

RORANO: KOMBINASI EKSTRAK DAUN INSULIN (*COSTUS IGNEUS*), KUNYIT (*CURCUMA LONGA L.*), DAN BIJI PALA (*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Zulkifli I. Tuara^{1*}, Fitriana Ibrahim², Rizky Gusti Pratiwi³, Nur Fita Adistianingsih Naser⁴, Feni Sari Afriani⁵

^{1,3}Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nahdlatul Ulama Maluku Utara, Jl. Cempaka, Kel. Tanah Tinggi Kec. Ternate Selatan Kota Ternate, Maluku Utara, 97715, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Khairun, Jl. Pertamina Kampus II Unkhair Gambesi, Kota Ternate Selatan, Maluku Utara, 97711, Indonesia

⁴Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Kesehatan Kemenkes Ternate, Jalan Cempaka, Kelurahan Tanah Tinggi Barat, Kecamatan Kota Ternate Selatan, Maluku Utara, 97713, Indonesia

⁵Laboratorium Biokimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan, Tamalanrea, Sulawesi Selatan, 90245, Indonesia

*E-mail: zulchemi@gmail.com

Riwayat Article

Received: 25 August 2025; Received in Revision: 11 September 2025; Accepted: 12 September 2025

Abstract

Bioactive substances with pharmacological effects, including natural antioxidant activity, have been found in extracts of insulin leaves (*Costus Igneus*), turmeric (*Curcuma longa L.*) and nutmeg seeds (*Myristica fragrans Houtt.*). In order to assess the antioxidant capability of both individual extracts and mixtures made using formulas A and B, the study's objective was to calculate the IC₅₀ values. To measure antioxidant activity, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) technique was used. Insulin leaves, turmeric, and nutmeg seeds yielded ethanol extracts with respective yields of 25.2%, 29.6%, and 29.2%. All extracts contained phenolic chemicals, flavonoids, and alkaloids, according to phytochemical screening. Formula A and formula B showed IC₅₀ values of 113.98 µg/mL and 108.74 µg/mL, respectively, whereas the IC₅₀ values for insulin leaves, turmeric, and nutmeg seeds were 106.96 µg/mL, 117.90 µg/mL, and 108.14 µg/mL, respectively. The findings showed that there were no appreciable variations between the IC₅₀ values of the individual extracts and their mixtures. Thus, additional research should be done to examine the potential for synergistic effects in connection with antioxidant regeneration, extract-specific radical scavenging mechanisms, and the stability and bioavailability of the active ingredients.

Keywords: Rorano, Extracts Of Insulin Leaves (*Costus Igneus*), Turmeric (*Curcuma Longa L.*), Nutmeg Seeds (*Myristica Fragrans Houtt.*), Antioxidant Activity.

Abstrak

Ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan Biji Pala (*Myristica Fragnans Hout.*) diketahui memiliki kandungan bioaktif yang berperan dalam aktivitas farmakologis seperti antioksidan alami. Tujuan penelitian, yaitu menentukan nilai IC₅₀ untuk mengetahui potensi antioksidan pada ekstrak tunggal dan kombinasi yang di buat dalam bentuk formula A dan B. Pengujian antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil ekstrak rendamen sampel masing-masing daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan Biji Pala (*Myristica Fragnans Hout*), yaitu 25,2%, 29,6% dan 29,2% dan skrining fitokimia diketahui ekstrak sampel mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenolik. Pada pengujian nilai IC₅₀ untuk daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan Biji Pala (*Myristica Fragnans Hout*) berturut-turut, yaitu 106,96 µg/mL, 117,90 µg/mL, 108,14 µg/mL dan untuk formulasi A, yaitu 113,98 µg/mL dan formulasi B, yaitu 108,74 µg/mL. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada perubahan signifikan pada nilai konsentrasi IC₅₀ baik pada ekstrak tunggal maupun kombinasi ekstrak, sehingga efek sinergis harus diamati lebih lanjut berkaitan dengan regenerasi antioksidan, mekanisme penangkal radikal bebas dari ekstrak tunggal yang berbeda-beda, stabilitas dan bioavibilitas senyawa aktif.

Kata Kunci: Rorano, Ekstrak Daun Insulin (*Costus Igneus*), Kunyit (*Curcuma Longa L.*), Biji Pala (*Myristica Fragnans Houtt.*), Antioksidan.

1. Introduction

Radikal bebas diidentifikasi sebagai molekul dengan elektron bebas yang reaktif. Ketika terjadi ketidakseimbangan dengan antioksidan dalam proses metabolisme, maka dapat menyebabkan stress oksidatif yang berimplikasi pada kerusakan sel dan menjadi penyebab penyakit degeneratif seperti, diabetes mellitus, kanker, penyakit jantung, dan neurodegeneratif. Mekanisme reaksi sederhana yang dapat terjadi, yaitu elektron bebas yang reaktif dari radikal bebas dapat bereaksi dengan biomolekul dalam tubuh seperti protein, lipid, dan DNA serta menyebabkan stress oksidatif. Secara alami dalam tubuh terdapat enzim yang berperan sebagai antioksidan, yaitu superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase (Nimse and Pal, 2015; Martemucci *et al.*, 2022; Chandimali *et al.*, 2025). Tetapi, dalam proses biologisnya antioksidan tersebut tidak dapat mengimbangi radikal bebas (Chandimali *et al.*, 2025). Sehingga diperlukan antioksidan ekstra dari ekstrak tanaman esensial yang aman untuk dikonsumsi sebagai pengimbang radikal bebas dalam tubuh.

Tanaman seperti daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica Fragnans Hout*) diketahui memiliki kandungan bioaktif yang berperan dalam aktivitas farmakologis, yaitu hipolipidemik, diuretik, antimikroba, dan anti kanker, pelindung jantung, antiinflamasi, antimikroba, pelindung nefro, antineoplastik, pelindung hepato, imunomodulator, memberi efek hipoglikemik, anti rematik (Hegde, Rao and Rao, 2014; Pivari *et al.*, 2019; Tran, Pham and Le, 2020; Marton *et al.*, 2021; Solikah, 2024; Yadav, Sahu and Sahu, 2025). Selain itu, juga diketahui memiliki senyawa obat, seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid yang berpotensi sebagai ekstrak bioaktif antioksidan jika dikombinasikan (Solikah, 2024).

Kombinasi ekstrak tanaman sebagai antioksidan sangat menarik untuk dikaji. Karena dapat memberikan efek sinergik yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya (Zhang *et al.*, 2022; Jiménez-Ortega *et al.*, 2024; Villanueva-Bermejo *et al.*, 2024). Kombinasi ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica Fragnans Hout*). Kombinasi ekstrak seperti ini, telah banyak dilakukan secara tradisional khususnya di Maluku Utara atau yang disebut dengan istilah Rorano. Penggunaan rorano telah banyak dikenal sebagai ramuan obat, tetapi belum memiliki penjelasan ilmiah untuk menjelaskan efek sinergiknya terutama sebagai ramuan yang dapat berperan untuk dijadikan antioksidan alami berbasis pada kearifan lokal.

Berdasarkan hal tersebut diatas maka dilakukan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica Fragnans Hout*) serta diukur efek sinergitasnya yang dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Metode yang digunakan, yaitu metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Secara umum metode ini banyak digunakan dalam uji aktivitas antioksidan sebagai senyawa radikal bebas yang stabil. Prinsipnya dpvh memiliki kemampuan menerima elektron dari senyawa aktif antioksidan yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 400-600 nm.

2. Methodology

Penelitian dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu tahap I, ekstraksi sampel dengan menggunakan teknik Maserasi menggunakan pelarut etanol dan air. Tahap II, yaitu dilakukan uji fitokimia pada ekstrak akhir. Tahap III, yaitu dibuatkan formulasi rorano dengan ketentuan perbandingan masing-masing ekstrak (daun Insulin:kunyit:biji pala) dimana formulasi A (3:2:1), formulasi B (2:3:1). Hal ini bertujuan untuk menentukan formulasi terbaik yang direkomendasikan sebagai antidiabetik. Selanjutnya dilakukan uji Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode dpvh. Alat yang digunakan dalam penelitian, yaitu oven (Mettler UN55 B217.3244), blender (Miyako BL-101), erlenmeyer, hot plate, magnetic stirrer, ayakan 100 mesh, batang pengaduk, beaker glass, gelas ukur, gelas arloji, pipet tetes, labu takar, pipet volume, pisau, sendok tanduk, tabung vial, neraca analitik, centrifuge (Hettich EBA 200), Microwave. Bahan yang digunakan dalam penelitian, yaitu daun insulin (*Costus igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*), aquades, etanol 96%, kertas saring whatman, silika gel Merck G 60 ukuran 230-400 mesh dan aluminium foil, dragendorf 0,1 mL (uji alkaloid), NaOH dan HCl untuk uji flavonoid Serta FeCl₃ 2 mL untuk uji fenolik.

Persamaan yang digunakan untuk menentukan rendamen ekstrak, %Inhibisi ekstrak, dan nilai IC₅₀ sebagai berikut.

$$\% \text{ rendamen} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{beraat awal}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

$$IC_{50} = \frac{y \pm b}{a} \quad (3)$$

Keterangan persamaan (3)

Persamaan diperoleh dari kurva regresi antara konsentrasi (x) dan %inhibisi (y)

IC₅₀ : *Inhibitory Concentration 50%*

y : 50

b : intersep

a : slope

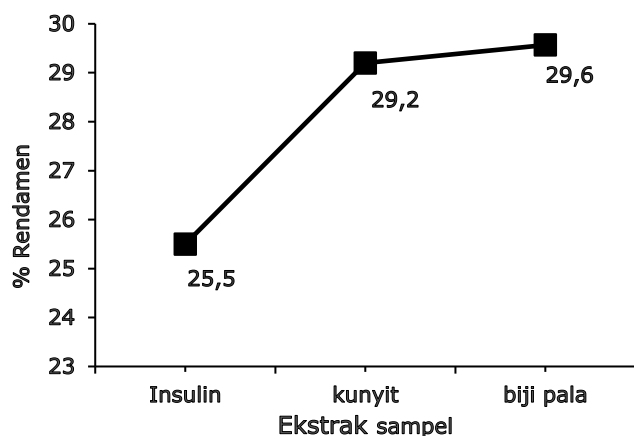
3. Results and Discussion

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel diperoleh dengan cara mengkombinasikan metode maserasi dan penguapan pada suhu ruang. Sebanyak 100 gr sampel kering daun insulin (*Costus Igneus.*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*) dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Bubuk sampel halus ditimbang sebanyak 30 gram dan dilarutkan dalam pelarut etanol 96% 300 mL, kemudian diaduk dengan magnetic stirrer pada suhu 30 °C selama 18 jam. Pengadukan dilanjutkan dengan suhu 70°C selama 4 jam kemudian dilakukan proses penyaringan dengan kertas saring hingga diperoleh larutan ekstrak. Larutan ekstrak disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Diperoleh pellet basah yang dilanjutkan dengan proses pengeringan dengan penguapan pada suhu ruang selama 3 hari hingga diperoleh ekstrak akhir masing-masing sampel. Data ekstrak akhir dihitung %rendamen dari masing-masing sampel menggunakan persamaan (1) diatas. Hasil ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Ekstrak Etanol daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*).

Jenis Ekstrak	Ekstrak sebelum dilarutkan (g)	Ekstrak (g)	Rendamen (%)
Daun insulin (<i>Costus igneus</i>)	30	7,65	25,5
Kunyit (<i>Curcuma longa L.</i>)	30	8,76	29,2
Biji pala (<i>Myristica fragrans Houtt.</i>)	30	8,87	29,6



Gambar 1. Grafik persen Rendamen Ekstrak Etanol daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*).

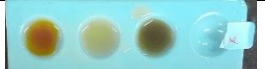
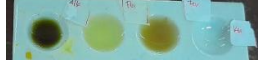
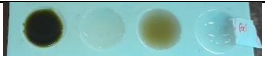
Rendamen ekstrak sampel diperoleh masing-masing 25,5%, 29,2%, 29,6%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi cukup efisien dan baik untuk memperoleh ekstrak senyawa bioaktif dari masing-masing sampel. %rendamen dinyatakan baik, jika rendamen ekstrak tidak kurang dari 10% (Kemenkes, 2017). Kombinasi metode maserasi dan penguapan pada suhu ruang cukup baik untuk diterapkan pada penelitian sehingga memperoleh nilai %rendamen yang

baik. Untuk menentukan efektifitas dan efesiensi dari ekstrak sampel, maka dilakukan skrining fitokimia untuk memastikan bahwa proses yang dilakukan tidak menghilangkan kandungan senyawa aktif yang terkandung pada masing-masing sampel (Dhanani *et al.*, 2017; Zamakshshari *et al.*, 2021; Olvera-Aguirre *et al.*, 2022). Sehingga, dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa bioaktif mayor yang terkandung dalam 3 ekstrak tanaman tersebut.

Skrining Fitokimia

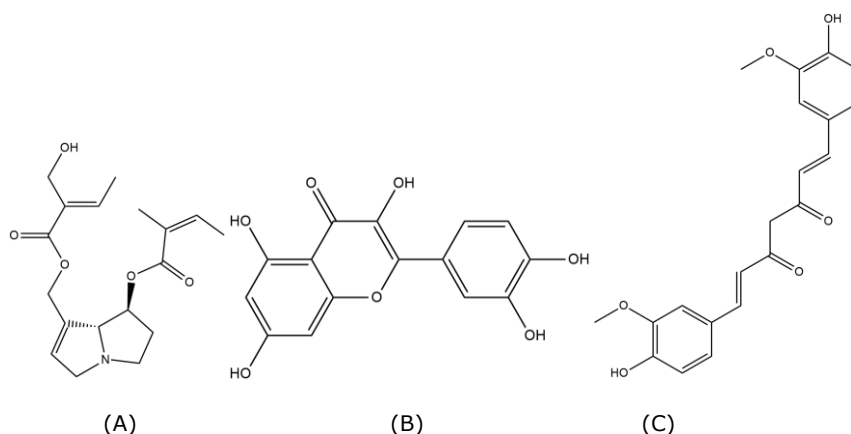
Hasil skrining Fitokimia disajikan dalam Tabel 2. Sebagai berikut.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa* L.), dan biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.).

Jenis Ekstrak	Alkaloid	Flavonoid	Fenolik	Gambar Uji
Daun insulin (<i>Costus Igneus</i>)	+	+	+	
Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	+	+	+	
Biji pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.)	+	+	+	

Berdasarkan hasil skrining fitokimia diketahui ekstrak masing-masing sampel pada sumur plat tetes paling kanan membentuk endapan yang berwarna merah bata meskipun pada sampel insulin warna merah tidak mencolok, tetapi menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Pada sumur plat tetes bagian tengah adanya perubahan warna dari kuning menjadi agak bening, menunjukkan adanya kandungan flavonoid metode yang digunakan, yaitu alkalin reagen test. Pada sumur plat tetes bagian akhir terdapat warna agak kemerahan dan ungu yang menunjukkan adanya kandungan Fenolik.

Hasil tersebut mengkonfirmasi penggunaan metode maserasi dalam penelitian ini, cukup baik untuk mempertahankan kandungan senyawa bioaktif sampel masing-masing. Senyawa bioaktif utama, seperti alkaloid, flavonoid, dan fenolik memiliki peranan yang paling utama sebagai antioksidan. Hal ini dapat dijelaskan berdasarkan pada Gambar 2. Struktur kimia senyawa alkaloid, Flavonoid, dan fenolik sebagai berikut.



Gambar 2. Struktur kimia Alkaloid (A), *quercetin* representasi Flavonoid (B), dan *curcumin* representasi Fenolik (C).

Mekanisme kerja antioksidan pada alkaloid (A), yaitu gugus amina ($-NH_2$) pada cincin heterosiklik dengan pasangan electron bebas dapat bertindak sebagai elektron donor untuk mengikat radikal bebas. Pada flavonoid (B), gugus hidroksil (OH) dapat bertindak sebagai elektron donor untuk mengikat radikal bebas. Pada fenolik (C), gugus hidroksil juga bertindak sebagai elektron donor untuk mengikat radikal bebas. Cincin aromatik dan gugus karboksilat ($-COOH$) pada fenolik juga berperan dalam menstabilkan ikatan dengan radikal bebas. Mekanisme lain ditemukan bahwa keberadaan elektron bebas pada struktur senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenolik juga dapat bertindak sebagai pengkelat logam esensial dan enzim yang bertanggungjawab terhadap produksi radikal bebas. Ion logam esensial seperti Zn, Fe, dan Cu yang diketahui sebagai

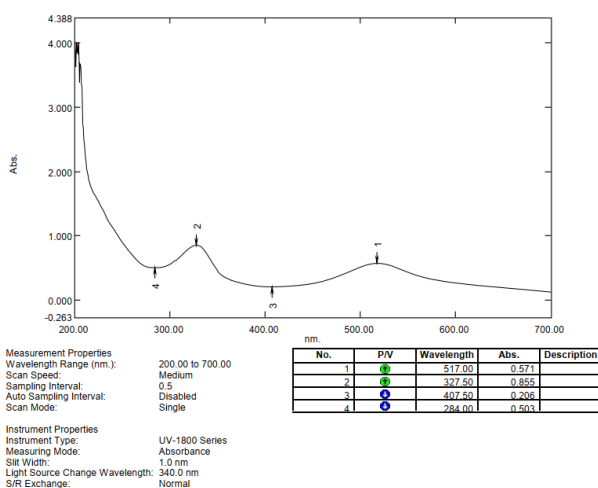
katalis dalam pembentukan radikal bebas (Macáková *et al.*, 2019; Zeb, 2020; Speisky *et al.*, 2022). Jika terjadi ikatan, maka reaksi pembentukan radikal bebas dapat dihambat.

Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak memiliki peranan yang sangat penting untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak dan kombinasi ekstrak, serta memberikan gambaran yang jelas bagaimana stabilitas dan bioavailabilitas senyawa sebagai antioksidan alami yang dapat diterapkan dalam kehidupan sehari-hari (Zamakshshari *et al.*, 2021). Kapasitas antioksidan alkaloid lebih rendah jika dibandingkan dengan flavonoid dan fenolik, tetapi lebih stabil dan memiliki bioavailabilitas yang tinggi (Kamiloglu *et al.*, 2021).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode dpph sangat prediktif dan umum digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam aplikasinya pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Preparasi uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur panjang gelombang maksimum dpph (200-700 nm) dan konsentrasi maksimum. Hasil skrining panjang gelombang maksimum dpph ditunjukkan pada Gambar 1. Spektra UV-Vis dpph (Panjang gelombang maksimum) sebagai berikut.

Data Set: skrining dpph - RawData



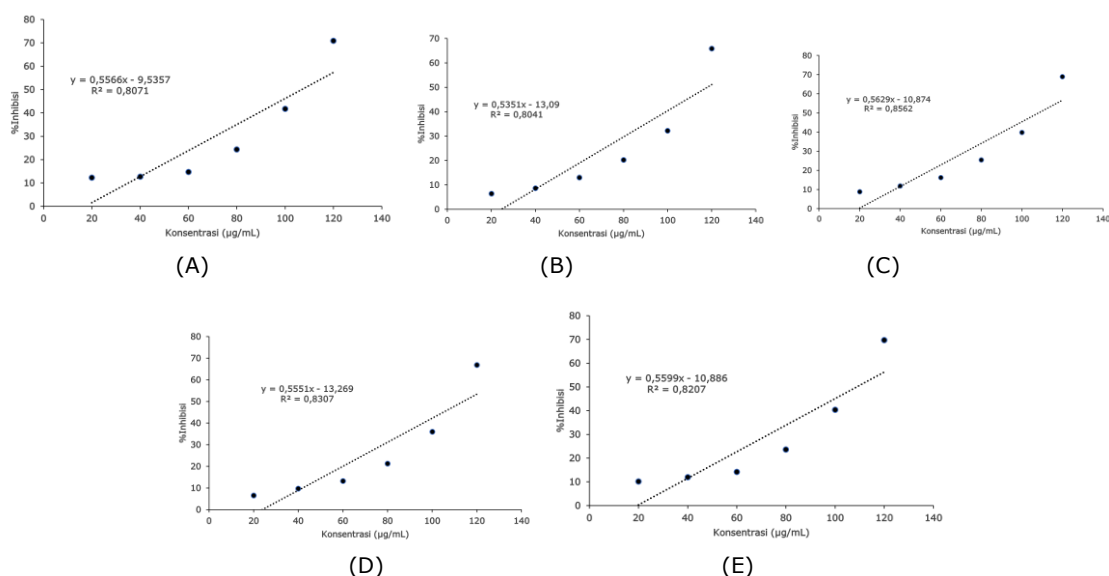
Gambar 3. Spektra UV-Vis dpph (Panjang gelombang maksimum)

Berdasarkan spektra UV-Vis pada Gambar 1. diketahui panjang gelombang maksimum dpph, yaitu 517 nm dengan absorbansi terukur 0,571. Penentuan panjang gelombang maksimum penting untuk dilakukan untuk memastikan sensitifitas pengukuran absorbansi sampel yang akan dilakukan pada tahap selanjutnya. Pada penelitian ini, juga dilakukan penentuan konsentrasi maksimum dpph yang akan digunakan. Pengujian ini penting dilakukan untuk memperoleh respon linear saat pengukuran sampel pada tahap selanjutnya. Tabel 3. Penentuan konsentrasi maksimum dpph sebagai berikut;

Tabel 3. Penentuan konsentrasi maksimum dpph

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	Pers. Regresi	Konsentrasi maksimum (µg/mL)
20	0,290	$y = 0,017x - 0,056$ $R^2 = 0,999$	80,74
40	0,625		
60	0,944		
80	1,317		

Panjang gelombang maksimum dan konsentrasi maksimum dpph dapat digunakan pada uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*), sehingga diperoleh nilai IC₅₀. Penentuan IC₅₀ menggunakan rumus pada persamaan (3) nilai a dan b diperoleh dari kurva regresi linear antara konsentrasi (x) dan %inhibisi (y) yang ditunjukkan pada Gambar 4. Kurva regresi dan Tabel 4. Nilai IC₅₀ dan aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dan kombinasinya sebagai berikut.



Gambar 4. Kurva regresi linear penentuan IC₅₀ daun insulin (*Costus Igneus*) (A), kunyit (*Curcuma longa L.*) (B), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*) (C), Formula A (D), Formula B (E).

Tabel 4. Nilai IC₅₀ dan aktivitas antioksidan ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*).

Jenis Ekstrak	Konsentrasi ((µg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Pers. Regresi	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
daun insulin (<i>Costus Igneus</i>)	20	0,913	12,296	$y = 0,5566x - 9,5357$ $R^2 = 0,8071$ $R = 0,898$	106,96
	40	0,909	12,680		
	60	0,888	14,697		
	80	0,788	24,304		
	100	0,607	41,691		
	120	0,303	70,893		
	Kontrol	1,041			
Kunyit (<i>Curcuma longa L.</i>)	20	0,64	6,433	$y = 0,5351x - 13,09$ $R^2 = 0,8041$ $R = 0,896$	117,90
	40	0,625	8,626		
	60	0,595	13,012		
	80	0,546	20,175		
	100	0,464	32,164		
	120	0,234	65,789		
	Kontrol	0,684			
Biji pala (<i>Myristica fragrans Houtt.</i>)	20	0,623	8,785	$y = 0,5629x - 10,874$ $R^2 = 0,8562$ $R = 0,925$	108,14
	40	0,602	11,859		
	60	0,572	16,252		
	80	0,509	25,476		
	100	0,411	39,824		
	120	0,212	68,960		
	Kontrol	0,683			
Formula A	20	0,633	6,504	$y = 0,5551x - 13,269$ $R^2 = 0,8307$ $R = 0,911$	113,98
	40	0,611	9,682		
	60	0,587	13,230		
	80	0,533	21,286		
	100	0,433	35,994		
	120	0,225	66,814		
	Kontrol	0,677			
Formula B	20	0,769	10,169	$y = 0,5599x - 10,886$ $R^2 = 0,8207$ $R = 0,905$	108,74
	40	0,753	11,981		
	60	0,735	14,144		
	80	0,654	23,553		
	100	0,511	40,327		
	120	0,260	69,667		

Kontrol	0,856
---------	-------

Ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*) memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Konsentrasi IC₅₀ memiliki nilai mendekati 100 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak dalam penelitian ini, cukup kompetitif sebagai agen antioksidan, selain itu sangat mudah ditemukan sebagai kearifan lokal masyarakat Indonesia khususnya Maluku Utara (Maryam *et al.*, 2023). Kombinasi Ekstrak dilakukan dalam penelitian untuk mengamati efek sinergis dengan membuat formula A dan B. Untuk Formula A, yaitu 3 bagian daun insulin, 2 bagian kunyit dan 1 bagian biji pala sebanyak 10 mg dalam 100 mL larutan dan Formula B, yaitu 2 bagian daun insulin, 3 bagian kunyit dan 1 bagian biji pala sebanyak 10 mg dalam 100 mL larutan. Hasil menunjukkan nilai IC₅₀ yang tidak berbeda jauh dengan ekstrak tunggal, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4. tersebut diatas, yaitu IC₅₀ untuk formula A, yaitu 113,98 µg/mL dan formula B, yaitu 108,74 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada efek sinergi secara langsung berdasarkan pada nilai IC₅₀, tetapi efek sinergis sangat mungkin berkaitan dengan regenerasi antioksidan, mekanisme penangkal radikal bebas dari ekstrak tunggal yang berbeda-beda, stabilitas dan bioavailabilitas senyawa (Villanueva-Bermejo *et al.*, 2024). Pada penelitian ini, efek sinergis lebih ditunjukkan pada komposisi dan jenis bahan yang digunakan dalam formula A maupun B. dimana formula B menunjukkan nilai IC₅₀ yang sedikit lebih baik dari formula A. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak dengan komposisi ekstrak mayor dari kunyit (*Curcuma longa L.*) lebih tinggi aktivitas antioksidannya jika dibandingkan dengan ekstrak mayor daun insulin (*Costus Igneus*). Nilai R mendekati 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan kombinasi ekstrak yang diberikan, maka akan semakin baik aktivitas antioksidannya. Nilai R² yang tinggi dan mendekati 1 menunjukkan bahwa regresi antara konsentrasi dan absorbansi dalam penelitian ini dapat digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel (Sulistyo and Haryanti, 2020; Sari and Kustiawan, 2023).

4. Conclusion

Ekstrak daun insulin (*Costus Igneus*), kunyit (*Curcuma longa L.*), dan biji pala (*Myristica fragrans Houtt.*) memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak secara berturut-turut, yaitu 106,96 µg/mL, 117,90 µg/mL, 108,14 µg/mL sedangkan kombinasi ekstrak dalam untuk formulasi A, yaitu 113,98 µg/mL dan formulasi B, yaitu 108,74 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dari tanaman maupun kombinasinya memiliki berpotensi sebagai antioksidan alami serta dapat dikembangkan.

Acknowledgement

Ucapan Terimakasih kami sampaikan kepada **Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains dan Teknologi Republik Indonesia** atas bantuan dana Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun anggaran 2025. Sehingga penelitian dapat terlaksana dengan baik.

References

- Chandimali, N. *et al.* (2025) 'Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: a review', *Cell Death Discovery*, 11(1), p. 19. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8>.
- Dhanani, T. *et al.* (2017) 'Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*', *Arabian Journal of Chemistry*, 10, pp. S1193–S1199. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>.
- Hegde, P.K., Rao, H.A. and Rao, P.N. (2014) 'A review on Insulin plant (*Costus igneus* Nak).', *Pharmacognosy reviews*, 8(15), pp. 67–72. Available at: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125536>.
- Jiménez-Ortega, L.A. *et al.* (2024) 'Synergistic Antioxidant Activity in Deep Eutectic Solvents: Extracting and Enhancing Natural Products', *ACS Food Science & Technology*, 4(12), pp. 2776–2798. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.4c00488>.
- Kamiloglu, S. *et al.* (2021) 'Effect of food matrix on the content and bioavailability of flavonoids', *Trends in Food Science & Technology*, 117, pp. 15–33. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.030>.
- Kemenkes (2017) 'Farmakope Herbal Indonesia, Jilid II', pp. 163–167. Available at: <https://doi.org/10.1201/b12934-13>.

- Macáková, K. *et al.* (2019) 'The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways', *Free Radical Biology and Medicine*, 134, pp. 429–444. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.026>.
- Martemucci, G. *et al.* (2022) 'Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health', *Oxygen*, 2(2), pp. 48–78. Available at: <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>.
- Marton, L.T. *et al.* (2021) 'The Effects of Curcumin on Diabetes Mellitus: A Systematic Review.', *Frontiers in endocrinology*, 12, p. 669448. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.669448>.
- Maryam, S. *et al.* (2023) 'Analysis of Vitamin C and Antioxidant Activity of Capsicum frutescens L. and Capsicum annuum L.', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1). Available at: <https://doi.org/10.24198/ijpst.v0i0.46082>.
- Nimse, S.B. and Pal, D. (2015) 'Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms', *RSC Adv.*, 5(35), pp. 27986–28006. Available at: <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.
- Olvera-Aguirre, G. *et al.* (2022) 'Effect of Extraction Type on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Moringa oleifera Lam. Leaves', *Agriculture*, 12(9). Available at: <https://doi.org/10.3390/agriculture12091462>.
- Pivari, F. *et al.* (2019) 'Curcumin and Type 2 Diabetes Mellitus: Prevention and Treatment', *Nutrients*, 11(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/nu11081837>.
- Sari, B.P. and Kustiawan, P.M. (2023) 'ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACT COMBINATION FROM Averrhoa bilimbi L. LEAVES AND STINGLESS BEE HONEY', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1), pp. 28–34. Available at: <https://doi.org/10.24198/ijpst.v0i0.45987>.
- Solikah, W. (2024) 'Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Pala (Myristica fragrans Houtt)', *INPHARMED Journal (Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal)*, 7, p. 74. Available at: <https://doi.org/10.21927/inpharmed.v7i2.3877>.
- Speisky, H. *et al.* (2022) 'Revisiting the Oxidation of Flavonoids: Loss, Conservation or Enhancement of Their Antioxidant Properties', *Antioxidants*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11010133>.
- Sulistyo, S.B. and Haryanti, P. (2020) 'Regression analysis for determination of antioxidant activity of coconut sap under various heating temperature and concentration of lysine addition', *Food Research*, 4(4), pp. 976–981. Available at: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(4\).410](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(4).410).
- Tran, N., Pham, B. and Le, L. (2020) 'Bioactive Compounds in Anti-Diabetic Plants: From Herbal Medicine to Modern Drug Discovery', *Biology*, 9(9). Available at: <https://doi.org/10.3390/biology9090252>.
- Villanueva-Bermejo, D. *et al.* (2024) 'Theoretical framework to evaluate antioxidant synergistic effects from the coextraction of marjoram, rosemary and parsley', *Food Chemistry*, 437, p. 137919. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137919>.
- Yadav, M., Sahu, B. and Sahu, M. (2025) 'Costus igneus: A Versatile Herbal Remedy for Multiple Health Conditions', *Chemistry & Biodiversity*, 22(4), p. e202402220. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cbdv.202402220>.
- Zamakshshari, N. *et al.* (2021) 'Effect of extraction procedure on the yield and biological activities of hydroxychavicol from Piper betle L. leaves', *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 24, p. 100320. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100320>.
- Zeb, A. (2020) 'Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods', *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), p. e13394. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>.
- Zhang, L. *et al.* (2022) 'Study on Synergistic Antioxidant Effect of Typical Functional Components of Hydroethanolic Leaf Extract from Ginkgo Biloba In Vitro', *Molecules*, 27(2). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27020439>.