

**PERBEDAAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN,
DAGING BUAH, DAN BIJI MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) DENGAN
METODE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)**

Muhammad Syifaul Qulub

Prodi S1 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

email: Syifazif@gmail.com

Abstract

*Antioxidant is compound that inhibit negative effects of free radicals, Noni (*Morinda citrifolia* L.) have such phenolic compounds. The purpose of this research was to evaluate the difference antioxidant activity of leaf, fruit flesh and noni seed ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. by DPPH free radical scavenging method. The antioxidant activity assay was measured by UV-Vis spectrophotometry and the data were analyzed by ANOVA. The results showed that leaf, fruit flesh and noni seed ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. have phenolic total 47.10 ± 1.73 , 18.10 ± 0.00 and 108.43 ± 1.52 mg GAE/g extract, flavonoid total 15.97 ± 0.03 , 3.83 ± 0.15 and 6.18 ± 0.21 mgQE/g extract., While the IC_{50} value 374.29 ± 4.14 , 442.40 ± 5.78 , and 59.22 ± 0.68 μ g/mL, respectively. The ANOVA analyzed have differed with significance value (p -value) < 0.05 .*

Keywords: Antioxidant, phenolic total, flavonoid total, noni, DPPH

1. PENDAHULUAN

Gaya hidup yang tidak sehat dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti penyakit kardiovaskuler, diabetes militus, kanker dan sebagainya. Salah satu sebab terjadinya penyakit-penyakit tersebut adalah radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektro tidak berpasangan. Hal ini yang membuat radikal bebas sangat reaktif sehingga radikal bebas dapat menangkap atau mengambil elektron dari metabolisme senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan juga DNA untuk menetralkan diri. Sel-sel sehat dalam tubuh akan diserang oleh radikal bebas sehingga menyebabkan sel-sel tersebut akan kehilangan fungsi dan strukturnya. Akumulasi dari kerusakan tersebut berkontribusi pada beberapa penyakit dan dapat mengakibatkan kondisi yang disebut dengan penuaan dini (Liochev, 2013) reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh suatu system antioksidan (Winarsi, 2017).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap atau meredam dampak

negatif dari oksidan. (Winarti, 2010). Antioksidan dapat berupa antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Antioksidan alami dapat berasal dari berbagai tanaman. Pada tanaman, senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan umumnya adalah senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan senyawa golongan fenolik dan polifenolik (Nurjanah dkk., 2011; Ramle dkk., 2008). Antioksidan sintesis seperti BHA, (*butyl hidroksi anisol*), BHT (*butil hidroksi toluen*), PG (*propil galat*), dan TBHQ (*tert-butil hidrokuinon*) dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis. Adanya kekhawatiran terhadap efek samping penggunaan antioksidan sintetik menyebabkan banyak penelitian tentang potensi antioksidan alami yang berasal dari tanaman, salah satunya adalah mengkudu (Agoes dkk., 2011).

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai macam penyakit, baik biji, buah, daun dan kulit. Beberapa penelitian menjelaskan tentang khasiat mengkudu diantaranya adalah sebagai antidislipidemia (Saf-ur

dkk., 2010), hepatoprotektor (Surya dkk., 2009), analgetik (Lesiasel dkk., 2013), antibakteri (Nonci dkk., 2015).

Tanaman mengkudu mengandung berbagai macam kandungan kimia mulai dari daun, daging buah dan bijinya. Buah mengkudu mengandung morindin, asam malat, asam sitrat, flavonoid, glukosa, antraknon, triterpen, turunan kumarin, tiga macam iridoid, dan suatu senyawa golongan saponin. Biji buah yang telah tua dan masak mengandung paling sedikit 3 macam senyawa alkaloid dan satu macam senyawa iridoid, 3 macam senyawa keton atau aldehid. Daun mengkudu mengandung senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid. (Sudarsono dkk., 2002; Rohman dkk., 2007).

Adanya senyawa flavonoid, fenol ataupun polifenol dalam tanaman mengkudu tersebut, menjadikan tanaman mengkudu sebagai salah satu sumber aintioksidan. Dalam penelitian ini akan dilakukan uji total fenol, total flavonoid dan uji aktivitas antioksidan dari daun, daging buah dan juga biji mengkudu dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara daun, daging buah dan juga biji mengkudu dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH.

2. METODE PENELITIAN

A. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah neraca analitik (OHAUS), bejana maserasi, kertas saring, gelas beaker, gelas ukur, tabung reaksi, labu ukur, corong kaca, kaca arloji, spatula, kertas saring, mikropipet, *rotary evaporator*, cawan porselen, oven, inkubator dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah mengkudu, biji mengkudu, daun mengkudu, serbuk DPPH (1,1 -*diphenyl-2-picylhydrazyl*), etanol 96%, metanol *p.a*, aquades, serbuk vitamin C, serbuk

magnesium, asam klorida, asam galat, Na_2CO_3 , kuersetin, AlCl_3 , natrium asetat, aquades, pereaksi meyer, pereaksi dragendorff, Folin-Ciocalteu dan besi (III) klorida

B. Preparasi sampel

Sampel yang digunakan adalah daun, daging buah, dan biji mengkudu yang diperoleh di Kecamatan Pekalongan Selatan, Kota Pekalongan. Sampel yang gunakan masing-masing sebanyak 2 kg. Sampel disortasi basah, dicuci, dikeringkan dengan cara dioven selama kurang lebih 3 hari, disortasi kering, kemudian dihaluskan dengan blender, lalu disaring dengan ayakan mesh 40 untuk mendapatkan serbuknya.

C. Ekstraksi

Sebanyak 200 g sampel daun, daging buah, dan biji mengkudu masing-masing dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 2,5 liter selama 7 hari dengan minimal 3 kali pengadukan setiap harinya. Setelah itu larutan disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Ampas diremaserasi menggunakan pelarut yang sama sebanyak 500 mL. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C. Ekstrak cair hasil evaporasi kemudian diuapkan kembali dengan menggunakan oven pada suhu 60°C untuk mendapatkan ekstrak kental

D. Penapisan fitokimia

a. Fenol

Sejumlah ekstrak dilarutkan dengan 20 mL etanol 96%. Diambil sebanyak 1 mL filtrat kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna biru atau hijau kehitaman

b. Flavonoid

Sejumlah ekstrak ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL

amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 96% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna kuning hingga kemerahan.

c. Saponin

Sejumlah ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa.

d. Alkaloid

Sejumlah ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL aquades, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloid. Diambil 2 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0,5 mL filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, dan dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan.

e. Tannin

Sejumlah ekstrak dididihkan selama 3 menit dalam 10 mL aquades lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna biru atau hijau kehitaman.

E. Uji total fenol

Kurva baku asam galat dibuat dengan cara menimbang 50 mg asam galat, dilarutkan dalam etanol sampai volume akhir 50 mL, kemudian dibuat varian konsentrasi 25, 50, 100, 150, dan 200 µg/mL. Dari masing-masing konsentrasi larutan asam galat dipipet 0,2 mL lalu ditambah 15,8 mL aquades dan 1 mL Reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok sampai homogen serta didiamkan selama 8 menit. Diambahkan 3 mL larutan Na₂CO₃ 10% lalu dikocok homogen, dan

selanjutnya didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 768 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/mL) dengan serapan.

Sebanyak 100 mg ekstrak dilarutkan dalam etanol 96% 5 mL, kemudian ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/mL. Dari konsentrasi 10 mg/mL dipipet 1 mL dan diencerkan dengan aquades hingga 10 mL dan diperoleh konsentrasi ekstrak 1 mg/mL. Dipipet 0,2 mL ekstrak, ditambahkan 15,8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok. Didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 mL Na₂CO₃ 10% ke dalam campuran. Didiamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 768 nm (Marjoni dkk., 2015).

F. Uji total flavonoid

Sebanyak 10 mg kuersetin (pembanding) dilarutkan dalam 100 mL metanol sebagai larutan stok. Kemudian dibuat pengenceran kuersetin dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50, µg/mL sebagai. Sebanyak 0,5 mL larutan pembanding (kuersetin) diencerkan dengan 1,5 mL metanol kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium (III) klorida 10%, 0,1 mL Natrium asetat 1 M dan 2,8 mL aquadest. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C, absorbansi dari larutan pembanding diukur dengan spektroskopi UV sinar tampak pada panjang gelombang 439 nm. Setelah diperoleh absorbansi dari masing-masing larutan pembanding, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh regresi persamaan linier (Salmia, 2016).

Sebanyak 20 mg sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga diperoleh konsentrasi 2000 µg/mL. Sebanyak 0,5 mL sampel uji

ditambahkan dengan 1,5 mL metanol, kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium (III) klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Inkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum

G. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan stok DPPH

Sebanyak 5 mg DPPH dilarutkan dalam 50 mL metanol sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 100 µg/mL.

b. Pembuatan larutan Blanko

Metanol p.a dipipet sebanyak 3 mL kemudian dan ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH lalu dikocok sampai homogen, inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Skrining panjang gelombang dilakukan dengan menggunakan larutan blanko padang rentang panjang gelombang 500-600 nm.

c. Pengujian sampel

Sebanyak 25 mg sampel ekstrak dilarutkan dalam 25 mL metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL dan 100 µg/mL. Sebanyak 1 mL masing-masing konsentrasi larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 mL DPPH 100 µg/mL dan diencerkan dengan 2 mL metanol. Larutan dihomogenkan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pengujian pembandingan vitamin C dilakukan dengan prosedur yang sama hanya saja varian konsentrasi yang digunakan 2,5 µg/mL, 5 µg/mL, 7,5 µg/mL dan 10 µg/mL (Syiafuddin, 2015).

Data hasil absorbansi dari masing-masing sampel digunakan untuk mencari % inhibisinya. Berikut adalah Rumus untuk mencari % inhibisi:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{blanko} = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel (blanko)

A_{sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Setelah didapatkan presentase inhibisi masing-masing konsentrasi sampel, Hasil perhitungan dibuat dalam suatu persamaan linier $y = ax + b$. Persamaan linier yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai IC_{50} . Rumus untuk menghitung nilai IC_{50} adalah $50 = ax + b$, dimana Harga X adalah IC_{50} dengan satuan µg/mL.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi sampel merupakan prosedur pertama yang dilakukan dalam penelitian ini. Sampel. Sebanyak 200 g sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol digunakan karena memiliki kepolaran yang baik untuk mengekstrak berbagai komponen yang bersifat polar seperti senyawa-senyawa golongan fenol (Romadanu, 2014). Sampel daun, daging buah, dan biji mengkudu sebanyak 200 g dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 2 L selama 5 hari dengan dengan minimal 3 kali pengadukan setiap harinya. Pengadukan bertujuan agar pelarut yang digunakan berdifusi ke dalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung di dalam sampel daun, daging buah, dan biji mengkudu sehingga akan terbentuk kesetimbangan (Voight, 1994).

Hasil dari proses maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kain *flannel* untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampas kemudian dimaserasi lagi dengan 500 mL etanol 96% selama 3 hari. Hasil filtrat I dan filtrat II dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu

60°C, kemudian diuapkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Penguapan ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut etanol 96% sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang ada pada suatu sampel. Penapisan dilakukan pada masing-masing ekstrak daun, daging buah, dan biji mengkudu. Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun Daging Buah dan Biji Mengkudu

Golongan senyawa	Daun	Daging buah	Biji
Fenol	+	+	+
Tannin	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Alkaloid	+	+	+
Saponin	+	+	-

Keterangan : + (mengandung golongan senyawa), - (tidak mengandung senyawa)

Penentuan kandungan total fenolik menggunakan metode folin-ciocalteu. Menurut Hacı, dkk (2009), prinsip reaksi pada metode ciocalteu adalah oksidasi-reduksi dalam suasana basa menggunakan reagen folin ciocalteu dan natrium karbonat. Ion fenolat akan mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen folin-ciocalteu selama proses oksidasi fenol menjadi senyawa kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang diukur secara spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum. Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton dalam suasana basa dengan penambahan natrium karbonat

Pembuatan kurva baku asam galat digunakan untuk mencari persamaan regresi linier yang digunakan untuk menentukan jumlah kandungan total fenol dalam sampel. Pembuatan kurva kalibrasi asam galat dilakukan dengan mengukur serapan yang diberikan oleh larutan uji dengan beberapa

varian konsentrasi, yaitu 25, 50, 100, 150, dan 200 µg/mL pada panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum yang didapatkan adalah 768 nm. Persamaan linier yang didapatkan dalam adalah $y = 0,001x + 0,0719$ dengan linieritas sebesar 0,9994.

Untuk menentukan kandungan total fenol pada sampel daun, daging buah, dan biji mengkudu, dilakukan pengukuran absorbansi pada masing-masing sampel pada panjang gelombang maksimum. Absorbansi pada masing-masing sampel kemudian dimasukkan dalam suatu persamaan regresi linier yang telah didapatkan.

Tabel 3.2 Kandungan total fenol ekstrak etanol daun, daging buah dan biji mengkudu

Sampel	Total fenol (mg GAE/g ekstrak)
Daun	47,10 ± 1,73
Daging buah	18,10 ± 0,00
Biji	108,43 ± 1,52

Hasil uji total fenol seperti yang terdapat pada tabel 3.2 diketahui bahwa sampel dengan kandungan total fenol tertinggi adalah ekstrak etanol biji mengkudu, diikuti oleh ekstrak etanol daun mengkudu dan ekstrak etanol buah mengkudu

Penentuan Kandungan total flavonoid ditentukan berdasarkan metode kolorimetri. Prinsip dari metode pewarnaan ini adalah $AlCl_3$ membentuk kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keton, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Selain itu $AlCl_3$ juga membentuk kompleks asam yang labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid (Fadilah, 2017).

Penentuan kadar total flavonoid dilakukan dengan menggunakan larutan standar kuersetin 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 439 nm. Penentuan kurva baku kuersetin didapat

persamaan regresi $y = 0,0095x + 0,0578$. Hasil dari kurva baku kuersetin diperoleh hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9965. Nilai (r^2) yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear

Pengukuran kandungan total flavonoid pada sampel daun, daging buah, dan biji mengkudu dilakukan dengan mengukur absorbansi pada masing-masing sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi pada masing-masing sampel kemudian dimasukkan dalam suatu persamaan regresi liner yang telah didapatkan.

Tabel 3.3 Kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun, daging buah dan biji mengkudu

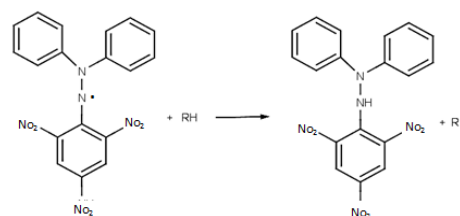
Sampel	Total flavonoid (mg QE/g ekstrak)
Daun	15,97±0,03
Daging buah	3,83±0,15
Biji	6,18±0,21

Penentuan kadar senyawa flavonoid total pada sampel dinyatakan dalam satuan miligram ekuivalen kuersetin tiap gram ekstrak. Hasil perhitungan kandungan total flavonoid seperti yang terdapat pada tabel 3.3 menunjukkan bahwa kandungan total flavonoid terbesar terdapat pada ekstrak etanol daun mengkudu diikuti oleh ekstrak etanol biji mengkudu, sementara kandungan total flavonoid terkecil terdapat pada ekstrak etanol daging buah mengkudu.

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode ini paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan sampel secara in vitro dan juga merupakan metode yang sederhana, cepat serta hanya membutuhkan sampel dengan jumlah yang sedikit. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Sayuti & Yenrina, 2015).

Panjang gelombang maksimum diukur dengan menggunakan larutan blanko. Larutan blanko yang digunakan adalah larutan DPPH dengan menggunakan pelarut methanol p.a dengan tujuan untuk mendapatkan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum. Skrining untuk menentukan panjang gelombang maksimum dilakukan pada panjang gelombang visibel, yaitu antara panjang gelombang antara 400-800 nm. Hasil penentuan panjang gelombang didapatkan hasil panjang gelombang 515,4 nm.

Prinsip metode DPPH adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H. Antioksidan akan bekerja menghambat radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogen yang dimilikinya sehingga radikal DPPH menjadi tereduksi. Jika elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan akan berubah dari warna ungu menjadi warna kuning (Zuhra dkk., 2008). Penurunan intensitas warna yang terjadi dikarenakan berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Sayuti & Yenrina, 2015).



Gambar 3.1 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan
(Sayuti & Yenrina, 2015)

Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan produk antioksidan yang paling sering digunakan dalam masyarakat. Memiliki rumus molekul $C_6H_8O_6$ yang diketahui

memiliki aktivitas antioksidan yang besar karena bersifat sebagai reduktor. Sifat reduktor tersebut disebabkan oleh mudah terlepasnya atom-atom hydrogen sehingga radikal bebas dapat dengan mudah menangkapnya dan membentuk radikal bebas tereduksi yang stabil (Soewoto dkk., 2001)

Tabel 3.4 Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun, daging buah, biji mengkudu dan vitamin C

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Daun	374,29 $\pm$ 4,14
Daging buah	442,40 $\pm$ 5,78
Biji	59,22 $\pm$ 0,68
Vitamin C	8,04 $\pm$ 0,55

Hasil uji aktivitas antioksidan seperti yang terdapat pada tabel 3.4 diketahui bahwa ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah ekstrak etanol biji, diikuti oleh ekstrak etanol daun dan ekstrak etanol daging buah mengkudu. Namun aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji mengkudu masih lebih rendah jika dibandingkan dengan pembanding Vitamin C.

Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 $\mu\text{g/mL}$, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 $\mu\text{g/mL}$ dan sangat lemah apabila nilai IC_{50} diatas 200 $\mu\text{g/mL}$ (Septiana, 2017). Melihat dari batasan ini, maka dapat dikatakan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Ekstak etanol biji mengkudu memiliki aktivitas antioksidan kuat, sementara ekstrak etanol daun dan daging buah mengkudu memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah.

Perbedaan hasil dari nilai IC_{50} ekstrak etanol daun, daging buah, biji mengkudu, dan vitamin C dianalisa secara statistika menggunakan uji ANOVA satu jalur dengan SPSS. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai IC_{50} antara ekstrak etanol daun

daging buah dan biji mengkudu dan vitamin C memiliki nilai signifikansi ($p\text{-value}$) 0,000. Artinya nilai $p\text{-value}$ <0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa sampel berbeda secara signifikan

Penentuan kandungan total fenol dan total flavonoid bertujuan untuk melihat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenol dan flavonoidnya. Pengujian kandungan senyawa fenolat total dan flavonoid total merupakan dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan, karena diketahui bahwa senyawa fenolat berperan dalam mencegah terjadinya peristiwa oksidasi.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa semakin tinggi nilai total fenol, maka semakin kuat kapasitas antioksidannya. Beberapa penelitian lain juga menyebutkan hal yang sama, yaitu terdapat korelasi yang kuat antara total fenol dengan kapasitas antioksidan, antara lain penelitian oleh perwiratami dkk. (2014). Sementara pada total flavonoid dengan kapasitas antioksidan tidak menunjukkan adanya korelasi positif antara nilai total flavonoid dengan kapasitas antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan pada ekstrak etanol daun, daging buah dan biji mengkudu tidak dipengaruhi secara langsung oleh kandungan total flavonoid.

Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak etanol biji mengkudu. Biji mengkudu mengandung senyawa fenol, alkaloid, keton, iridoid dan minyak atsiri (Sudarsono dkk., 2002; faizal dkk, 2010). Senyawa fenol dalam biji mengkudu diduga berperan besar dalam aktivitas antioksidannya. Senyawa lain yang diduga berperan sebagai antioksidan adalah senyawa alkaloid yang memiliki gugus fenol. Hal ini didukung dengan uji penapisan fitokimia dimana hasil penapisan alkaloid pada ekstak biji mengkudu menunjukkan hasil positif yang lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak daun dan daging buah mengkudu. Adanya kandungan minyak atsiri pada biji mengkudu juga diduga berperan penting dalam aktivitas antioksidannya (Gunawan dkk., 2015).

4. SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun, daging buah, dan biji mengkudu memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda secara signifikan. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sebesar $374,29 \pm 4,14$ $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etanol daging buah sebesar $442,40 \pm 5,78$ $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etanol biji sebesar $59,22 \pm 0,68$ $\mu\text{g/mL}$, sementara vitamin C yang memiliki IC_{50} sebesar $8,04 \pm 0,55$ $\mu\text{g/mL}$
2. Nilai total fenol ekstrak etanol daun, daging buah dan biji mengkudu masing-masing sebesar $47,10 \pm 1,73$; $18,10 \pm 0,00$ dan $108,43 \pm 1,52$ mg GAE/g ekstrak. Sementara nilai total flavonoid masing-masing sebesar $15,97 \pm 0,03$; $3,83 \pm 0,15$ dan $6,18 \pm 0,21$ mg QE/g ekstrak..

5. REFERENSI

- Agoes M., J., Purwaningsih S., Rinto. (2011). Anatomi Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan daun Mangrove Api-Api (*Avicennia Marina*) Leaf. *Jurnal pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, **14(2)**, 143-152
- Fadillah A., Rahmadani A., Rijai L. (2017). Analisis Kadar Total Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelubut (*Passiflora Foetida* L.). *Jurnal Pharmascience*. **3 (1)**. 21-28
- Faizal H. M., Huda K., Achmad S. (2010) Pengaruh Rasio (Etanol/Mengkudu Dan Jumlah Siklus Ekstraksi Terhadap Yield Minyak Biji Mengkudu. *Jurnal Teknik Kimia*. **17 (3)**. 59-67.
- Gunawan. W. G., Karda IM. (2015). Identifikasi Senyawa Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiosidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kepuh (*Sterculia Feoida* L.). *Chem Prog*. **8(1)**. 14-19.
- Haci, I. A. E., Didi, A., Bekkara, F.A., Gherib, M., (2009) In Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents in Methanol Crude Extrat from The Algerian Medicinal Plan Limoniastrum Feei. *Scientific Study and Reaserch*. **10(4)**. 329-336.
- Leiseasel R. N., Awaloei H, Posangi J. (2013). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, **1(2)**, 765-770.
- Liochev, S.I. (2013). Reactive Oxygen species and the free radical theory of aging, free radical biologi and medicine. *Free Radic Biol Med*, 60:1–4.
- Marjoni M. R., Afrinaldi, Novita A. D.(2015). Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran Yarsi*, **23(3)**,187-196.
- Nonci F. Y., Rusli, Jumatia. (2015). Uji Efektivitas Antibakteri Sari Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolial.*) Asal Makassar pada Daging Sapi. *Jurnal farmasi, fakultas ilmu kesehatan UINAM*, **3(1)**. 17-21.
- Nurjanah, izzati L., Abdullah A. (2011). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). *Ilmu Kelautan*, **16(3)**, 119-124.
- Perwiratami, Suzery M., Cahyono B. (2014). Korelasi Fenolat Total Dan Flavonoid Total Dengan Antioksidan Dari Beberapa Sediaan Ekstrak Buah Tanjung (*Mimusops Elengi*). *Chem Prog*. **7(1)**. 34-39.
- Ramle, S. F. M., Kawamura, F., Sulaiman, O., Hashim, R. (2008). Study on Antioxidant Activities, TotalPhenolic Compound, and Antifungal Properties of Some Malaysian Timbers from Selected Hardwoods Species. *International Conference of Environmental Research and Technology*. 472-475.
- Rohman A., Riyanto s., Hidayati N. K. (2007). Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu

- (*Morinda citrifolia* L). *Agritech*, **27(4)**, 147-151.
- Saf-ur, R., M., Aziz, N., Gilani, A.H. (2010). Studies On Antidyslipidemic Effects of *Morinda Citrifolia* (Noni) Fruit, Leaves And Root Extracts. *Lipids in Health and Disease*, **9 (88)**.
- Salmia. (2016). Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Skripsi*. Universitas Islam Negri Alaudin Makassar.
- Sayuti K., Yenrina R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Septiana E., Simanjutak P. (2017). Pengaruh kondisi kultur yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan metabolit sekunder kapang endofit turmeric asal akar kunyit. *Traditional Medicine Journal*. **(22)1**. 31-36.
- SoewotoH., Shadikin M., Inawati S.W., Retno D., Abadi dkk. (2001). *Biokimia: Eksperimen Laboratorium*, cetakan I. Jakarta : Widya Medika.
- Sudarsono, D. Gunawan, S. Wahyono, I.A. Donatus, dan Purnomo. (2002). *Tumbuhan Obat II*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
- Sudarsono, D. Gunawan, S. Wahyono, I.A. Donatus, dan Purnomo. (2002). *Tumbuhan Obat II*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
- Supomo, Supriningrum R., Junaid R. (2016). Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Daun Kerehau (*Callicarpa Longifolia* Lamk.) *Jurnal Kimia Mulawarman*, **13(2)**, 89-96
- Surya H. D., Mariyah Y., Tahono. (2009). Efek Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Kadar Enzim SGOT dan SGPT pada Mencit Dengan Induksi Karbon Tetraklorida *Biofarmasi*, **7(2)**, 87-93.
- Syafitri N.E., Bintang M., Falah S. (2014). Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, **1(3)**, 105 – 115.
- Syaifuddin. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera Amoena* Voss.) Segar dan Rebus Dengan Metode DPPH (1,1 –Diphenyl-2-Piclyhydrazyl). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Voight R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Winarsi H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Winarti, Sri. (2010). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: graha ilmu.
- Zuhra C. F., Tarigan J. Br., Sitohang H. (2008). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus Androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. **3(1)**7-10.