


Open access article


AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT, DAN n-HEKSAN BIJI MENGGKUDU (*Morinda Citrifolia* L.) DENGAN METODE DPPH


*Antioxidant Activity of Ethanol, Ethyl Acetate, and n-Hexane Extracts of Noni Seeds (*Morinda Citrifolia* L.) Using the DPPH Method*


Penulis / Author (s)

Nurisyah¹  ¹ Poltekkes Kemenkes Makassar, Makassar, Indonesia

Irawati¹ 

Alfrida Monica Salasa¹ 

Asyhari Asyikin¹ 

Koresponden : Nurisyah¹ 

e-mail korespondensi: asyhari@poltekkes-mks.ac.id

Submitted: 02-07-2024

Accepted: 11-09-2024

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v20i2.686>

ARTICLE INFO

ABSTRACT / ABSTRAK

Keywords:

Antioxidants;
Noni Seeds (*Morinda citrifolia* L.);
DPPH;

Kata Kunci

Antioksidan;
Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.);
DPPH;

Antioxidants are compounds that can reduce the negative impact of free radicals. Noni seeds (*Morinda citrifolia* L.) contain these compounds as secondary metabolites. This research is a laboratory observational study to determine and compare the antioxidant activity of ethanol extract, ethyl acetate extract, and n-hexane extract noni seeds (*Morinda citrifolia* L.) using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. Then the absorption was measured with a UV-Vis Spectrophotometer at the maximum wavelength (516 nm). The results showed that the IC₅₀ value of the ethanol extract of noni fruit seeds was 507.75 ppm and the IC₅₀ value of the ethyl acetate extract of noni fruit seeds was 43.18 ppm, while the n-hexane extract of noni fruit seeds had inactive antioxidant activity. The antioxidant activity of the ethanol extract of noni seeds is in the weak category and the antioxidant activity of the ethyl acetate extract is in the very strong category. The extracting solution that produces noni seed extract with the highest antioxidant activity is ethyl acetate solvent.

Antioksidan adalah senyawa yang dibutuhkan untuk mencegah dampak buruk dari radikal bebas. Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) mengandung senyawa tersebut sebagai metabolit sekundernya. Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksana, Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan metode 1,1-difenil-2-picrylhidrazyl. Kemudian serapannya diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (516 nm). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol Biji Mengkudu adalah 507,75 ppm dan nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat Biji Mengkudu adalah 43,18 ppm sedangkan ekstrak n-heksana Biji Mengkudu memiliki aktivitas antioksidan yang tidak aktif. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol Biji Mengkudu termasuk dalam kategori lemah dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetatnya termasuk kategori sangat kuat. Larutan pengekstrakan yang menghasilkan ekstrak Biji Mengkudu dengan aktivitas antioksidan paling tinggi adalah pelarut etil asetat.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya berbagai proses biokimia. Proses tersebut meliputi pernapasan, metabolisme sel, aktivitas fisik berlebihan, peradangan, dan paparan polutan lingkungan seperti radiasi, asap rokok, asap kendaraan, dan polutan matahari (Utami, 2021). Senyawa radikal bebas termasuk kuat menangkap elektron senyawa disekelilingnya untuk mengisi kekurangan elektron didalamnya. Hal tersebut akan membentuk zat radikal baru yang tidak terkendali, dan apabila proses ini tidak diatasi maka akan terus terjadi secara berantai yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel, bahkan kematian sel (Makatita et al 2020).

Senyawa yang dapat mengatasi dampak negatif dari radikal bebas adalah antioksidan (Putri et al 2023). Antioksidan merupakan senyawa yang telah banyak dibuktikan dapat digunakan untuk mengurangi, menghambat, atau mencegah kerusakan jaringan akibat radikal dan oksidan dengan cara mendonorkan elektron pada molekul radikal untuk menghentikan reaksi berantai dengan membentuk molekul yang lebih stabil (Handajani, 2019). Senyawa antioksidan banyak terkandung dalam tanaman sebagai metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan dalam dunia kesehatan termasuk bidang farmasi. Senyawa antioksidan terbagi ke dalam empat kelompok besar yaitu karotenoid, flavonoid, polifenol, dan alilsulfida (Dirjen Pelayanan Kesehatan Kemenkes RI, 2022). Senyawa antioksidan sintesis yang meliputi BHA, BHT, PG, TBHQ dapat menyebabkan terjadinya karsinogenesis (Qulub et al., 2018).

Kecemasan masyarakat terutama pengguna kosmetik pada efek samping dari antioksidan sintesis membuat banyak penelitian yang mengkaji tentang aktivitas antioksidan yang berasal dari tumbuhan. Hal tersebut didukung kebiasaan masyarakat saat ini yang sudah banyak memilih kembali ke alam (*Back to Nature*), dan penelitian-penelitian yang terbukti sejalan dengan dunia medis terutama pemanfaatan bahan alam tersebut sebagai antioksidan untuk kesehatan kulit. Salahsatu tanaman yang banyak dikaji aktivitas antioksidannya adalah tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), bagian tanaman ini yang dikaji berupa daun, buah, dan biji.

Menurut penelitian Qulub (2019), daun dan daging buah mengkudu mengandung senyawa fenol, tannin, flavonoid, alkaloid dan saponin, sementara ekstrak etanol Biji Mengkudu yang telah matang juga mengandung senyawa tersebut namun tidak dengan saponin.

Setelah dilakukan pengujian antioksidan terhadap ekstrak etanol biji, buah dan daun mengkudu, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak biji menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan tertinggi dibanding ekstrak buah dan daun mengkudu. Selain itu, dalam penelitian lain juga didapatkan bahwa krim ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dapat menekan peningkatan jumlah melanin pada kulit marmot (*Caviaporcellus*) yang terkena sinar UVB serta efektivitas krim ekstrak Biji Mengkudu 4% (*Morinda citrifolia* L.) sama dengan krim hidroquinon 4%. Peningkatan melanin terjadi saat kulit terpapar sinar UVB karena kulit mengalami oksidasi, kemampuan krim ekstrak Biji Mengkudu untuk mencegah hal tersebut mengindikasikan bahwa sediaan tersebut memiliki aktivitas antioksidan (Sofiana et al, 2017). Megananda et al (2019), dalam penelitiannya juga mendapatkan hasil bahwa Biji Mengkudu mengandung kafein dan vitamin C yang merupakan senyawa antioksidan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, terlihat bahwa tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki kandungan antioksidan yang mumpuni dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan utama kosmetik. Namun, tumbuhan ini hanyalah tanaman liar dengan aroma tidak sedap bagi sebagian besar masyarakat awam dan jika tanaman ini dimanfaatkan, maka sebagian besar orang hanya melirik daun dan daging buahnya saja padahal telah terbukti bahwa Biji Mengkudu juga memiliki kandungan antioksidan yang melimpah bahkan lebih baik dari daun dan daging buahnya. Namun penelitian yang telah dilakukan sebelumnya hanya membuktikan aktivitas antioksidan Biji Mengkudu dengan ekstrak etanol saja. Sehingga diperlukan penelitian yang lebih lanjut pada kandungan antioksidan ekstrak Biji Mengkudu menggunakan pelarut etilasetat dan n-heksana untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak Biji Mengkudu berdasarkan tingkat kepolaran senyawa pengekstraknya. Berdasarkan hal tersebut, dalam penelitian ini dilakukan pengujian "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etilasetat, dan N-heksana Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl" dengan tujuan untuk mengetahui ekstrak dengan jenis pelarut yang mana yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

METODE

Desain, tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi di laboratorium untuk menentukan perbedaan aktivitas antioksidan dari 3 pelarut ekstraksi yang digunakan yaitu etanol, etilasetat,

dan n-heksana dari Biji Mengkudu dengan metode *1,1-difenil-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar, yang dilaksanakan dibulan September 2023 hingga Januari 2024.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat soxhlet, *Waterbath*, alat-alat gelas, serta Spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan yang digunakan adalah Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), etanol 96%, n-heksana, etil asetat, aquadest, larutan HCl pekat, serbuk magnesium, larutan asam sulfat pekat, larutan FeCl₃, DPPH (*1,1-difenil-2-picrylhydrazyl*), vitamin C, pereaksi mayer, pereaksi dragendroff.

Langkah-Langkah Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diperoleh di Kecamatan Wotu, Kabupaten Luwu Timur. Biji Mengkudu dikumpulkan dari buah yang telah matang (sudah berwarna putih). Buah yang berwarna hijau dihindari karena benih mungkin belum sepenuhnya berkembang (Jahurul et al, 2022). Sampel yang gunakan sebanyak 2 kg Biji Mengkudu. Untuk memudahkan biji terlepas dari daging buah, maka buah diiris-iris melintang dengan ketebalan 0,5 cm. Kemudian diangin-anginkan pada tempat yang terlindung sinar matahari selama 24 jam hingga buah terlihat layu (lunak), selanjutnya buah direndam dalam air dan diremas-remas hingga seluruh biji memisah. Biji Mengkudu tersebut dipisahkan dan dicuci hingga bersih, lalu dikeringkan dalam oven suhu 45 °C hingga kering (kurang lebih selama 3 hari). Kemudian simplisia biji mengkudu yang telah kering dihaluskan, lalu disaring dengan ayakan mesh 40 sehingga diperoleh serbuk kasar yang seragam.

Ekstraksi

Simplisia Biji Mengkudu sebanyak 140,88 gram dibungkus menggunakan kertas saring lalu dimasukkan kedalam tabung soklet, ditambah 500 mL etanol 96% dan dihubungkan dengan labu didih dan kondensor. Ekstraksi dilakukan pada suhu 60 °C, proses ekstraksi ini dilakukan sampai semua senyawa yang terkandung dalam Biji Mengkudu habis yang ditandai dengan cairan mengkudu sudah tidak berwarna/jernih. Ekstrak sokletasi yang diperoleh didiamkan agar serbuk simplisia mengendap, kemudian disaring dengan kertas saring. Kemudian ekstrak dipekatkan di atas *waterbath* sampai didapatkan ekstrak kental. Proses ekstraksi yang sama dilakukan terhadap 411,68

gram Biji Mengkudu dengan pelarut etil asetat dan 289,96 gram Biji Mengkudu dengan pelarut n-heksana. Rendemen yang didapatkan disimpan menggunakan cawan porselen yang ditutup aluminium foil (Rosita et al, 2019).

Analisis Fitokimia

Uji Flavonoid

Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid, ekstrak dilarutkan dalam etanol kemudian ditambahkan dengan aquadest secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan dengan HCl pekat sebanyak 1 mL dan serbuk magnesium (1 mL ekstrak + 1 mL HCl pekat + serbuk magnesium/Mg). Terbentuknya warnakuning, jingga, merah, atau ungu menandakan ekstrak mengandung senyawa flavonoid (Pahlani et al., 2022).

Uji Alkaloid

Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa alkaloid, ekstrak dilarutkan dengan 1 mL kloroform lalu ditambahkan pereaksi mayer tetes demi tetes. Dengan cara yang sama dilakukan pengujian menggunakan pereaksi wagner. Terbentuknya endapan putih dengan larutan pereaksi mayer dan warna jingga atau coklat dengan larutan pereaksi wagner menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa alkaloid (Jayadi, 2022).

Ekstrak + 1 mL kloroform + pereaksi mayer.

Ekstrak + 1 mL kloroform + pereaksi Wagner

Uji Saponin

Untuk identifikasi senyawa saponin, ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol yang kemudian ditambahkan aquadest secukupnya. Kemudian larutan ekstrak ditambahkan 10 mL air hangat dan dikocok kuat. Terbentuknya buih yang mantap setinggi 1 – 10 cm selama tidak kurang dari 10 menit, yang jika ditambah tetes HCl 1%, buih atau busa tidak hilang menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa saponin (Jayadi, 2022).

1 mL ekstrak + 10 mL air hangat, kocok kuat.
Busa stabil + 1 mL HCl 1%.

Uji Steroid

Untuk identifikasi senyawa steroid, ekstrak kental dilarutkan dalam etanol yang kemudian ditambahkan dengan aquadest secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat sebanyak 1 mL dari dinding tabung. Terbentuknya cincin hitam di antara larutan ekstrak dan H₂SO₄ pekat menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawasteroid (Safruddin & Nurfitasari, 2018).

1 mL ekstrak + 1 mL H₂SO₄ pekat

Uji Tannin

Untuk identifikasi senyawa tanin, ekstrak kental dilarutkan dalam etanol yang kemudian ditambahkan dengan aquadest

secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Terbentuknya warna biru, hijau, hitam atau hitam kebiruan menunjukkan adanya tanin (Yanty et al., 2019).

1 mL ekstrak + 3 tetes FeCl₃.

Pengujian Antioksidan

Pembuatan Larutan Stok DPPH

Ditimbang saksama 10 mg DPPH dalam gelas kimia, kemudian dilarutkan dengan etanol 96%. Larutan dipindahkan secara hati-hati kedalam labu takar 250mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol 96% hingga batastanda. Diperoleh konsentrasi larutan DPPH sebesar 40 ppm.

Pembuatan Larutan Blanko

Dipipet sebanyak 1,0 mL etanol p.a (pro analisa), ditambahkan 4,0 mL larutan stok DPPH. Pencampuran dilakukan dalam vial yang dibungkus *aluminium foil*, dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjanggelombang maksimum. Skrining panjang gelombangmaksimum dilakukan menggunakan larutan blanko ini pada kisaran panjang gelombang 500nm – 600nm (Qulub et al., 2018).

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol Biji Mengkudu

Ditimbang saksama 0,05 gram ekstrak kental dalam gelas kimia, kemudian dilarutkan dengan etanol 96%. Larutan dimasukkan secara kuantitatif ke dalam labu takar 10 mL, lalu dicukupkan volumenya hingga batas tanda (diperoleh konsentrasi larutan sampel sebesar 5000 ppm). Kemudian dibuat deret konsentrasi larutan sampel dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm melalui pengenceran menggunakan pelarut etanol 96%. Larutan sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil* (Salasa et al., 2021).

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etil Asetat Biji Mengkudu

Ditimbang saksama 0,025 gram ekstrak etil asetat Biji Mengkudu dalam gelas kimia, kemudian dilarutkan dengan 1 mL etil asetat. Setelah larut ditambahkan etanol 96% sedikit demi sedikit hingga ekstrak larut sempurna, kemudian larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu takar 25 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol 96% hingga tanda (diperoleh konsentrasi larutan sampel 1000 ppm). Kemudian dibuat deret konsentrasi larutan sampel dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm melalui pengenceran menggunakan pelarut etanol 96%.. Larutan sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus

aluminium foil

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak N-heksana Biji Mengkudu

Ditimbang saksama 0,25 gram ekstrak dalam gelas kimia, kemudian dilarutkan dengan etanol96%. Larutan dimasukkan secara kuantitatif kedalam labu takar 10 mL, lalu volumenya dicukupkan hingga batastanda (diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi sebesar 25000 ppm). Larutan sampel disimpan dalam vial yang terbungkus aluminium foil.

Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Ditimbang saksama 10 mg baku pembanding Vitamin C, dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu takar 100 mL. Kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol 96% hingga tanda, diperoleh konsentrasi larutan pembanding sebesar 100 ppm. Kemudian dibuat deret konsentrasi larutan sampel dengan konsentrasi 15 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm melalui pengenceran menggunakan pelarut etanol 96%. Larutan sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil*. Sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil* (Indah et al., 2021).

Pengujian Sampel

Masing-masing konsentrasi larutan sampel dan baku pembanding diukur sebanyak 1,0 mL, kemudian ditambahkan 4,0 mL larutan stokDPPH. Pencampuran dilakukan dalam vial yang dibungkus *aluminium foil*, dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. (Adhayanti & Ahmad, 2021).

Analisis Data

Absorbansi hasil pengukuran spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan % inhibisinya menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

A_{blanko} = Serapan larutan DPPH tanpa sampel (blanko)

A_{sampel} = Serapan larutan DPPH setelah ditambah sampel

Berdasarkan % inhibisi dibuat kurva regresi linear sehingga diperoleh persamaan y = ax + b, dimana y adalah % inhibisi dan x adalah konsentrasi ekstrak. Dari persamaan ini, diperoleh nilai IC₅₀ (konsentrasi yang dapat mengikat 50% radikal bebas DPPH), dengan mengganti y = 50 maka nilai x dapat ditentukan dengan rumus 50 = ax + b (Asrina et al., 2021).

HASIL

Berdasarkan perhitungan, didapatkan rendemen ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada masing-masing pelarut ekstraksi yang digunakan dapat dilihat pada isi tabel berikut ini:

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Sampel	Jenis Pelarut	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen Ekstrak
Biji Mengkudu	Etanol 96%	140,88 g	10,51 g	7,46%
	Etil Asetat	411,68 g	31,25 g	7,59%
	N-Heksana	289,96 g	16,07 g	5,52%

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol dan etilasetat Biji Mengkudu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan tannin, sedangkan saponin hanya terkandung di dalam ekstrak etanol saja. Ekstrak n-heksana mengandung senyawa Alkaloid dan steroid, sesuai dengan tabel berikut.

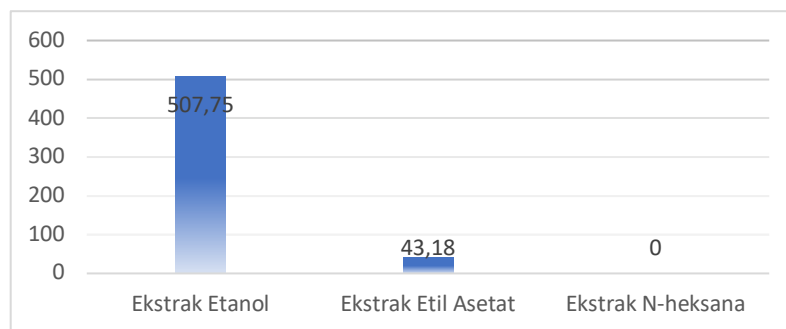
Tabel 2. Kandungan Senyawa Ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Metabolit sekunder	Pelarut		
	Etanol 96%	EtilAsetat	n-Heksana
Flavonoid	terdeteksi	Terdeteksi	Tidak terdeteksi
Alkaloid	terdeteksi	Terdeteksi	terdeteksi
Steroid	terdeteksi	terdeteksi	terdeteksi
Tanin	terdeteksi	terdeteksi	Tidak terdeteksi
Saponin	terdeteksi	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi

Berdasarkan perhitungan nilai IC_{50} ekstrak etanol Biji Mengkudu memiliki nilai IC_{50} sebesar 507,75; ekstrak etil asetat sebesar 43,18; dan ekstrak n-heksana memiliki aktivitas antioksidan yang tidak aktif.

Tabel 3. Hasil pengujian antioksidan Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Persamaan Garis Regresi Linier	IC_{50} (ppm)
Ekstrak Etanol Biji Mengkudu	100	12,56	$y = 0,0877x + 5,47$ $R^2 = 0,9905$	507,75
	200	24,82		
	300	32,68		
	400	40,08		
	500	48,79		
Ekstrak Etil Asetat Biji Mengkudu	10	26,42	$y = 1,0994x + 2,524$ $R^2 = 0,9967$	43,18
	20	35,11		
	30	45,85		
	40	55,55		
	50	62,94		
Ekstrak N-Heksana Biji Mengkudu	25.000	Tidak Aktif	Tidak Aktif	Tidak Aktif
Pembanding Vitamin C	5	2,69	$y = 3,8914x - 18,22$ $R^2 = 0,9945$	8,17
	10	19,52		
	15	38,14		
	20	61,34		



Gambar 1 Grafik nilai IC_{50} (ppm) ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium untuk mengetahui aktivitas antioksidan menggunakan 3 pelarut dengan polaritas berbeda untuk mengekstraksi sampel Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yaitu etanol, etilasetat, dan n-heksana. Kemudian ekstrak yang dihasilkan dari ke tiga pelarut ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tersebut diuji aktivitas antioksidannya dengan metode *1,1-difenil-2-picrylhydrazyl*. Pembuatan ekstrak Biji Mengkudu dilakukan dengan menggunakan metode sokletasi. Sampel penelitian ini adalah Buah Mengkudu matang yang ditandai dengan warna putih kekuningan atau tekstur yang belum lembek dipetik dari pohonnya kemudian diambil biji dengan cara dipisahkan dari daging buahnya sebelum dikeringkan. Setelah kering, simplisia dihaluskan lalu diekstraksi dengan masing-masing pelarut yang telah disiapkan (etanol, etilasetat, dan n-heksana).

Dari hasil penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yaitu ekstrak etanol sebesar 7,46%, ekstrak etilasetat sebesar 7,59%, dan ekstrak n-heksana sebesar 5,52%. Persentase rendemen ekstrak sampel diperlukan agar diketahui jumlah ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Semakin banyak ekstrak yang dihasilkan ditunjukkan oleh semakin besarnya persentase rendemen (Zaky et al., 2023). Besar kecilnya rendemen ekstrak yang dihasilkan dari masing-masing pelarut yang digunakan tergantung pada keefektifan dalam proses ekstraksi, hal tersebut bisa saja dipengaruhi oleh ukuran sampel waktu ekstraksi, suhu, pengadukan, dan jumlah pelarut.

Terdapat perbedaan jumlah rendemen yang dihasilkan oleh tiga jenis pelarut pengekstraksi yang digunakan pada ekstraksi Biji Mengkudu. Dari pelarut etanol dihasilkan jumlah ekstrak yang lebih banyak dibanding dengan pelarut n-heksana, dan pelarut etilasetat menghasilkan ekstrak yang sedikit lebih banyak dibanding dengan pelarut etanol. Hal tersebut erat kaitannya dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam simplisia, dimana pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang kepolarannya sama (Islami, 2021). Rendemen ekstrak etilasetat yang lebih besar dari kedua jenis ekstrak lainnya dikarenakan kemampuan pelarut ini untuk menarik senyawa polar dan non-polar (Wicaksono, 2021).

Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolitsekunder dalam sampel ekstrak Biji Mengkudu, maka dilakukan skrining fitokimia. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, diketahui bahwa terdapat senyawa flavonoid,

alkaloid, tannin, steroid dalam ekstrak etanol dan etilasetat Biji Mengkudu, sedangkan senyawa saponin hanya terkandung di dalam ekstrak etanol saja. Ekstrak n-heksana Biji Mengkudu hanya mengandung steroid dan alkaloid. Hasil identifikasi ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Syaiful Qulub pada tahun 2019 yang menyatakan bahwa pada Biji Mengkudu terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin. Namun pada penelitian ini juga didapatkan senyawa steroid dan saponin. Jenis metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan dapat bervariasi, hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal (lingkungan) dan faktor internal dalam tumbuhan itu sendiri. Selain itu usia dan kematangan tumbuhan dapat pula mempengaruhi kandungan metabolit sekundernya yang sangat berkaitan dengan senyawa antioksidan alami tumbuhan tersebut.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak Biji Mengkudu berpotensi sebagai antioksidan yang didukung oleh hasil skrining fitokimia yang mengidentifikasi adanya kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas kuat sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Jahurul (2022), kandungan flavonoid Biji Mengkudu terbilang tinggi dan merupakan salah satu senyawa alami dengan sifat antioksidan yang kuat.

Pengujian antioksidan terhadap ketiga ekstrak dengan jenis pelarut yang berbeda juga dilakukan dalam penelitian ini untuk menentukan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi sehingga bisa menjadi bahan pertimbangan dalam menentukan jenis pelarut yang lebih baik untuk mengekstraksi senyawa antioksidan Biji Mengkudu. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH, metode ini sangat populer dalam pengujian antioksidan.

Analisis dilakukan dengan membuat deret konsentrasi larutan sampel, yang kemudian direaksikan dengan larutan DPPH 40 ppm. Campuran direaksikan di dalam vial yang terbungkus aluminium foil, lalu dikocok agar campuran homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan DPPH sensitif terhadap cahaya, oleh karena itu untuk memberikan hasil pengujian yang akurat maka penyimpanan campuran sampel dan pereaksi DPPH dilakukan dalam kondisi terbungkus untuk meminimalisir paparan cahaya tersebut. Inkubasi selama 30 menit dilakukan agar reaksi senyawa antioksidan sampel dalam mereduksi radikal DPPH berlangsung secara optimal (Setyawijaya, G. N., 2020). Setelah itu serapan larutan DPPH yang tidak tereduksi diukur dengan

Spektrofotometer UV-Vis, hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH terukur pada 516 nm.

Kemampuan kandungan senyawa antioksidan sampel untuk mengikat radikal bebas pada konsentrasi larutan uji dikenal sebagai persen inhibisi, persen inhibisi ini dihitung berdasarkan data serapan sampel. Karena serapan yang terukur adalah sisa larutan DPPH yang tidak terikat, maka semakin kecil serapan maka persen inhibisi akan semakin besar. Semakin tinggi antioksidannya ditandai dengan warna ungu dari DPPH akan semakin hilang dan nilai serapan sampel semakin kecil yang menunjukkan larutan DPPH yang tersisa semakin sedikit (Adhayanti & Ahmad, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian terhadap sampel ekstrak Biji Mengkudu, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol sebesar 507,75 ppm dan ekstrak etil asetat sebesar 43,18 ppm. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana tidak dilanjutkan karena pada konsentrasi 25.000 ppm, warna DPPH hampir tidak berubah (warna ungu DPPH sama dengan warna pada pengujian blanko). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana termasuk kategori tidak aktif. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut, diketahui bahwa ekstrak etanol Biji Mengkudu memiliki aktivitas antioksidan kategori lemah, karena nilai IC_{50} yang dihasilkan di atas 150 ppm. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat Biji Mengkudu termasuk kategori sangat kuat karena berada di bawah angka 50 ppm. Dengan demikian diketahui bahwa pelarut etil asetat memberikan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanol Biji Mengkudu. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian E, Naoma et al. (2023), yang menyatakan bahwa ekstrak Biji Mengkudu memiliki banyak senyawa metabolit sekunder yang penting dan memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang kuat. Berdasarkan nilai IC_{50} vitamin C sebagai pembanding yaitu sebesar 8,17 ppm, diketahui bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat Biji Mengkudu.

Etil asetat merupakan pelarut yang paling baik untuk mengekstraksi Biji Mengkudu. Hal tersebut dapat dilihat dari rendemen yang dihasilkan ekstrak etil asetat yang lebih tinggi dibanding dua jenis pelarut ekstrak lainnya. Jika dikaji dari hasil skrining fitokimianya, ekstrak n-heksana hanya mengandung senyawa steroid dan alkaloid juga memiliki rendemen ekstrak yang paling rendah. Hasil tersebutlah yang menjadi

alasan mengapa aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana tidak aktif. Adanya kandungan senyawa protein, lemak dan senyawa lainnya yang larut dalam pelarut non-polar seperti pelarut n-heksana, dapat menghalangi proses penangkapan radikal bebas. Hal ini diduga sebagai penyebab aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana tergolong tidak aktif (Pratiwi et al., 2016)

Sedangkan ekstrak etanol dan etilasetat mengandung senyawa yang lebih banyak dimana pada ekstrak etanol terkandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, serta saponin, dan ekstrak etil asetat juga mengandung senyawa tersebut kecuali saponin. Kandungan senyawa-senyawa inilah yang menyebabkan ekstrak Biji Mengkudu memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Firdayani & Winami Agustini (2015) menyatakan bahwa senyawa golongan fenol seperti flavonoid dan tanin, merupakan senyawa utama yang berperan aktif sebagai antioksidan.

Jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak etanol lebih banyak dibanding ekstrak etilasetat namun memiliki rendemen dan aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Faktor yang mempengaruhi hasil tersebut salah satunya adalah kandungan senyawa fenol yaitu flavonoid yang dapat ditarik oleh kedua jenis pelarut. Menurut Nugraha et al. (2017), senyawa semipolar seperti etil asetat cenderung lebih menarik flavonoid aglikon seperti flavon, flavanon, isoflavon, serta flavonol, sedangkan pelarut etanol cenderung menarik flavonoid glikosida. Adanya rantai samping glikosida pada flavonoid yang ditarik oleh pelarut etanol dapat menurunkan aktivitas dari flavonoid (Hafsyah, 2021). Sehingga pelarut etil asetat dapat menjadi pertimbangan utama jika peneliti selanjutnya ingin mengekstrak Biji Mengkudu untuk menghasilkan kandungan senyawa antioksidan yang tinggi. Disamping itu diketahui bahwa etil asetat baik digunakan sebagai pelarut pada proses ekstraksi bahan alam karena memiliki efek toksisitas yang rendah, sangat mudah diuapkan, serta tidak higroskopis (Putri, et al., 2013).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol Biji Mengkudu termasuk kategori lemah dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetatnya termasuk kategori sangat kuat. Sedangkan ekstrak n-heksana Biji Mengkudu memiliki aktivitas antioksidan kategori tidak aktif. Larutan pengeksktrak yang menghasilkan ekstrak Biji Mengkudu dengan aktivitas antioksidan paling tinggi adalah pelarut etil asetat.

SARAN

Untuk menghasilkan ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan aktivitas antioksidan yang tinggi, sebaiknya menggunakan pelarut etil asetat untuk selanjutnya dapat diformulasi sebagai obat maupun kosmetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhayanti, I., & Ahmad, T. (2021). Kadar Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Naga Segar (*Hylocereus* S). *Media Farmasi*, 17(2), 157. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2273>
- Asrina, R., Zulfiah, Z., Kamal, S. E., Roosevelt, A., Patandung, G., Murniati, M., Amiruddin, A., Djajanti, A. D., & Rusli, R. (2021). Aktivitas Antioksidan pada Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang Diolah dengan Mesin Espresso dan Manual Brew Pour Over V60. *Media Farmasi*, 17(2), 204. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2305>
- Dirjen Pelayanan Kesehatan Kemenkes RI. 2022. Jenis dan Manfaat Antioksidan. Jakarta: *Kementrian Kesehatan RI*.
- E, Nnaoma, I., F, E. N., O, E. U., C, Joseph, R., & N, Oguebie, R. (2023). Phytochemical Screening and in-vitro Antioxidant Properties of Synthesized Noni Seed Nanoparticles. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 12(04), 79–85. <https://doi.org/10.36347/sajp.2023.v12i04.001>
- Firdayani, F., & Winarni Agustini, T. (2015). Ekstraksi Senyawa BIOaktif sebagai Antioksidan Alami Spirulina Platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(1), 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Hafsyah, N. (2021). Antioksidan Pada Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* (L.) Dengan Metode Cuprac. *Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana*.
- Handajani F. (2019). Oksidan dan Antioksidan Pada Beberapa Penyakit dan Proses Penuaan, Penerbit Zifatama Jawa., Sidoarjo
- Indah, I., Suryanita, S., & SR, M. A. (2021). Formulasi dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Masker Gel *Peel-Off* dari Ekstrak Etanol Buah Pepino (*Solanum muricatum*). *Media Farmasi*, 17(2), 97. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.1597>
- Islami, I. (2021). Ekstraksi Minyak Bekatul dengan Fraksinasi Pelarut Menggunakan Metode Sonikasi dan Uji Aktivitas Antioksidannya. *Journal of Business Theory and Practice*, 10(2), 6.
- Jahurul, M. H. A., Jack, C. S. C., Syifa, A. A. B., Shahidul, I., Norazlina, M. R., Shihabul, A., & Zaidul, I. S. M. (2022). Physicochemical and antioxidant properties, total phenolic and nutritional contents of noni (*Morinda citrifolia*) seed and its oil cultivated in Sabah, Malaysia. *Food Chemistry Advances*, 1(August), 100079. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100079>
- Jayadi, N. E. A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara *In Vitro* (Doctoral dissertation, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung).
- Makatita, F. A., Wardhani, R., & Nuraini. (2020). Riset in silico dalam pengembangan sains di bidang pendidikan, studi kasus: analisis potensi cendana sebagai agen anti-aging. *Jurnal Abdi*, 2(1), 59–67.
- Megananda, R. C., Arlianni, K. W., & Mawardani, N. A. (2019). Diversifikasi Kopi Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Upaya Pelestarian Tanaman Lokal. *Prosiding Seminar Nasional Simbiosis IV, Madiun*, 51–58.
- Nugraha (2017). Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), 91–96.
- Pahlani, E., Wijanti, T., & Rahman, I. T. (2022). Perbandingan Profil Ekstrak Etanol Buah, Daun, Dan Batang Tanaman Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L). *Jurnal Ilmiah JKA (Jurnal Kesehatan Aeromedika)*, 8(2), 33–42. <https://doi.org/10.58550/jka.v8i2.151>
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). *Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Hexan Fraction Mangosteen Peels (Garcinia mangostana L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 71. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i2.1936>
- Putri, A. R., Suhartinah, & Kartika Untari, M. (2023). Uji Aktivitas Krim Anti-Aging Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) pada Kulit Punggung Kelinci New Zealand yang dipapar Sinar UV-A. *Indonesian Journal*

- of *Pharmaceutical Education (e-Journal)*, 3(1), 1–15. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i1.18809>
- Putri, W.S., N.K. Warditiani., L.P.F. Larasanty. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, Vol. 2, No.4
- Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyanto, E. (2018). Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun, Daging, Buah dan Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *The 8 th University Research Colloquium 2018 Universitas Muhammadiyah Purwokerto*
- Safrudin, N., & Nurfitasari, F. (2018). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dari ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Jurnal Itekima*.
- Salasa, A. M., Ratnah, S., & Abdullah, T. (2021). Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.). *Media Farmasi*, 17(2), 162. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2292>
- Sofiana, R., Wiraguna, A. A. G. P., & Pangkahila, W. (2017). Krim ekstrak etanol Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sama efektifnya dengan krim hidrokuinon dalam mencegah peningkatan jumlah melanin kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar ultraviolet B. *Jurnal E-Biomedik*, 5(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.5.1.2017.15017>
- Wicaksono, B. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar Dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(3), 88–94. <https://doi.org/10.26874/jkkes.v16i3.187>
- Zaky, M., Junaidin, & Yulyianti, R. (2023). Potensi Krim Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacopolium*, 6(1), 1–12.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third-party material in this article are included in the article's Creative Commons license unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.