

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan diperoleh dari Gg. Kenari, Kutu Dukuh, Sinduadi, Kecamatan Mlati, Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Determinasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada pada tanggal 03 April 2023 dengan nomor surat 0298/S.Tb./IV/2023. Hasil dari determinasi adalah sampel tumbuhan memiliki *species Curcuma caesia Roxb* dengan sinonim *curcuma kuchoor Royle* dengan nama lokal Temu hitam (*Black turmeric*). Hasil determinasi dapat di lihat pada Lampiran 1.

2. Penyiapan Simplisia Rimpang Kunyit Hitam

Simplisia rimpang kunyit hitam yang diperoleh ditimbang dan diukur susut pengeringannya menggunakan *moisture analyzers*. Berat basah, berat kering dan susut pengeringan sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Susut Pengeringan

Sampel	Berat basah	Berat kering	Susut pengeringan (%)
Kunyit Hitam	2000 g	379,09 g	5,13%

3. Ekstraksi Kunyit Hitam

Ekstrak metanol kunyit hitam yang diperoleh ditimbang lalu dihitung rendemennya. Hasil perhitungan % rendemen dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. % Rendemen Ekstrak Kental

Sampel	Berat sampel	Berat ekstrak	Rendemen (%)
Kunyit hitam	250 g	33,1403 g	13,26%

4. Skrining Fitokimia

Dari penelitian ini diperoleh hasil uji fitokimia senyawa flavonoid, fenolik dan tanin yang disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Skrining Fitokimia

No	Metabolit sekunder	Pereaksi	Pustaka	Hasil
	Flavonoid	Sampel + AlCl ₃	Warna kuning	+
	Fenolik	Sampel + FeCl ₃ 5%	Warna hijau kehitaman	+
	Tanin	Sampel + FeCl ₃ 1%	Warna coklat kehijauan	+

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4 diketahui bahwa ekstrak metanol kunyit hitam mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan tanin. Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Udayani et al., 2022).

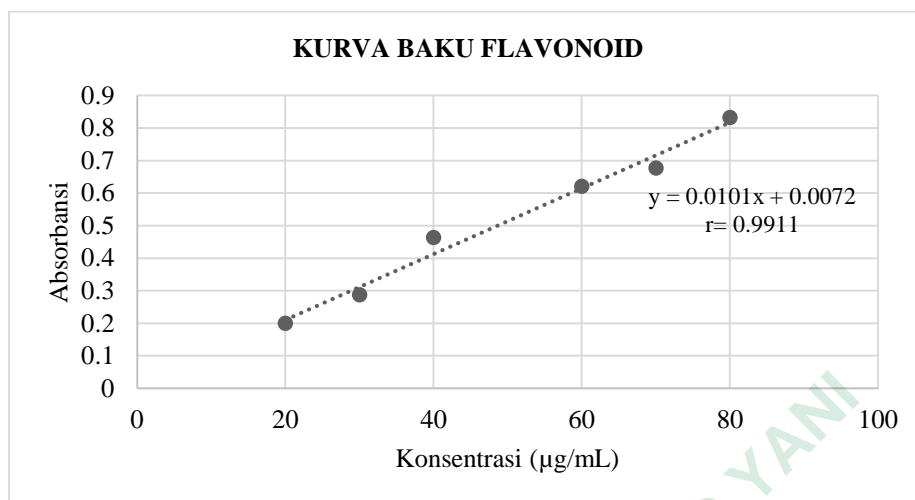
5. Penentuan kadar flavonoid

Langkah awal penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan mencari panjang gelombang (λ) maksimum dan *operating time* menggunakan standar kuersetin konsentrasi 60 ppm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebesar 433 nm dengan nilai absorbansi 0,522 dapat dilihat pada Lampiran 7. Sedangkan *Operating time* yang diperoleh dimulai dari menit ke-9 sampai menit ke-21 yang dapat dilihat pada lampiran 8. Hasil pengukuran absorbansi seri larutan standar kuersetin pada λ 433 nm dan OT yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Absorbansi Kurva Baku Kuersetin

C (ppm)	Absorbansi
20	0,2
30	0,287
40	0,464
60	0,621
70	0,677
80	0,833

Dari data di atas diperoleh nilai regresi linier $y = 0.0101x + 0.0072$; $r = 0.9911$. Grafik perbandingan konsentrasi standar kuersetin dengan nilai absorbansi dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kurva Baku Flavonoid

Dari persamaan regresi linier yang diperoleh dapat dihitung kadar flavonoid dalam ekstrak metanol kunyit hitam sebesar $10,326 \pm 0,074$ mgEQ/g ekstrak. Hasil perhitungan kadar flavonoid dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kadar Flavonoid

Replikasi	Sampel (ppm)	Absorbansi	Kadar (mgEQ/g ekstrak)	$\bar{x} \pm LE$	SD	CV (%)
1	5000	0,53	10,352	$10,326 \pm 0,074$	0,030	0,292
2		0,529	10,332			
3		0,527	10,293			

6. Uji Aktivitas antioksidan.

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebesar 745 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,766 hal ini dapat dilihat pada Lampiran 9. *Operating time* yang diperoleh dimulai dari menit ke-13 sampai menit ke-17 yang dapat dilihat pada Lampiran 10.

a. Uji aktivitas antioksidan kuersetin

Hasil perhitungan % Penangkalan radikal bebas dan nilai IC50 pada λ 745 nm dan OT yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. % Penangkalan Radikal Bebas dan IC50 Kuersetin

No	% Penangkalan radikal bebas					Persamaan regresi Linier	IC50 (ppm)
	0,25 ppm	0,5 ppm	1,0 ppm	2,0 ppm	3,0 ppm		
1	42,89	44,50	47,45	56,56	67,02	$y = 8,7956x + 39,815$; $r = 0,9955$	1,15
2	43,96	47,58	51,47	54,95	65,14	$y = 6,997x + 43,181$; $r = 0,9822$	0,97
3	42,62	47,18	50,13	54,02	63,27	$y = 8,7956x + 39,815$; $r = 0,9955$	1,15
Rata-rata \pm LE							1,09 \pm 0,198
SD							0,08
CV(%)							7,88

Nilai rata-rata IC50 kuersetin diperoleh 1,096 ppm dengan nilai rata-rata \pm LE sebesar 1,09 \pm 0,198 ppm.

b. Uji aktivitas antioksidan Sampel

Hasil perhitungan % Penangkalan radikal bebas dan IC50 ekstrak metanol kunyit hitam dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. % Penangkalan Radikal Bebas dan IC50 Kunyit Hitam

No	% Penangkalan Radikal Bebas					Persamaan regresi linier	IC50 (ppm)
	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	125 ppm		
1	29,207	39,221	44,645	57,162	60,639	$y = 0,3232x + 21,933$; $r = 0,9882$	86,840
2	13,953	31,600	43,365	58,549	64,021	$y = 0,5083x + 4,1724$; $r = 0,9878$	90,158
3	14,147	33,425	43,134	59,362	64,909	$y = 0,5098x + 4,7573$; $r = 0,9857$	88,745
Rata-rata \pm LE							88,581 \pm 3,376
SD							1,359
CV(%)							1,534

Nilai rata-rata IC50 ekstrak metanol kunyit hitam diperoleh 88,581 ppm dengan nilai rata-rata \pm LE sebesar 88,581 \pm 3,376 ppm.

B. Pembahasan

1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui bahwa sampel yang digunakan sesuai dengan spesies tumbuhan yang diinginkan. Tumbuhan

yang digunakan pada penelitian ini yaitu rimpang kunyit hitam (*Curcuma Caesia*). Determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan yaitu *Curcuma caesia*.

Selanjutnya dilakukan proses sortasi basah pada rimpang kunyit hitam untuk memisahkan kotoran yang masih menempel pada rimpang kunyit hitam. Pengeringan rimpang menggunakan oven pada suhu 45°C selama 48 jam tujuannya agar menjaga zat aktif dalam simplisia tidak rusak oleh pemanasan berlebihan. Simplisia kering yang diperoleh sebesar 379,09 g dengan susut pengeringan sebesar 5,07%. Hal ini sudah memenuhi syarat susut pengeringan yang baik menurut Farmakope Herbal Indonesia yaitu < 10% (Depkes, 2000). Tujuan susut pengeringan untuk membuat batasan besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan (Utami et al., 2017).

Simplisia kunyit hitam kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk meningkatkan tegangan permukaan. Semakin kecil ukuran partikel dalam simplisia maka kadar flavonoid yang diperoleh semakin besar. Hal tersebut disebabkan luas permukaan simplisia yang semakin besar, sehingga memperbesar kontak antara pelarut dengan serbuk simplisia (Tambun et al., 2016). Kemudian dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 40 mesh untuk menyeragamkan ukuran partikel sampel sehingga mempermudah proses pengekstraksian. Serbuk kunyit hitam yang diperoleh setelah penghalusan dan pengayakan sebesar 360,08 g.

2. Ekstraksi Kunyit Hitam

Ekstraksi adalah proses pengambilan zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengambil senyawa flavonoid ekstrak kunyit hitam. Prinsip maserasi yaitu terjadinya proses pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel (Muhsin & Ramandha, 2023). Penggunaan metode ini dinilai lebih efektif karena ekstraksi cara dingin tidak merusak

zat aktif yang terkandung dalam simplisia. Selain itu, maserasi menggunakan peralatan yang sederhana dan mudah dalam pelaksanaannya serta banyak digunakan dalam penelitian sebelumnya. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut yang memiliki sifat yang sama dengan senyawa yang akan diambil dalam ekstrak dengan sesekali diaduk (Ulfah, 2020; Utomo et al., 2023). Pada penelitian ini pengadukan dilakukan setiap 12 jam sekali (Ulfah, 2020) dengan tujuan untuk mempercepat interaksi antara serbuk simplisia kunyit hitam dengan pelarut agar senyawa aktif dapat larut dalam pelarut (Ariani & Niah, 2020). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan tujuan agar senyawa metabolit sekunder dapat diekstraksi secara maksimal dan dilakukan remaserasi 1 kali 1x24 jam (Ulfah, 2020). Hasil maserat dari keduanya digabungkan dan diuapkan pada suhu 45-50°C tujuannya agar senyawa flavonoid dalam ekstrak tidak rusak pada suhu yang lebih tinggi.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol. Menurut Dewi et al., (2022); Savitri et al., (2017) metanol merupakan pelarut yang menghasilkan rendemen paling tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Berdasarkan sifatnya metanol bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar, termasuk senyawa flavonoid karena senyawa flavonoid bersifat polar. Flavonoid dapat dikatakan polar karena berdasarkan strukturnya senyawa ini memiliki gugus hidroksil (-OH) yang tidak terdistribusi (Trinovita et al., 2019).

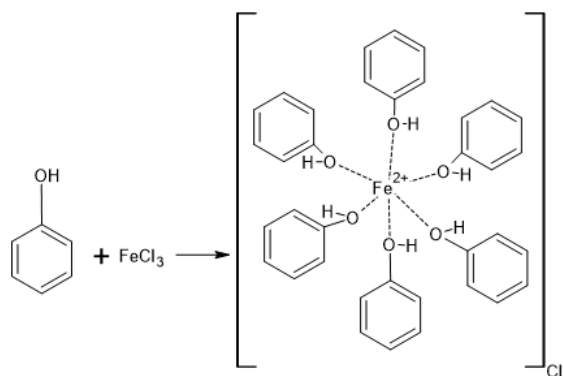
Persentase rendemen yang diperoleh dari penelitian ini sebesar 13,26% dan ekstrak kental yang di peroleh sebesar 33,14 gram. Penentuan rendemen ekstrak untuk mengetahui perbandingan dari hasil simplisia ekstrak dengan simplisia yang digunakan (Alfauzi et al., 2022). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi nilai rendemen yaitu waktu ekstraksi, suhu, jenis pelarut, jumlah sampel, dan pada saat persiapan sampel (Kemit et al., 2016).

3. Uji Fitokimia

Tujuan dari uji fitokimia adalah sebagai informasi awal terkait golongan senyawa kimia apa yang terdapat dalam ekstrak kunyit. Uji ini dianalisis secara visual melalui perubahan warna yang terjadi.

Uji fitokimia yang pertama yaitu uji kandungan flavonoid dengan mereaksikan sampel dengan reagen AlCl_3 . Sampel yang awalnya berwarna ungu terang setelah direaksikan dengan reagen AlCl_3 menunjukkan adanya perubahan warna kuning terang. Terbentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning karena AlCl_3 akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus $-\text{OH}$ pada C3 atau C5 pada senyawa flavon dan flavonol (Nurmila et al., 2019). Hal ini menunjukkan bahwa secara visual dapat dilihat adanya kandungan senyawa flavonoid didalam sampel. Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak (Heveni et al., 2019).

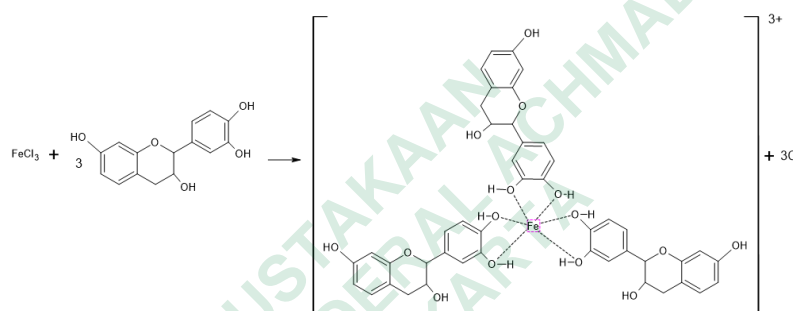
Uji fitokimia yang kedua yaitu uji kandungan fenolik dengan mereaksikan sampel dan reagen FeCl_3 5%. Setelah direaksikan sampel dan FeCl_3 5% terjadi perubahan warna yang semula berwarna ungu terang berubah mejadi warna hijau kehitaman hal ini menunjukkan bahwa pada sampel positif mengandung fenolik. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks ketika FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol, reaksi ini dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Reaksi Fenol dengan FeCl_3 (Dokumentasi Pribadi)

Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan karena adanya struktur cincin terkonjugasi dan gugus hidroksil (Asih et al., 2022).

Uji yang terakhir yaitu uji kandungan tanin, uji ini menggunakan reagen FeCl_3 1% yang direaksikan dengan sampel. Pada saat direaksikan sampel mengalami perubahan warna dari ungu terang menjadi hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 karena tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} dan akan membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikaliumferri(III) (Halimu et al., 2020).



Gambar 11. Reaksi FeCl_3 dengan Tanin (Dokumentasi Pribadi)

Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa tanin. Tanin juga memiliki aktivitas antioksidan, semakin banyak kandungan tanin maka semakin besar aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun dari senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas (Widiastini et al., 2021).

Dari hasil data kualitatif dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kunyit hitam mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan tanin yang diketahui mempunyai peran sebagai antioksidan.

4. Penentuan kadar flavonoid

Dalam penelitian ini dilakukan penentuan kadar total senyawa flavonoid pada ekstrak metanol kunyit hitam menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak metanol kunyit hitam. Penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis karena

dapat dilihat dari struktur flavonoidnya mengandung gugus kromofor (C=C) yang khas.

Penetapan kadar flavonoid dalam penelitian ini menggunakan metode kolorimetri dengan penambahan pereaksi $AlCl_3$. $AlCl_3$ akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus -OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon dan flavonol sehingga membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning (Nurmila et al., 2019). Standar yang digunakan pada penentuan kadar flavonoid yaitu kuersetin. Selain itu, kuersetin merupakan bagian dari flavonoid dan memiliki struktur yang sangat mirip dengan flavonol. Kuersetin merupakan salah-satu jenis flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Widyasari et al., 2019).

Penentuan kadar flavonoid dimulai dengan mencari panjang gelombang maksimum. Tujuan pencarian panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang maksimum terjadi perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan konsentrasi, sehingga akan diperoleh kepekaan yang maksimum serta meminimalisir terjadinya kesalahan (Apriliyani et al., 2018). Penentuan panjang gelombang menggunakan kuersetin pada konsentrasi 60 ppm kemudian direaksikan dengan $AlCl_3$ 10% dengan tujuan agar memberikan efek batokromik atau menggeser panjang gelombang kearah yang lebih tinggi, kemudian dilakukan penambahan natrium asetat 1 M untuk menstabilkan pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dan flavonoid lalu dibaca serapannya pada rentang panjang gelombang 400-500 nm. Nilai serapan yang tinggi merupakan panjang gelombang maksimum. Dari penelitian ini panjang gelombang maksimum yang di peroleh yaitu 433 nm tidak berbeda dengan penelitian terdahulu yaitu 433,5 nm (Khoirunnisa et al., 2019).

Penentuan *operating time* untuk melihat waktu absorbansi senyawa yang diukur dalam keadaan stabil sehingga meminimalisir terjadinya kesalahan (Suharyanto & Prima, 2020). *Operating time* akan digunakan untuk menginkubasi reaksi yang akan di baca. Pembacaan *operating time* dilakukan mulai dari menit ke-0 sampai waktu 1 jam dengan interval 1

menit. Dalam penelitian ini *operating time* diperoleh mulai dari menit ke-9 sampai 21 menit.

Penentuan kurva baku dilakukan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Penentuan kurva baku menggunakan seri konsentrasi 20, 30, 40, 60, 70, dan 80 ppm. Diperoleh persamaan regresi $y = 0,0101x + 0,0072$ dan nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0,9911. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara kuersetin dengan nilai serapan (Kartikasari et al., 2019). Berdasarkan persamaan regresi tersebut, dapat dilakukan perhitungan kadar flavonoid total pada setiap sampel ekstrak dengan pengulangan tiga kali.

Perhitungan kadar flavonoid dilakukan dengan cara konsentrasi (C) dikali dengan volume (V) dan faktor pengenceran (fp) dibagi dengan berat sampel dalam gram. Berdasarkan pada perhitungan kadar total flavonoid replikasi I diperoleh kadar sebesar 10,352 mgQE/g ekstrak, pada replikasi II sebesar 10,332 mgQE/g ekstrak dan pada replikasi III sebesar 10,293 mgQE/g ekstrak. Dengan rata-rata \pm LE total flavonoid dalam ekstrak metanol kunyit hitam sebesar $10,326 \pm 0,074$ mgQE/g ekstrak. Pada penelitian terdahulu kadar flavonoid yang diperoleh sebesar 2,709.88 mg/100g lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian yang diperoleh. Hal ini disebabkan karena pada tahap pengeringan terjadi pemanasan yang berlebihan yang tidak bisa dikontrol peneliti dan pada proses pengayakan menggunakan ayakan yang besar sehingga kontak antar pelarut dan simplisia lebih sedikit. Dengan nilai standar deviasi sebesar 0,030. Nilai CV yang diperoleh dari perhitungan kadar flavonoid yaitu sebesar 0,29% hal ini menunjukkan bahwa data yang didapat seragam atau homogen.

5. Uji aktivitas antioksidan

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Penggunaan metode ini karena jika dibandingkan dengan metode DPPH, metode ABTS dapat menunjukkan nilai serapan yang lebih spesifik pada panjang gelombang visibel, waktu reaksi yang lebih cepat, dan

ABTS dapat larut dalam pelarut organik serta memiliki sensitifitas yang lebih tinggi dibanding metode lainya (Faisal, 2019; Oktaviani et al., 2020). Kemampuan senyawa antioksidan pada metode ABTS didasarkan pada kemampuannya dalam menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton (Wicaksono et al., 2021). Parameter yang digunakan pada metode ini yaitu nilai IC50 atau *Inhibition Concentration* 50%. IC50 adalah konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas.

Larutan ABTS direaksikan dengan kalium persulfat diinkubasi selama 12-16 jam, tujuannya agar larutan ABTS dapat bereaksi dengan kalium persulfat secara maksimal. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan metode ABTS adalah peredaman radikal bebas ABTS+ sehingga warna biru dari radikal bebas ABTS+ menghilang. Radikal bebas ABTS+ terjadi dari reaksi dari garam diammonium ABTS dengan kalium persulfat yang menghasilkan warna biru (Raharjo et al., 2022).

Pada uji ini kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan bagian dari senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan yang kuat (Oktaviani et al., 2020). Larutan stok ABTS berperan sebagai penghasil radikal bebas, dan ekstrak kunyit hitam digunakan sebagai sampel yang dapat berperan sebagai antioksidannya karena mengandung senyawa flavonoid. Larutan stok ABTS mendapatkan pasangan elektron melalui pengambilan atom H dari senyawa antioksidan (Faisal, 2019; Raharjo et al., 2022; Wicaksono et al., 2021). Aktivitas penangkalan radikal bebas dapat ditentukan dengan adanya penurunan nilai absorbansinya dan dapat dilihat secara visual larutan akan berubah dari warna biru kehijauan menjadi semakin berwarna bening (Faisal, 2019; Wicaksono et al., 2021). Hal ini menandakan bahwa senyawa antioksidan dapat menangkal 50% radikal bebas.

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan ABTS. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui serapan maksimal yang diserap oleh larutan ABTS. Pada penelitian ini diperoleh

panjang gelombang maksimum larutan stok ABTS yaitu 745 nm hal ini tidak ada perbedaan panjang gelombang maksimum dengan penelitian sebelumnya dalam jurnal yaitu 745 nm (Poojary et al., 2016).

Selanjutnya dilakukan pembuatan seri konsentrasi larutan kuersetin 0,25; 0,5; 1; 2; dan 3 ppm. Pembuatan seri konsentasi untuk mengetahui adanya perbedaan penangkalan radikal bebas pada beda konsentrasi apakah ada perbedaan atau tidak. Setelah itu, dilakukan penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu dimana reaksi antara larutan stok ABTS dengan larutan uji telah berjalan pada absorbansi stabil yang diukur pada panjang gelombang 745 nm. Dari pengukuran diperoleh *operating time* larutan ABTS dengan larutan uji pada waktu ke-13 sampai 17 menit. Pada menit tersebut, reaksi antara ABTS dengan sampel telah optimal yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi stabil. Hasil *operating time* yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan penelitian terdahulu yaitu larutan uji stabil pada menit ke-14 (Vifta et al., 2019).

Setelah panjang gelombang maksimal dan *operating time* diketahui dilanjutkan dengan pembacaan larutan uji kuersetin dan sampel ekstrak metanol kunyit hitam. Pembacaan larutan uji kuersetin dibaca dengan seri konsentrasi 0,25; 0,5; 1; 2; dan 3 ppm dan pada masing-masing seri konsentrasi direaksikan dengan 2 mL larutan stok ABTS kemudian diinkubasi selama 13 menit sesuai dengan OT yang diperoleh dan dibaca pada panjang gelombang 745 nm. Dari data penelitian yang telah diperoleh secara visual terjadi variasi warna berdasarkan konsentrasi dari yang paling kecil berwarna biru kehijauan sampai konsentrasi yang paling besar berkurangnya warna biru sampai ke warna bening. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil nilai absorbansinya, maka aktivitas antioksidannya semakin besar.

Dalam penelitian ini seri konsentrasi pada sampel yang digunakan yaitu pada konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Parameter aktivitas antioksidan yang digunakan yaitu nilai IC50. Nilai IC50 diperoleh dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier konsentrasi (C) versus %

Penangkalan radikal bebas (Faisal, 2019; Oktaviani et al., 2020; Raharjo et al., 2022). Rata-rata \pm LE IC50 pada kuersetin sebesar $1,09 \pm 0,198$ ppm. Hal ini menunjukkan bahwa untuk menangkal radikal bebas ABTS sebesar 50% maka diperlukan larutan pembanding dengan konsentrasi $1,09 \pm 0,198$ ppm. Dalam hal ini kuersetin sebagai pembanding memiliki sifat aktivitas antioksidan yang sangat kuat dibuktikan dengan nilai IC50 < 50 ppm (Oktaviani et al., 2020).

Pada uji aktivitas antioksidan sampel diperoleh nilai rata-rata \pm LE IC50 sebesar $88,581 \pm 3,376$ ppm. Artinya konsentrasi yang di butuhkan sampel untuk meredam 50% radikal bebas ABTS yaitu sebesar $88,581 \pm 3,371$ ppm. Berdasarkan perhitungan IC50 ekstrak metanol kunyit hitam memiliki sifat antioksidan yang kuat karena < 100 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa data yang didapatkan sesuai dengan hipotesis. Sehingga sampel ekstrak metanol kunyit hitam mengandung senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan.

Berdasarkan nilai r hitung yang diperoleh dari persamaan regresi linier untuk kuersetin yaitu $y = 8,795x + 39,815$ dengan nilai r hitung = 0,9960; dan ekstrak kunyit hitam yaitu $y = 0,3232x + 21,933$ dengan r hitung = 0,9882 lebih besar dari r tabel = 0,8783 dengan taraf kepercayaan 95%, maka data persamaan regresi yang diperoleh valid. Setelah dilakukan perhitungan IC50 dilanjutkan dengan perhitungan nilai SD untuk mengetahui bahwa variasi data yang rendah dan nilai kadar semakin valid atau dapat diandalkan. Dari perhitungan ini diperoleh nilai SD sebesar 0,0864. Kemudian dilanjutkan dengan menghitung nilai CV yang diperoleh dari perhitungan kadar ini yaitu sebesar 7,88% hal ini menunjukkan bahwa data yang didapat kurang seragam atau homogen.

Penelitian ini menghasilkan uji aktivitas antioksidan pada kuersetin bersifat sangat kuat dan pada sampel ekstrak metanol kunyit hitam bersifat kuat. Pada penelitian sebelumnya ekstrak metanol kunyit hitam memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang sedang menggunakan metode DPPH (Kashyap, 2010). Dengan adanya senyawa metabolit sekunder flavonoid,

fenolik dan tanin akan memberikan aktivitas antioksidan yang semakin besar pula.

Data IC50 kuersetin dan ekstrak kunyit hitam selanjutnya diuji normalitasnya menggunakan uji *shapiro-wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene's* dengan kepercayaan 95%. Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak sehingga dapat dilanjutkan ke uji parametrik. Pada uji normalitas diperoleh *sig.* kuersetin dan ekstrak kunyit hitam berturut-turut sebesar 0,001 dan 0,837. Signifikansi kuersetin $< 0,05$ sedangkan pada ekstrak metanol kunyit hitam $> 0,05$ maka dapat disimpulkan data pada kuersetin tidak terdistribusi normal. Sedangkan untuk uji homogenitas diperoleh *sig.* $> 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh homogen. Karena data tidak terdistribusi normal tetapi homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara dua kelompok kuersetin dan ekstrak metanol kunyit hitam. Hasil uji diperoleh *sig.* sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan secara statistika terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai IC50 kuersetin dan ekstrak metanol kunyit hitam. Hasil uji statistika dapat dilihat pada Lampiran 20.