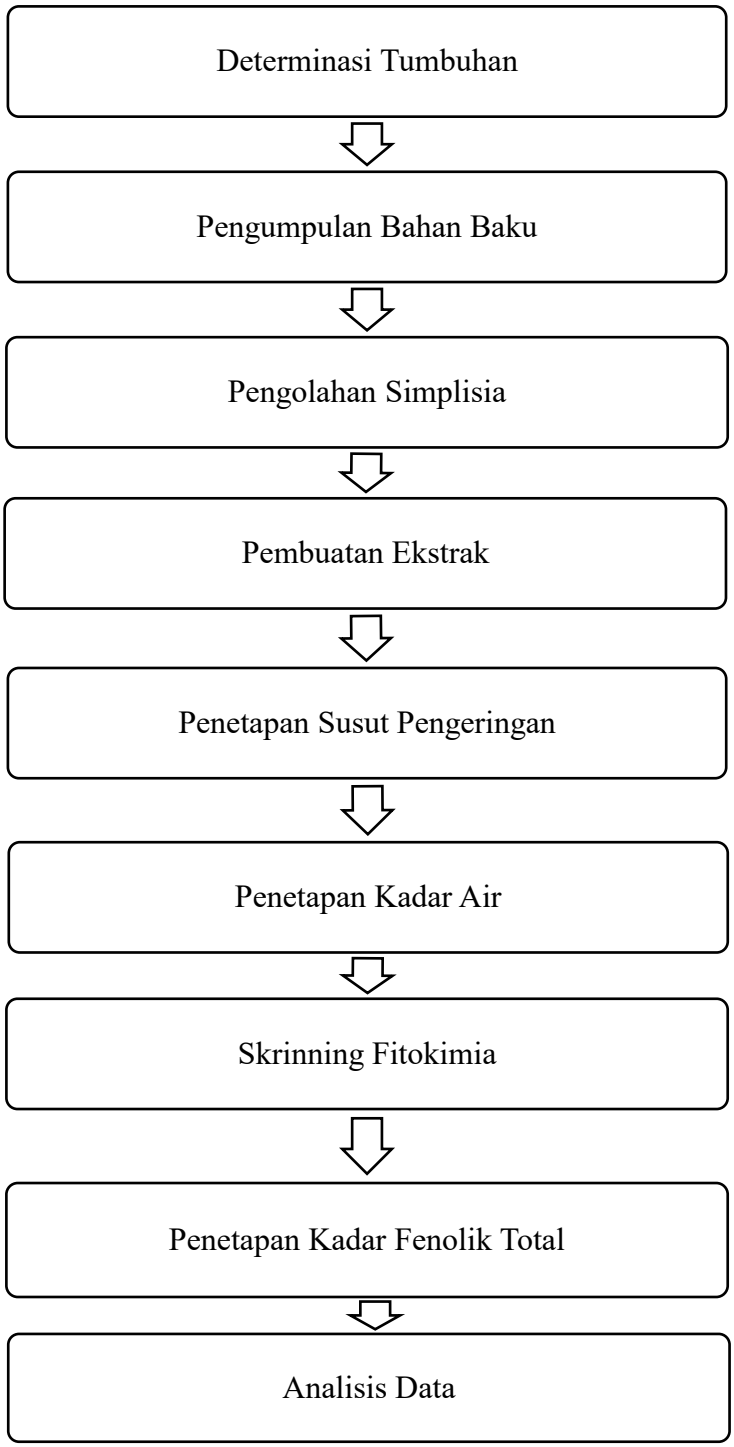
Yani, N.K.L.P., Nastiti, K. and Noval (2023) 'Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L .)', *jurnal surya medika*, 9 (1), pp. 34–44.

Yusnita, F. (2023) 'Skrinning Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kunyit Hitam (*Curcuma Caesia Roxb*) Dengan Metode Dpph (1 , 1 diphenyl-2-picrylhydrazyl)' *Skripsi*, Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrab, Pekan Baru.

Yusuf, M. and Amalia, P. (2022) 'Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L .)', *jurnal farmasi malahayati*, 5(2), pp. 133–143.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Hasil Determinasi Tumbuhan

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN TROPIS
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS
HERBARIUM MULAWARMAN (SHMU)
Alamat: Kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123
Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 21 Oktober 2025

Nomor : 315/UN17.4.08/LL/2025
Lampiran : -
Perihal : *Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan*

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Henny Nurhasnawati, S.Si., M.Si. (1103067801)
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda
di-
Tempat

Dengan Hormat,
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Phyllum	:	Streptophyta
Class	:	Equisetopsida
Order	:	Zingiberales
Family	:	Zingiberaceae
Species	:	*Curcuma caesia* Roxb.
Synonyms	:	*Curcuma kuchoor* Royle
Common name	:	Kunyit Hitam

Demikian surat hasil identifikasi/determinasi tumbuhan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya, semoga bermanfaat bagi saudara. Atas perhatiannya, kami ucapkan terima kasih.

Penanggung Jawab,

Tembusan:
Arsip

Dr. Ir. Rita Diana, M.A.
NIP 196403031989032002

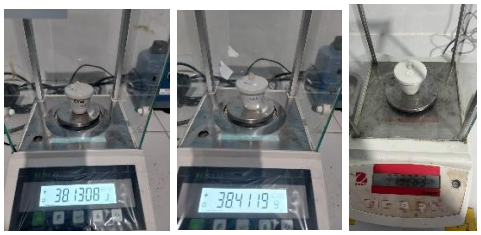
Lampiran 3. Tahapan Pembuatan Simplisia

 Proses pengumpulan bahan baku	 Proses sortasi basah dan pencucian
 Proses perajangan	 Proses pengeringan menggunakan oven
 Proses sortasi kering	 Proses penghalusan

(Lanjutan)

	
Proses pengayakan	Serbuk simplisia rimpang kunyit hitam

Lampiran 4. Tahapan Susut Pengeringan Serbuk Simplisia Rimpang Kunyit Hitam

 Pengovenan dilakukan selama 1 jam dengan suhu 105˚C	 Pendinginan pada desikator selama 15 menit
 Penimbangan krus kosong	 Penimbangan krus isi yang telah dioven (1)
 Penimbangan krus isi yang telah dioven (2)	

Lampiran 5. Perhitungan Susut Pengeringan Simplisia Rimpang Kunyit Hitam

Rumus Perhitungan Susut Pengeringan (%) = $\frac{b-(c-a)}{b}\ x\ 100\%$

Keterangan : a = berat krus kosong (g)

b = berat simplisia awal (g)

c = berat krus dan simplisia setelah di oven (g) (Depkes RI, 2000)

Oven	Berat krus + Sampel (g)		
	Krus 1	Krus 2	Krus 3
I	38,4119	38,1308	37,3262
II	38,4105	38,1292	37,3239
Selisih Penimbangan	0,0014	0,0016	0,0023

Perhitungan Susut Pengeringan

1. Krus 1

   Susut Pengeringan (%) = $\frac{1-(38,4105-37,5008)}{1}$ x 100%

   = 9,03 %

2. Krus 2

   Susut Pengeringan (%) = $\frac{1-(38,1292-37,2126)}{1}$ x 100%

   = 8,34 %

3. Krus 3

   Susut Pengeringan (%) = $\frac{1-(37,3239-36,3976)}{1}\ x\ 100\%$

   = 7,37 %

Rata-rata susut pengeringan

$=\frac{9,03+8,34+7,37}{3} = 8,2467$

Perhitungan Standar Deviasi

No.	x	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1.	9,03	0,783333333	0,613611
2.	8,34	0,093333333	0,008711
3.	7,37	-0,876666667	0,768544
Σ	**8,246667**		**1,390867**

(Lanjutan)

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1,390867}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{1,390867}{2}} = \sqrt{0,6954335}$

= 0,833926

Susut Pengeringan Sebesar 8,2467 ± 0,833926%

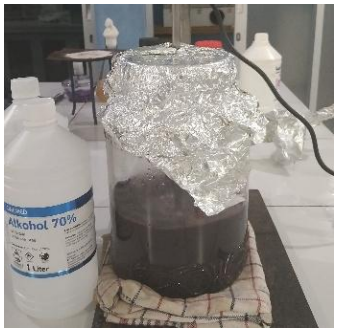
Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Hitam

 Penimbangan serbuk simplisia sebanyak 100 gram	 Proses ekstraksi dengan metode maserasi (pengadukan selama 3 jam dan inkubasi selama 21 jam)
 Filtrat disaring menggunakan kertas saring	 Proses remaserasi dengan prosedur yang sama
 Filtrat hasil remaserasi disaring menggunakan kertas saring	 Filtrat metanol kunyit hitam diuapkan menggunakan *rotary evaporator*

(Lanjutan)

	
Filtrat metanol kunyit hitam di *waterbath*	Ditimbang hasil ekstrak metanol

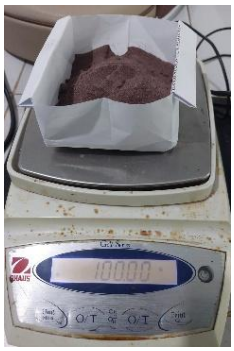
Lampiran 7. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Kunyit Hitam

 Penimbangan serbuk simplisia sebanyak 100 gram	 Proses ekstraksi dengan metode maserasi (pengadukan selama 3 jam dan inkubasi selama 21 jam)
 Filtrat disaring menggunakan kertas saring	 Proses remaserasi dengan prosedur yang sama
 Filtrat hasil remaserasi disaring menggunakan kertas saring	 Filtrat etanol 70% kunyit hitam diuapkan menggunakan *rotary evaporator*

(Lanjutan)

 Filtrat etanol 70% kunyit hitam di *waterbath*	 Ditimbang hasil ekstrak etanol 70%

Lampiran 8. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Rimpang Kunyit Hitam

 Penimbangan serbuk simplisia sebanyak 100 gram	 Proses ekstraksi dengan metode maserasi (pengadukan selama 3 jam dan inkubasi selama 21 jam)
 Filtrat disaring menggunakan kertas saring	 Proses remaserasi dengan prosedur yang sama
 Filtrat hasil remaserasi disaring menggunakan kertas saring	 Filtrat etanol 95% kunyit hitam diuapkan menggunakan *rotary evaporator*

(Lanjutan)

	
Filtrat etanol 95% kunyit hitam di *waterbath*	Ditimbang hasil ekstrak etanol 95%

Lampiran 9. Perhitungan Rendemen Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam

A. Rendemen Ekstrak Metanol

Berat ekstrak = 12,01 gram

Berat simplisia kering = 100 gram

% Rendemen ekstrak = $\frac{12{,}01\ gram}{100\ gram}$ x 100%

= 12,01 %

B. Rendemen Ekstrak Etanol 70%

Berat ekstrak = 16,6 gram

Berat simplisia kering = 100 gram

% Rendemen ekstrak = $\frac{16{,}6\ gram}{100\ gram}\ x\ 100\%$

= 16,60 %

C. Rendemen ekstrak etanol 95%

Berat ekstrak = 8,44 gram

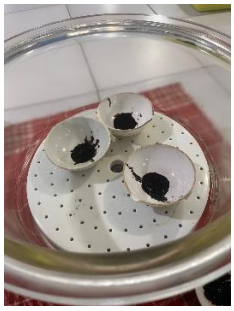
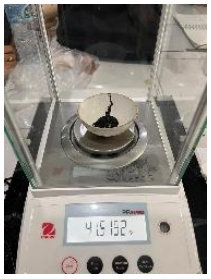
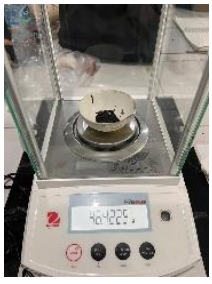
Berat simplisia kering = 100 gram

% Rendemen ekstrak = $\frac{gram}{gram}\ x\ 100\%$

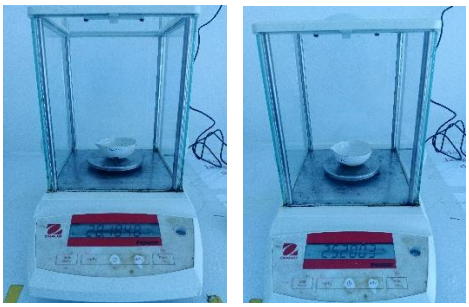
= $\frac{8{,}44\ gram}{100\ gram}$ x 100%

= 8,44 %

Lampiran 10. Tahapan Kadar Air Ekstrak Metanol

  Pengovenan dilakukan selama 1 jam dengan suhu 105˚C	 Pendinginan pada desikator selama 15 menit
  Penimbangan cawan kosong	  Penimbangan cawan isi yang telah dioven (1)
  Penimbangan cawan isi yang telah dioven (2)	

Lampiran 11. Tahapan Kadar Air Ekstrak Etanol 70%

<table>
<tr>
<td>
Pengovenan dilakukan selama 1 jam dengan suhu 105˚C</td>
<td>
Pendinginan pada desikator selama 15 menit</td>
</tr>
<tr>
<td>
Penimbangan cawan kosong</td>
<td>
Penimbangan cawan isi yang telah dioven (1)</td>
</tr>
<tr>
<td>
Penimbangan cawan isi yang telah dioven (2)</td>
<td></td>
</tr>
</table>

Lampiran 12. Tahapan Kadar Air Ekstrak Etanol 95%

<table>
<tr>
<td>
Pengovenan dilakukan selama 1 jam dengan suhu 105˚C</td>
<td>
Pendinginan pada desikator selama 15 menit</td>
</tr>
<tr>
<td> 
Penimbangan cawan kosong</td>
<td> 
Penimbangan cawan isi yang telah dioven (1)</td>
</tr>
<tr>
<td> 
Penimbangan cawan isi yang telah dioven (2)</td>
<td></td>
</tr>
</table>

Lampiran 13. Penimbangan Dan Perhitungan Kadar Air

Tabel Perhitungan Kadar Air Ekstrak Metanol, Etanol 70% Dan Etanol 95% Rimpang Kunyit Hitam

Sampel		**Cawan Kosong (g)**	**Dua Penimbangan Terakhir (g)**		**Selisih Dua Penimbangan Terakhir (g)**	**Kadar Air (%)**	**Rata-Rata (%)**
Ekstrak Metanol	I	40,5499	41,5192	41,5191	0,0001	3,08	3,06
	II	45,4532	46,4230	46,4229	0,0001	3,03	
Ekstrak Etanol 70%	I	28,1848	29,0750	29,0731	0,0019	11,17	10,96
	II	25,2003	26,0938	26,0929	0,0009	10,74	
Ekstrak Etanol 95%	I	41,7754	42,6829	42,6819	0,0010	9,35	9,59
	II	38,0020	38,9050	38,9037	0,0013	9,83	

Rumus Perhitungan Kadar Air : % Kadar Air = $= \frac{b-(c-a)}{b} \; x \; 100\%$

Keterangan : a = berat cawan kosong (g)
b = berat sampel awal (g)
c = berat cawan dan sampel (g)

A. Perhitungan Kadar Air Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Hitam

1. Cawan 1

Berat sampel awal : 1 gram

% Kadar Air $= \frac{1-(41,5191-40,5499)}{1} \; x \; 100\%$

$= \frac{1-0,9692}{1} \; x \; 100\%$

= 3,08%

2. Cawan 2

% Kadar Air $= \frac{1-(46,4229-45,4532)}{1} \; x \; 100\%$

$= \frac{1-0,9697}{1} \; x \; 100\%$

= 3,03%

Rata-rata kadar air

$= \frac{3,08+3,03}{2} = 3,055\%$

(Lanjutan)

Perhitungan Standar Deviasi

No.	x	x - $\bar{x}$	(x - $\bar{x}$)^2
1.	3,08	0,025	0,000625
2.	3,03	-0,025	0,000625
Σ	**3,055**		**0,00125**

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,00125}{2-1}}$

$= \sqrt{\frac{0,00125}{1}} = \sqrt{0,00125}$

= 0,035355

Kadar air ekstrak metanol sebesar 3,06 ± 0,035355 %

B. Perhitungan Kadar Air Ekstrak 70% Rimpang Kunyit Hitam

1. Cawan 1

Berat sampel awal : 1 gram

% Kadar Air $= \frac{1-(29,0731-28,1848)}{1}\ x\ 100\%$

$= \frac{1-0,8883}{1}\ x\ 100\%$

= 11,17 %

2. Cawan 2

% Kadar Air $= \frac{1-(26,0929-25,2003)}{1}\ x\ 100\%$

$= \frac{1-0,8926}{1}\ x\ 100\%$

= 10,74%

Rata-rata kadar air

$= \frac{11,17+10,74}{2} = 10,955\%$

Perhitungan Standar Deviasi

No.	x	x - $\bar{x}$	(x - $\bar{x}$)^2
1.	11,17	0,215	0,046225
2.	10,74	-0,215	0,046225
Σ	**10,955**		**0,09245**

(Lanjutan)

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,09245}{2-1}}$

$= \sqrt{\frac{0,09245}{1}} = \sqrt{0,09245}$

= 0,304056

Kadar air ekstrak etanol 70% sebesar 10,96 ± 0,304056 %

C. Perhitungan Kadar Air Ekstrak Etanol 95% Rimpang Kunyit Hitam

1. Cawan 1

Berat sampel awal : 1 gram

% Kadar Air $= \frac{1-(42,6819-41,7754)}{1}\ x\ 100\%$

$= \frac{1-0,9065}{1}\ x\ 100\%$

= 9,35%

2. Cawan 2

% Kadar Air $= \frac{1-(38,9037-38,0020)}{1}\ x\ 100\%$

$= \frac{1-0,9017}{1}\ x\ 100\%$

= 9,83%

Rata-rata kadar air

$= \frac{9,35+9,83}{2} = 9,59\%$

Perhitungan Standar Deviasi

No.	x	x - $\bar{x}$	(x - $\bar{x}$)^2
1.	9,35	-0,24	0,0576
2.	9,87	0,24	0,0576
Σ	**9,59**		**0,1152**

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,1152}{2-1}}$

$= \sqrt{\frac{0,1152}{1}} = \sqrt{0,1152}$

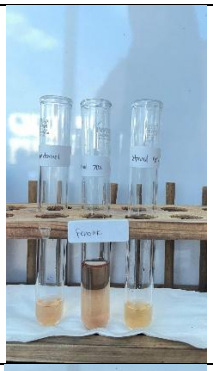
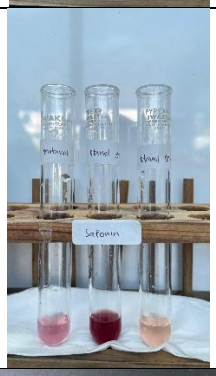
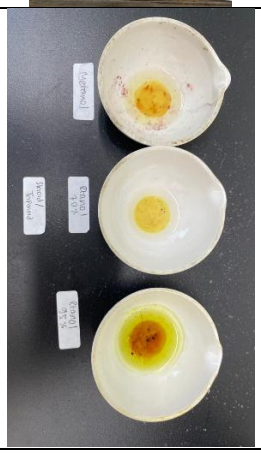
= 0,339411

Kadar air ekstrak etanol 95% sebesar 9,59 ± 0,339411%

Lampiran 14. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Kunyit Hitam

Metabolit sekunder	Pereaksi	Teori	Gambar	Hasil		
				M	70 %	95 %
Alkaloid	Mayer	Endapan putih atau kuning		+	++	++
	Bouchardat	Endapan coklat sampai hitam		-	+	-
	Dragendrof	Endapan jingga sampai merah coklat		+	+	+
Flavonoid	Serbuk Mg, HCI pekat, amil alkohol	Merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol		++	++	+

(Lanjutan)

Fenolik	Besi (III) klorida	Hijau Kecoklatan		+	++	+
Saponin	HCI 2N	Terbentuk buih/busa permanen		-	-	-
Triterpenoid	n-heksan, anhidrat asetat, H_2SO_4 pekat	Triterpenoid akan ditandai warna ungu atau merah		+	-	++

Keterangan:
M = Pelarut Metanol
70% = Pelarut Etanol 70%
95% = Pelarut Etanol 95%
(+) = Mengandung senyawa kimia
(++) = Mengandung senyawa kimia (intensitas warna lebih pekat)
(-) = Tidak mengandung senyawa kimia

Lampiran 15. Perhitungan Konsentrasi Larutan Induk Asam Galat

Perhitungan larutan stok baku pembanding asam galat

Jumlah asam galat : 25 mg

Volume labu ukur : 25 mL

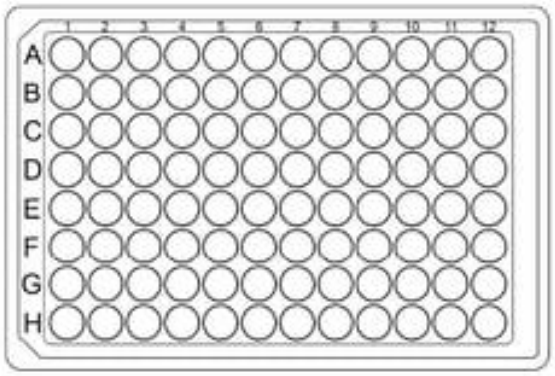
Konsentrasi larutan stok :

Ppm = mg/L

$= \frac{25\ mg}{0{,}025\ L}$

= 1.000 ppm

Lampiran 16. Tata Letak Larutan Seri Pada *Microplate 96-Sumuran*



Urutan Penambahan Bahan :

A1-3 (Blanko) : Etanol 70%, FC, Na_2CO_3

B1-3 (λ maks) : Asam galat 31,25 ppm, FC, Na_2CO_3

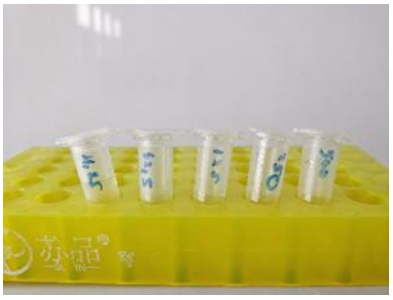
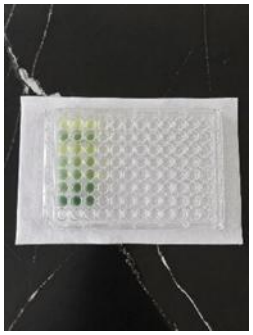
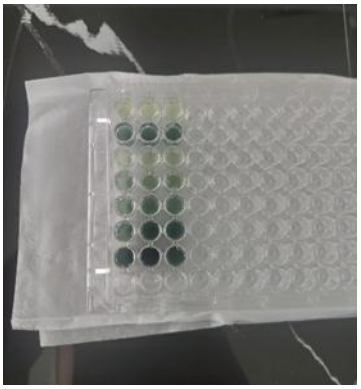
C1-3 : Asam galat 62,5 ppm, FC, Na_2CO_3

D1-3 : Asam galat 125 ppm, FC, Na_2CO_3

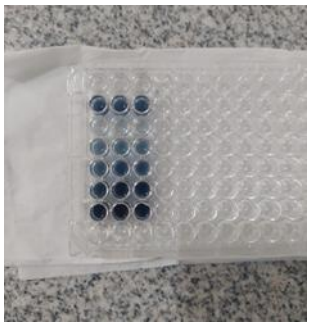
E1-3 : Asam galat 250 ppm, FC, Na_2CO_3

F1-3 : Asam galat 500 ppm, FC, Na_2CO_3

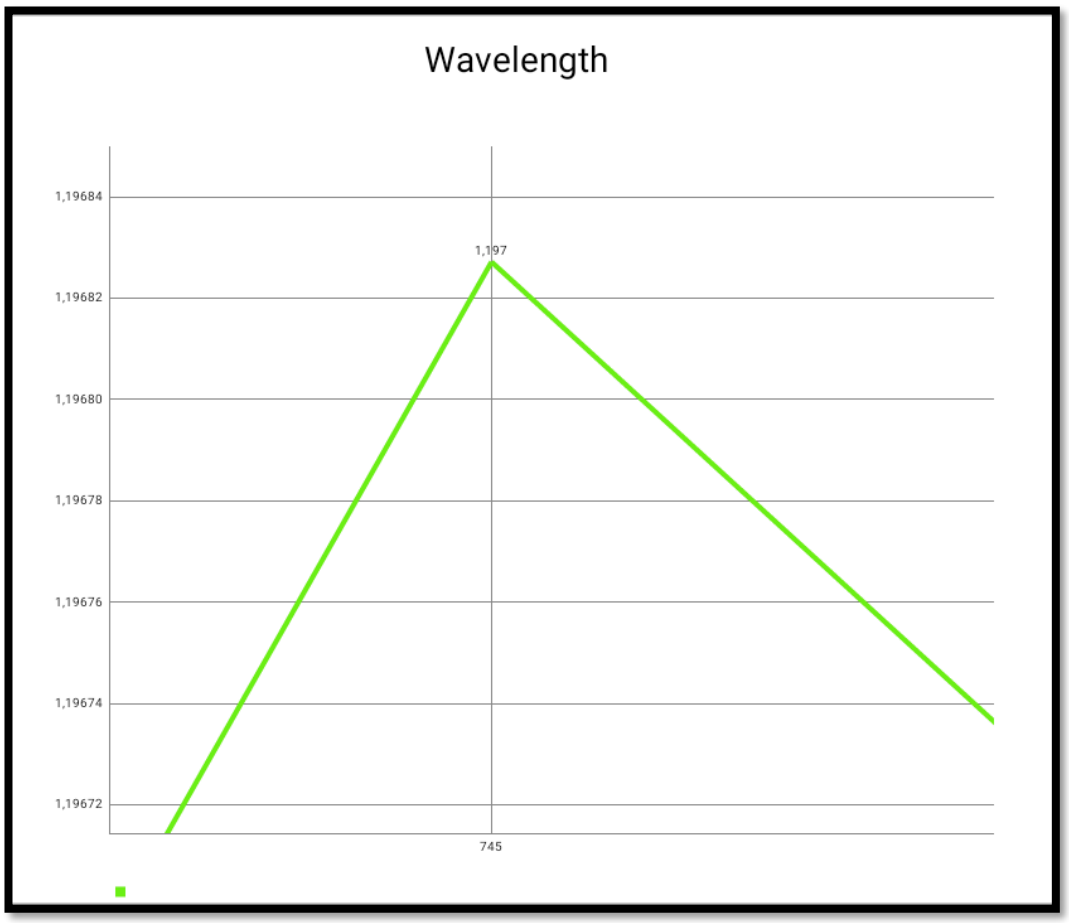
Lampiran 17. Pembuatan larutan induk, seri konsentrasi asam galat dan larutan reagen lainnya

 Pembuatan larutan induk asam galat	 Pembuatan larutan seri asam galat 500; 250; 125; 62,5; 31,25 ppm
 Pembuatan larutan Natrium Karbonat (100 g/L)	 Pembuatan larutan *Folin-Ciocalteu* 1:4
 Larutan asam galat setelah di inkubasi selama 4 menit	 Larutan asam galat setelah ditambahkan natrium karbonat

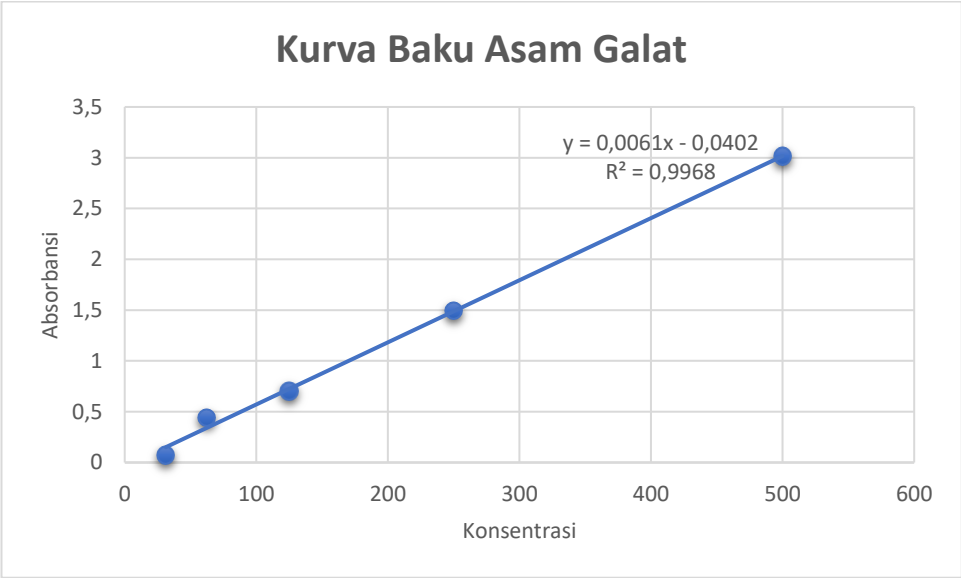
(Lanjutan)

 Larutan asam galat setelah di inkubasi selama 2 jam	 Pengukuran lamda max pada *Microplate Reader*
 Pengukuran Kurva Standar Asam Galat	

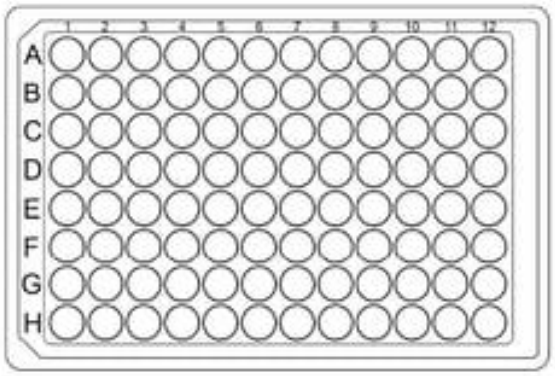
Lampiran 18. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat



Lampiran 19. Kurva Baku Standar Pembanding Asam Galat



Lampiran 20. Tata Letak Larutan Sampel Pada *Microplate 96-Sumuran*



Urutan penambahan bahan :

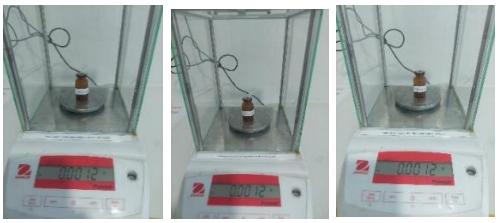
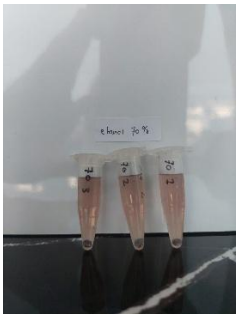
A1-9 (Blanko) : Etanol 70%, FC, Na_2CO_3

B1-9 : Ekstrak metanol rimpang kunyit hitam, FC, Na_2CO_3

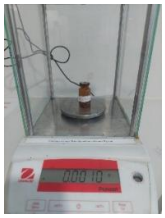
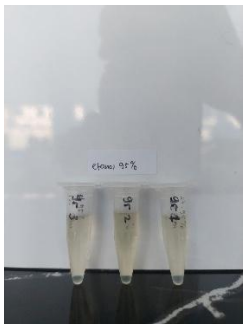
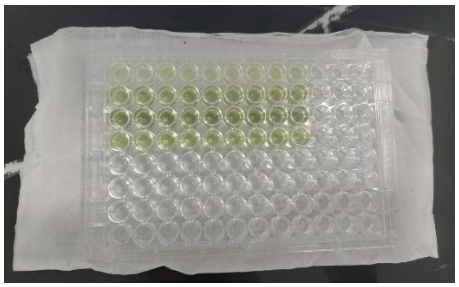
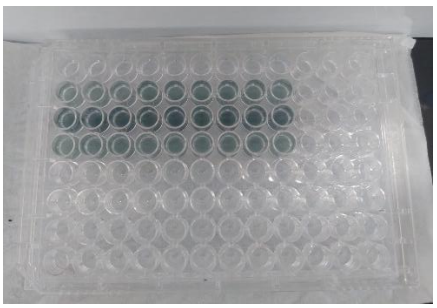
C1-9 : Ekstrak etanol 70% rimpang kunyit hitam, FC, Na_2CO_3

D1-9 : Ekstrak etanol 95% rimpang kunyit hitam, FC, Na_2CO_3

Lampiran 21. Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak Kunyit Hitam Dan Replikasinya

 Replikasi 1 Replikasi 2 Replikasi 3 Ekstrak metanol kunyit hitam ditimbang sebanyak 1 mg	 Ekstrak metanol dilarutkan dengan dimetil sulfoksida sebanyak 1.000 µL. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 1.000 ppm
 Dibuat larutan uji sampel ekstrak metanol sebanyak 3 replikasi	 Replikasi 1 Replikasi 2 Replikasi 3 Ekstrak etanol 70% kunyit hitam ditimbang sebanyak 1,2 mg
 Ekstrak etanol 70% dilarutkan dengan dimetil sulfoksida sebanyak 1.200 µL. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 1.000 ppm	 Dibuat larutan uji sampel ekstrak etanol 70% sebanyak 3 replikasi

(Lanjutan)

   Replikasi 1 Replikasi 2 Replikasi 3 Ekstrak etanol 95% kunyit hitam ditimbang sebanyak 1 mg	 Ekstrak etanol 95% dilarutkan dengan dimetil sulfoksida sebanyak 1.000 µL. Didapatkan larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 1.000 ppm
 Dibuat larutan uji sampel ekstrak etanol 95% sebanyak 3 replikasi	 Larutan sampel ekstrak kunyit hitam sebelum di inkubasi
 Larutan sampel ekstrak kunyit hitam setelah di inkubasi selama 2 jam	 Pengukuran Sampel pada *Microplate Reader*

Lampiran 22. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Kunyit Hitam

Persamaan regresi linier:

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,2858 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,2858 + 0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,326}{0,0061}$

= 55,4426 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,2902 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,2902 + 0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,3304}{0,0061}$

= 54,1639 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,2915 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,2915 + 0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,3317}{0,0061}$

= 54,3770 ppm

Lampiran 23. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Metanol Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Metanol Kunyit Hitam

Kadar Fenolik Total (mg GAE/g) = $\frac{c\ x\ v}{g}$

a. Replikasi I

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{53{,}4426\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 53,4426 mg GAE/g

b. Replikasi II

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{54{,}1639\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 54,1639 mg GAE/g

c. Replikasi III

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{54{,}3770\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 54,3770 mg GAE/g

Rata – rata kadar fenolik

$= \frac{53{,}4426+54{,}1639+54{,}3770}{3}$

= **53,9945 mg GAE/g**

No.	x	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
3.	53,4426	-0,5519	0,304594
4.	54,1639	0,1694	0,028696
5.	54,3770	0,3825	0,146306
Σ	**53,9945**	-	**0,479596**

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0{,}479596}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{0{,}479596}{2}} = \sqrt{0{,}239798}$

= 0,489692

Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kunyit Hitam

= **53,9945 ± 0,4897 mg GAE/g ekstrak**

Lampiran 24. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Kunyit Hitam

Persamaan regresi linier:

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,4782 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,4782+0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,5184}{0,0061}$

= 84,9836 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,484 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,484+ 0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,5242}{0,0061}$

= 85,9344 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,4887 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,4887+0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,5289}{0,0061}$

= 86,7049 ppm

Lampiran 25. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 70% Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Etanol 70% Kunyit Hitam

Kadar Fenolik Total (mg GAE/g) = $\frac{c\ x\ v}{g}$

d. Replikasi I

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{84{,}9836\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 84,9836 mg GAE/g

e. Replikasi II

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{85{,}9344\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 85,9344 mg GAE/g

f. Replikasi III

Kadar fenolik total (mg GAE/g) $= \frac{86{,}7049\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 86,7049 mg GAE/g

Rata – rata kadar fenolik

$= \frac{84{,}9836\ +85{,}9344+86{,}7049}{3}$

= **85,8743 mg GAE/g**

No.	x	x - $\bar{x}$	(x - $\bar{x}$)^2
1.	84,9836	-0,8907	0,793346
2.	85,9344	0,0601	0,003612
3.	86,7049	0,8306	0,689896
Σ	**85,8743**	-	**1,486855**

SD $= \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1{,}486855}{3-1}}$

$= \sqrt{\frac{1{,}486855}{2}} = \sqrt{0{,}7434275}$

= 0,862222

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70% Kunyit Hitam

= **85,8743 ± 0,8622 mg GAE/g ekstrak**

Lampiran 26. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol 95% Kunyit Hitam

Persamaan regresi linier:

y = bx + a

a. Replikasi I

y = bx + a

0,259 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,259+0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,2992}{0,0061}$

= 49,0491 ppm

b. Replikasi II

y = bx + a

0,264 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,264+0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,3042}{0,0061}$

= 49,8688 ppm

c. Replikasi III

y = bx + a

0,27 = 0,0061x + (-0,0402)

$x = \frac{0,27+0,0402}{0,0061}$

$= \frac{0,3102}{0,0061}$

= 50,8524 ppm

Lampiran 27. Perhitungan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol 95% Dan Perhitungan Standar Deviasi Kadar Ekstrak Etanol 95% Kunyit Hitam

Kadar Fenolik Total (mg GAE/g) = $\frac{c\ x\ v}{g}$

g. Replikasi I

Kadar fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{49{,}0491\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 49,0491 mg GAE/g

h. Replikasi II

Kadar fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{49{,}8688\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 49,8688 mg GAE/g

i. Replikasi III

Kadar fenolik total (mg GAE/g) = $\frac{50{,}8524\ \frac{\text{mg}}{\text{L}}\ x\ 1\ mL\ x\ 10^{-3}\frac{L}{mL}}{0{,}001\ g}$

= 50,8524 mg GAE/g

Rata – rata kadar fenolik

= $\frac{49{,}0491\ +49{,}8688\ +50{,}8524}{3}$

= **49,9234 mg GAE/g**

No.	x	x - x̄	(x - x̄)
1.	49,0491	-0,87433	0,764459
2.	49,8688	-0,05463	0,002985
3.	50,8524	0,928967	0,862979
Σ	**49,92343**	-	**1,630423**

SD = $\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1{,}630423}{3-1}}$

= $\sqrt{\frac{1{,}630423}{2}} = \sqrt{0{,}8152115}$

= 0,902891

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 95% Kunyit Hitam

= **49,9234 ± 0,9029 mg GAE/g ekstrak**

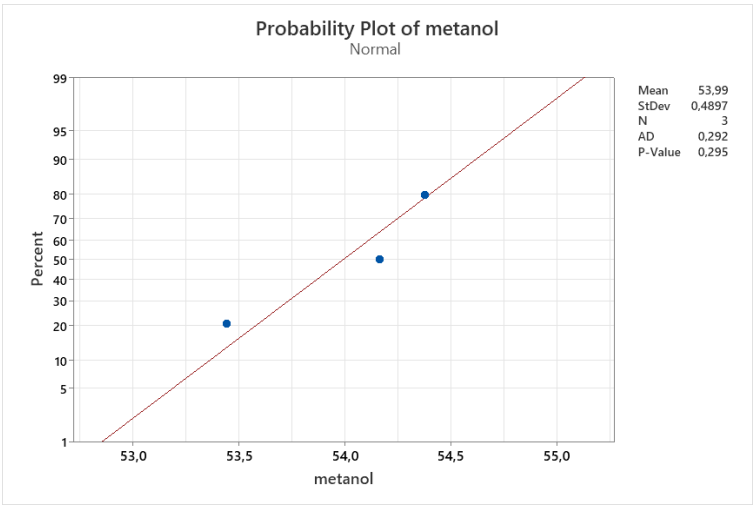
Lampiran 28. Hasil Uji Normalitas

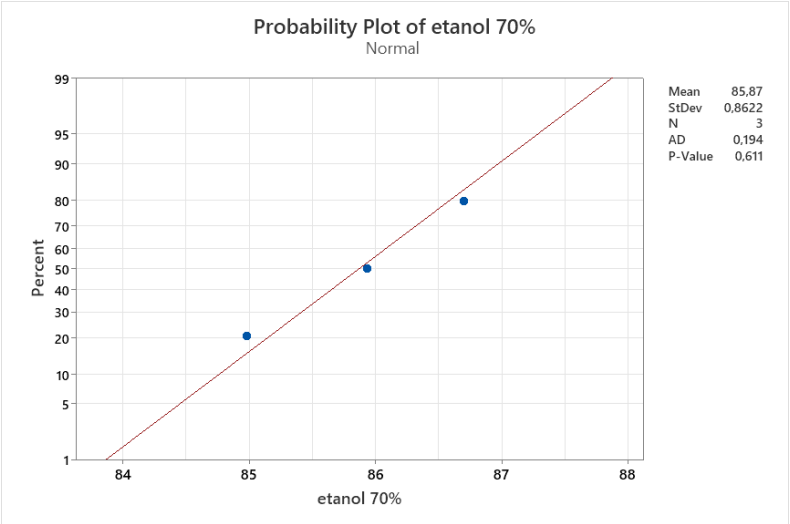
Hipotesis :

H_0 = data terdistribusi normal

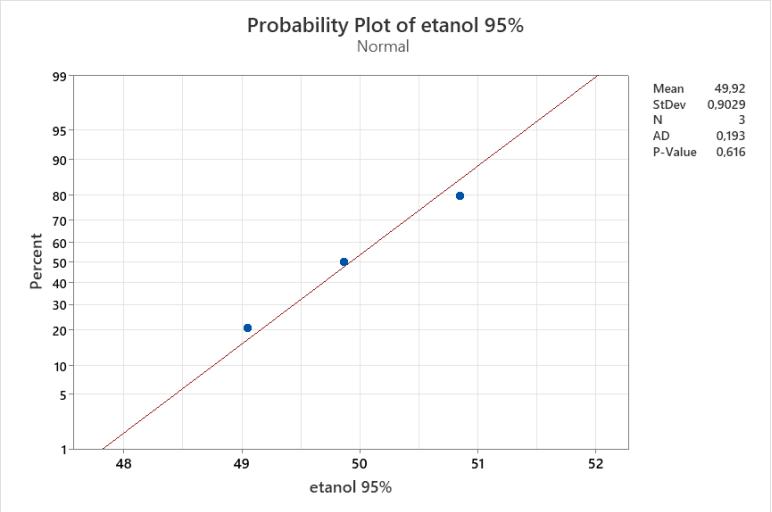
H_1 = data tidak terdistribusi normal

Kelompok/ formula	Kadar I	Kadar II	Kadar III
Ekstrak metanol	53,4426	54,1639	54,3770
Ekstrak etanol 70%	84,9836	85,9344	86,7049
Ekstrak etanol 95%	49,0491	49,8688	50,8524





(Lanjutan)



Kesimpulan :

p-value > 0,05 (0,295 ; 0,611 ; 0,616) = H_0 diterima (data terdistribusi normal)

Lampiran 29. Hasil Uji Homogenitas

Hipotesis :

H_0 = data terdistribusi homogen

H_1 = data tidak terdistribusi homogen

Metanol	Etanol 70%	Etanol 95%
53,4426	84,9836	49,0491
54,1639	85,9344	49,8688
54,3770	86,7049	50,8524

Method

Null hypothesis	All variances are equal
Alternative hypothesis	At least one variance is different
Significance level	α = 0,05

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

BB	N	StDev	CI
A	3	0,902891	(0,0118663; 340,087)
B	3	0,489692	(0,0064358; 184,450)
C	3	0,862222	(0,0113318; 324,769)

Individual confidence level = 98,3333%

Tests

Method	Test Statistic	P-Value
Multiple comparisons	—	0,655
Levene	0,34	0,722

Kesimpulan :

p-value > 0,05 (0,655 ; 0,722) = H_0 diterima (data terdistribusi homogen)

Lampiran 30. Hasil Uji ANOVA

Hipotesis :

H_0 = 3 kelompok uji memiliki nilai kadar fenolik total yang setara

H_1 = 3 kelompok uji tidak memiliki nilai kadar fenolik total yang setara

p-value < 0,05 = terdapat perbedaan yang signifikan

p-value > 0,05 = tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Metanol	Etanol 70%	Etanol 95%
53,4426	84,9836	49,0491
54,1639	85,9344	49,8688
54,3770	86,7049	50,8524

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	α = 0,05

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	A; B; C

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	2325,36	1162,68	1939,48	0,000
Error	6	3,60	0,60		
Total	8	2328,96			

p-value < 0,05 (0,000) = H_1 diterima

Kesimpulan :
Nilai kadar ekstrak metanol, etanol 70%, dan etanol 95% adalah memiliki perbedaan yang signifikan.