

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Biji Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl

*The Effect Of Long Storage On The Antioxidant Activity Of Ethyl Extract Nori Fruit Seed Acetate (*Morinda Citrifolia* L.) By Method 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*

Ananda Putri, Nurisyah, Ratnasari Dewi, Asyhari Asyikin
Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

*Korespondensi: nurisyah@poltekkes-mks.ac.id

ABSTRACT

Noni seeds (*Morinda citrifolia* L.) are a plant that has antioxidant compounds. Antioxidants can inhibit free radical reactions in the body. This research is a laboratory experimental study to determine the effect of storage time on the antioxidant activity of ethyl acetate extract of noni fruit seeds (*Morinda citrifolia* L.) at cold storage (2-8°C). Then the antioxidant activity was measured by adding DPPH solution and then the absorption was measured using a UV spectrophotometer. -Vis at a wavelength of 516 nm. The results showed that the IC₅₀ value of ethyl acetate extract of noni fruit seeds on days 0, 10, 20 and 30 respectively was 155.93 µg/ml; 167.48 µg/ml; 191.36 µg/ml; and 476.75 µg/ml. The percent decrease in antioxidant activity from day 0, 10, 20, day 30 respectively was 7.37%; 22.68%; and 205.60%. So it can be concluded that storage time influences the antioxidant activity of ethyl acetate extract of Noni fruit seeds (*Morinda citrifolia* L.).

Keywords : Antioxidants, DPPH, Noni seeds (*Morinda citrifolia* L.), Storage time.

ABSTRAK

Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan tanaman yang memiliki senyawa antioksidan. Antioksidan dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada penyimpanan suhu dingin (2-8°C) kemudian aktivitas antioksidan diukur dengan penambahan larutan DPPH yang selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat biji buah mengkudu pada hari ke-0, 10, 20, dan 30 berturut-turut sebesar 155,93 µg/ml; 167,48 µg/ml; 191,36 µg/ml; dan 476,75 µg/ml. Persen penurunan aktivitas antioksidan dari hari ke-0, 10, 20, hari ke-30 berturut-turut yaitu 7,37%; 22,68%; dan 205,60%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

Kata Kunci : Antioksidan, Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), DPPH, Lama Penyimpanan

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh dengan mekanisme kerja mendonorkan elektronnya terhadap senyawa oksidan. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas didalam tubuh dengan metabolisme secara alami. Tubuh manusia tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang berlebih, sehingga jika terpapar radikal bebas secara berlebihan tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Berdasarkan sumber perolehannya ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan (Kurniati, D. et al. 2020).

Buah mengkudu memiliki cita rasa yang kurang disukai karena rasanya yang masam dan memiliki aroma yang sangat menyengat. Tetapi dibalik rasa dan aromanya yang kurang sedap buah mengkudu memiliki banyak manfaat atau efek untuk kesehatan bagi manusia sebagai obat tekanan darah tinggi, beri-beri, melancarkan kencing, radang empedu, radang usus, disentri, sembelit, nyeri limpa, sakit

liver, kencing manis dan sakit pinggang (Sogandi & Rabima, 2019).

Mengkudu mengandung glikosida dan flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri, serta vitamin C sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi untuk menunda, memperlambat, dan mencegah proses terjadinya oksidasi lemak. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan untuk pengobatan adalah tanaman mengkudu. Semua bagian dari tanaman mengkudu dapat digunakan untuk terapi pengobatan. Adanya senyawa flavonoid, fenol ataupun polifenol dalam tanaman mengkudu, menjadikan tanaman mengkudu sebagai salah satu sumber antioksidan. (Aini, Q. 2022).

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar, memiliki toksisitas rendah, dan mudah diuapkan dengan rumus $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas rendah. Berdasarkan hasil penelitian Asyikin, A. & Nurisyah (2023), menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol biji mengkudu sebesar 557,02 ppm, fraksi etil asetat biji mengkudu sebesar 43,18 ppm dan fraksi n-heksan sebesar 1403,01 ppm. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etil asetat sebagai hasil fraksi ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan paling kuat.

Stabilitas aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, oksigen, cahaya, suhu dan lama penyimpanan. Lama penyimpanan proses pengolahan dapat mempengaruhi degradasi dari senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan. Berdasarkan penelitian Khotimah, H. et al. (2018) pada ekstrak daun miana yang disimpan dengan suhu dingin mengalami peningkatan aktivitas dan setelah dua minggu penyimpanan aktivitas antioksidan mulai mengalami penurunan kandungan total yang gradual. Kandungan bahan aktif yang terdapat pada tanaman sangat dipengaruhi oleh proses penyimpanan. Penyimpanan ekstrak yang terlalu lama dapat menurunkan mutu karena dapat merusak komponen-komponen yang terdapat didalamnya dan terjadi penguraian pada saat penyimpanan.

Suhu penyimpanan maupun suhu proses pengolahan juga dapat mempengaruhi degradasi dari senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan, salah satu contohnya yaitu pada ekstrak bunga rosella mengalami penurunan aktivitas antioksidan pada penyimpanan suhu kamar dan pada ekstrak beras ketan juga mengalami penurunan stabilitas antioksidan pada penyimpanan pada suhu kamar dengan kondisi terkena paparan sinar matahari dimana penyimpanan pada suhu dingin memberikan kestabilan yang lebih baik Khotimah, H. et al. (2018).

Prinsip dasar pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH yaitu dengan menggunakan sampel yang mengandung senyawa bersifat antioksidan yang dapat meredam radikal bebas (DPPH). Uji DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) adalah suatu metode kolorimetri yang cepat dan efektif untuk memperkirakan aktivitas antiradikal. Uji kimia ini telah digunakan secara luas pada penelitian fitokimia untuk menguji aktivitas penangkal radikal dari ekstrak atau senyawa murni. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode spektrofotometri, senyawa DPPH berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang 515 - 520 nm. Suatu senyawa apabila dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu menjadi kuning pucat. Antioksidan akan mendonorkan proton atau hidrogen kepada DPPH dan selanjutnya akan membentuk radikal baru yang bersifat stabil atau tidak reaktif (Maulida, N., 2021).

Berdasarkan dari uraian tersebut, maka peneliti tertarik ingin melakukan penelitian yang ditujukan untuk melihat aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat biji buah mengkudu dengan membandingkan lama penyimpanannya menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* pada suhu dingin. Hal ini diupayakan agar diperoleh aktivitas antioksidan yang optimal.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini merupakan penelitian eksprimen laboratorium untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji mengkudu dengan metode *1,1-difenil-2-picrylhydrazyl* menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Terpadu Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar. Pada Oktober 2023 sampai Februari 2024.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rangkaian alat soxhlet, *waterbath*, spektrofotometer (*Thermo Scientific Genesys UV/Vis*), lemari pendingin, vial, aluminium foil, alat-alat gelas, dan kertas saring. Bahan-bahan yang digunakan yaitu ekstrak biji buah mengkudu (*Morinda*

citrifolia L.), Etil Asetat, Etanol 96%, Etanol p.a, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), kertas saring, larutan HCl pekat, serbuk magnesium, pereaksi mayer, pereaksi wagner, larutan asam sulfat pekat, larutan FeCl₃ dan Aquades.

Langkah-Langkah Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah biji buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diperoleh di kota Makassar. Biji buah mengkudu dikumpulkan dari buah yang telah matang atau hampir matang (sudah berwarna putih). Buah yang berwarna hijau dihindari karena benih mungkin belum sepenuhnya berkembang (Jahurul, M. H. A., et al. 2022). Sampel yang gunakan sebanyak 1 kg biji mengkudu dikeluarkan dari dagingnya secara manual dan dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan dibawa sinar matahari selama kurang lebih 3 hari, disortasi kering, kemudian dihaluskan, lalu disaring dengan ayakan 20 untuk mendapatkan serbuknya.

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali, ekstraksi yang pertama simplisia biji buah mengkudu sebanyak 188,89 gram dibungkus menggunakan kertas saring lalu dimasukkan kedalam tabung soklet, ditambah 500 ml etil asetat dan dihubungkan dengan labu didih dan kondensor. Proses ekstraksi berlangsung selama 4-6 jam pada suhu 60 °C. Proses ekstraksi dilakukan sampai semua senyawa yang terkandung dalam biji buah mengkudu habis yang ditandai dengan cairan mengkudu sudah tidak berwarna/jernih (Rosita et al., 2019). Ekstrak sokletasi yang diperoleh didiamkan sampai amilum yang terkandung pada biji mengkudu mengendap, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu ekstrak dipekatkan menggunakan waterbath sampai didapatkan ekstrak kental. Proses ekstraksi yang kedua dilakukan terhadap 139,9 gram biji mengkudu dengan pelarut yang sama etil asetat 500 ml. Jadi total simplisia yang diekstraksi yaitu 328,79 gram dan pelarut etil asetat sebanyak 1000 ml. Kemudian Rendemen yang didapatkan disimpan menggunakan cawan porselen yang ditutup aluminium foil.

Analisis Fitokimia

Uji Flavonoid

Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid, ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol yang 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). Perubahan warna menjadi kuning, jingga, merah, atau ungu menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid (Pahlani et al., 2020).

Uji Alkaloid

Untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid, ekstrak terlebih dahulu dilarutkan menggunakan 1 ml kloroform lalu ditambahkan pereaksi mayer dan pereaksi wagner tetes demi tetes hingga terbentuk endapan putih untuk pereaksi mayer dan warna jingga atau coklat untuk pereaksi wagner yang 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 dengan aquadest secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambah dengan 10 ml air hangat, lalu dikocok kuat. Hasil positif dengan menunjukkan buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm kemudian pada penambahan 1 tetes HCl 1%, buih atau busa tidak hilang (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 terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol yang kemudian ditambahkan dengan aquadest secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat sebanyak 1ml dari dinding tabung. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin hitam di antara larutan ekstrak dan H₂SO₄ pekat

1 ml ekstrak + 1 ml H₂SO₄ pekat

Uji Tannin

Untuk identifikasi senyawa saponin, ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol yang kemudian ditambahkan dengan aquadest secukupnya. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Perhatikan warna yang terjadi, warna biru, hijau, hitam atau hitam kebiruan menunjukkan adanya tanin

1 ml ekstrak + 3 tetes FeCl₃.

Stabilitas Lama Penyimpanan

Ekstrak disimpan pada kondisi penyimpanan ekstrak suhu dingin berdasarkan farmakope edisi IV (lemari pendingin 2-8°C) selama 1 bulan kemudian pengambilan sampling dilakukan pada hari ke- 0, 10, 20, dan 30 hari.

Pengujian Antioksidan

Pembuatan Larutan Stok DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dalam 250 mL ethanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 40 ppm ($\mu\text{g/ml}$).

Pembuatan Larutan Blanko

Etanol p.a (pro analisa) dipipet sebanyak 1,0 ml kemudian ditambahkan 4,0 ml larutan DPPH 40 ppm ($\mu\text{g/ml}$), ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil*, lalu dikocok sampai homogen, inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Skrining panjang gelombang dilakukan dengan menggunakan larutan blanko pada rentang panjang gelombang 500nm – 600nm (Qulub et al., 2018).

Pembuatan Larutan Sampel

Pada pengujian hari ke-0 ekstrak etil asetat biji buah mengkudu ditimbang sebanyak 0,05 gram ke dalam labu ukur 10 ml kemudian dilarutkan dengan 1 ml etil asetat, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit etanol hingga ekstrak larut sempurna, kemudian dicukupkan hingga tanda menggunakan etanol 96% dan didapatkan konsentrasi larutan 5000 $\mu\text{g/ml}$ (ppm). Diukur 2,5 ml larutan tersebut ke dalam labu ukur 25 ml, dicukupkan dengan etanol hingga tanda lalu dihomogenkan dan didapatkan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ (ppm). setelah itu, diukur larutan tersebut masing-masing 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; dan 5,0 ml ke dalam labu ukur 10 ml lalu dicukupkan dengan etanol hingga tanda dan didapatkan konsentrasi berturut-turut 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, dan 250 $\mu\text{g/ml}$. larutan sampel disimpan dalam vial yang terbungkus aluminium foil. Kemudian perlakuan yang sama pada pengujian hari ke-10 dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, dan 250 $\mu\text{g/ml}$ dan pengujian hari ke-20 konsentrasi (100 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, dan 250 $\mu\text{g/ml}$) serta pengujian hari ke-30 konsentrasi (300 $\mu\text{g/ml}$, 450 $\mu\text{g/ml}$, 600 $\mu\text{g/ml}$, dan 750 $\mu\text{g/ml}$).

Pengujian Sampel

Sebanyak 1,0 ml masing-masing konsentrasi larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 4,0 ml DPPH 40 ppm, ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil*, dikocok hingga homogen lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu, diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum.

Analisis Data

Data hasil absorbansi dari masing-masing sampel digunakan untuk mencari % inhibisinya menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

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

A_{sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Setelah didapatkan persentase 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 IC_{50} adalah $50 = ax + b$, dimana harga x adalah IC_{50} dengan satuan $\mu\text{g/ml}$ (Asrina et al., 2021).

HASIL

Berdasarkan perhitungan, didapatkan rendemen ekstrak etil asetat biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah 7,46%, ekstrak etil asetat 7,59%, dan ekstrak n-heksana 5,52%, sesuai table berikut:

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

Sampel	Berat Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen (%)
Biji Buah Mengkudu	328,79 gram	74,55 gram	7, 85 %

Sumber : Data Primer

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, Ekstrak etanol dan etil asetat 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 Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Metabolit Sekunder	Reagen	Hasil
Uji Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	+
Uji Alkaloid	Kloroform + Mayer, Wagner	+
Uji Saponin	Aquadest + HCl 1 %	-
Uji Steroid	H ₂ SO ₄	+
Uji Tanin	FeCl ₃ 10 %	+

Sumber : Data Primer

Keterangan :

(+) Positif : Mengandung golongan senyawa

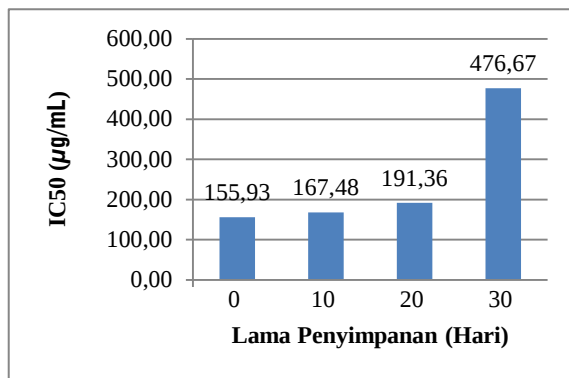
(-) Negatif : Tidak Mengandung golongan senyawa

Berdasarkan perhitungan nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat biji buah mengkudu pada hari ke-0, 10, 20, dan 30 berturut-turut sebesar 155,93 µg/ml; 167,48 µg/ml; 191,36 µg/ml; dan 476,75 µg/ml.

Tabel 3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Lama Penyimpanan (Hari)	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Persamaan Garis Regresi Linier	IC ₅₀
0	50	27,59	y = 0,1361x + 28,778 R ² = 0,7364	155,93
	100	49,02		
	150	54,89		
	200	56,63		
	250	57,81		
10	50	19,51	y = 0,199x + 16,671 R ² = 0,8131	167,48
	100	38,18		
	150	57,21		
	200	58,68		
	250	59,00		
20	100	48,33	y = 0,014x + 47,321 R ² = 0,8244	191,36
	150	49,88		
	200	50,37		
	250	50,51		
30	300	26,78	y = 0,0951x - 4,6611 R ² = 0,9617	476,67
	450	35,65		
	600	48,57		
	750	70,01		

Sumber : Data Pribadi



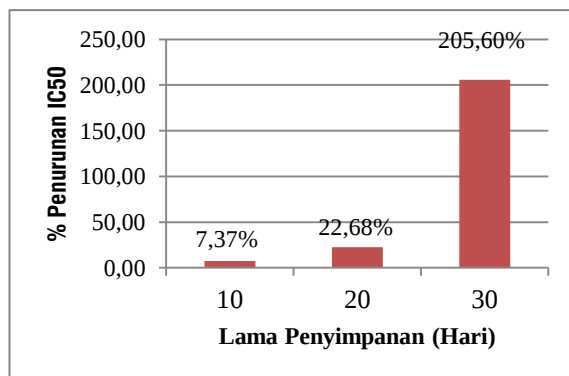
Gambar 1 Grafik Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap nilai IC₅₀ µg/ml

Berdasarkan hasil perhitungan persen penurunan aktivitas antioksidan dari hari ke-0, 10, 20, hari ke-30 berturut-turut yaitu 7,37%; 22,68%; dan 205,60%.

Tabel 4. Tabel Persen Penurunan IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Lama Penyimpanan	IC ₅₀	% Penurunan
0	155,93	Kontrol
10	167,48	7.37
20	191,36	22,68
30	476,67	205,60

Sumber : Data Pribadi



Gambar 4.2 Grafik Persen Penurunan nilai IC₅₀ µg/ml

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada suhu dingin (2-8 °C) dengan menggunakan metode 1,1- difenil-2- picrylhydrazyl. Pembuatan ekstrak biji buah mengkudu dilakukan dengan menggunakan metode sokletasi. langkah pertama yang dilakukan pada penelitian ini yaitu menyiapkan sampel biji buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). setelah didapatkan simplisia bijinya kemudian diayak menggunakan pengayak nomor 20 untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan simplisia. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah ukuran partikel, semakin kecil ukuran partikel simplisia maka semakin luas permukaannya sehingga mempermudah pelarut untuk berpenetrasi kedalam bahan yang akan diekstrak (Rahmawati, 2022).

Serbuk biji buah mengkudu sebanyak 328,79 gram dibungkus dengan kertas saring, dimasukkan

dalam alat soxhlet ditambah 1000 ml etil asetat dan dihubungkan dengan pendingin balik. Proses ekstraksi dilakukan sampai sari yang terdapat dalam biji buah mengkudu habis (ditandai dengan cairan mengkudu yang tidak berwarna/ jernih). Ekstrak soxhletasi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *waterbath* sampai didapatkan ekstrak kental. Rendemen yang didapatkan disimpan menggunakan cawan porselen yang ditutup aluminium foil.

Setelah itu dilakukan perhitungan persentase rendemen ekstrak dengan cara berat ekstrak kental yang dihasilkan dibagi dengan berat simplisia yang diekstraksi kemudian dikali dengan 100%. Hasil rendemen dari suatu sampel diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Semakin tinggi persentase rendemen maka semakin banyak ekstrak yang dihasilkan (Zaky et al., 2023). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan rendemen etil asetat biji buah mengkudu sebesar 7,85%. Hasil tersebut belum sesuai dengan persyaratan rendemen berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak boleh kurang dari 10%. Besar kecilnya rendemen ekstrak yang dihasilkan tergantung pada keefektifan dalam proses ekstraksi, hal tersebut bisa saja dipengaruhi oleh ukuran sampel simplisia hasil ayakan, suhu ekstraksi, pengadukan, dan pelarut.

Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia untuk membuktikan dan mengetahui lebih jelas senyawa apa saja yang terkandung didalam ekstrak biji buah mengkudu. Dilakukan identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin dengan menggunakan reaksi warna. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, ekstrak etil asetat biji mengkudu mengandung flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin (hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji buah mengkudu mengandung senyawa antioksidan.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian antioksidan terhadap ekstrak etil asetat biji buah mengkudu pada lama penyimpanan yang disimpan pada suhu dingin (2-8°C). Pemilihan penyimpanan suhu dingin dikarenakan aktivitas antioksidan pada ekstrak menunjukkan pada penyimpanan suhu rendah mampu meredam aktivitas radikal bebas yang lebih baik dibandingkan pada penyimpanan suhu tinggi. Kemudian metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah secara spektrofotometer UV-Vis dengan metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dalam waktu yang singkat. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu menjadi kuning pucat. Semakin tinggi antioksidannya maka warna ungu dari DPPH akan semakin hilang dan nilai serapan sampel semakin kecil yang menunjukkan larutan DPPH yang tersisa semakin sedikit (Adhayanti & Ahmad, 2021).

Dalam pengujian antioksidan larutan DPPH yang direaksikan dengan sampel ditempatkan di dalam vial yang terbungkus aluminium foil, lalu dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Penyimpanan larutan sampel dalam kondisi terbungkus bertujuan untuk menghindari terpaparnya larutan DPPH dengan cahaya. Hal tersebut dikarenakan DPPH sensitif terhadap cahaya dan dapat mengurangi keakuratan proses pengujian antioksidan. Sedangkan proses inkubasi selama 30 menit bertujuan untuk memberikan waktu reaksi pada senyawa antioksidan dalam sampel untuk mereduksi senyawa radikal DPPH (Setyawijaya, G. N., 2020).

Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan berbeda-beda, hal tersebut dikarenakan pada saat setelah dilakukan orientasi pada konsentrasi tersebut sampel bisa mereduksi 50% dari DPPH.

Nilai absorbansi yang diperoleh ditentukan nilai persentase penghambatan radikal DPPH (% inhibisi). Kemudian dari nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Persen inhibisi adalah kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji. Kenaikan persen inhibisi dipengaruhi oleh penurunan nilai absorbansi DPPH yang dihasilkan sampel. Hasil IC_{50} yang diperoleh pada pengukuran aktivitas antioksidan yaitu pada hari ke- 0, 10, 20, dan 30 berturut-turut sebesar 155,93 µg/ml; 167,48 µg/ml; 191,36 µg/ml; dan 476,67 µg/ml, ditunjukkan pada Tabel IV.3.

Penurunan aktivitas antioksidan yang terjadi selama penyimpanan dapat dipengaruhi oleh jumlah senyawa antioksidan yang semakin berkurang. Seperti yang diketahui salah satu yang terkandung dalam ekstrak etil asetat biji mengkudu adalah flavonoid dan tanin. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jahurul (2022), kandungan tanin dan flavonoid biji buah mengkudu terbilang tinggi dan merupakan salah satu senyawa alami dengan sifat antioksidan yang kuat. Menurut Peloo, T. et al. (2020), menyatakan bahwa Lama Penyimpanan ekstrak daun Gedi Merah berpengaruh terhadap kandungan total flavonoid. Penyimpanan ekstrak hari ke-10 dan hari ke-20 mengalami penurunan kandungan total yang gradual. Penurunan kandungan total flavonoid selama penyimpanan berkaitan dengan proses evaporasi dimana glikosida terhidrolisis. Saat glikosida terhidrolisis maka terjadi pemecahan molekul yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan ekstrak.

Berdasarkan tabel hasil pengujian aktivitas antioksidan diatas (tabel 3), dihasilkan nilai IC_{50}

ekstrak etil asetat biji buah mengkudu pada hari ke-0, 10, 20, dan 30 berturut-turut sebesar 155,93 µg/ml; 167,48 µg/ml; 191,36 µg/ml; dan 476,75 µg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan mengalami penurunan pada lama penyimpanan 10 hari, 20 hari dan menurun drastis pada 30 hari. Persen penurunan aktivitas antioksidan dari hari ke-0 hingga hari ke-30 berturut-turut yaitu 7,37%; 22,68%; dan 205,60%. Persen penurunan ini dihitung terhadap nilai IC₅₀ sebelum penyimpanan (hari ke-0). Semakin lama disimpan terjadi peningkatan persen penurunan aktivitas antioksidan ekstrak yang artinya aktivitas antioksidan semakin menurun seiring dengan lama ekstrak disimpan. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Khotimah, H. et al. (2018) yang menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak daun miana selama penyimpanan suhu sejuk semakin stabil dan meningkat. Kemudian mulai mengalami penurunan aktivitas antioksidan pada hari ke- 14 hal ini disebabkan karena ekstrak sudah mulai mengalami penurunan aktivitas antioksidan setelah penyimpanan selama dua minggu dimana senyawa metabolit sekunder yang aktif sebagai antioksidan mulai tidak stabil.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Kemudian didapatkan persen penurunan aktivitas antioksidan dari hari ke-0, 10, 20, hari ke-30 berturut-turut yaitu 7,37%; 22,68%; dan 205,60%.

SARAN

Untuk memperoleh aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji buah mengkudu yang optimal sebaiknya ekstrak tidak disimpan terlalu lama atau digunakan sesaat setelah ekstrak kental dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada dosen dan asisten laboratorium kampus Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar atas bimbingan dan dukungan untuk penelitian ini. Tak lupa pula kepada Ira dan Devi yang banyak membantu selama kegiatan penelitian.

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>
- Aini, Q., (2022). "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)". Universitas dr. Soebandi Jember.
- 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>
- Maulida, N. (2021). Analisis Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Batang Murbei (*Morus Alba* L.). Universitas Bhakti Kencana. <https://repository.bku.ac.id/xmlui/handle/123456789/3610>
- 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>
- Khotimah, H., Agustina, R., & Ardana, M. (2018). "Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)". Proceeding of Mulawarman PharmaceuticalsConferences, 8, 1–7. <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.295>
- 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).
- 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.
- 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>

- Peloan, T., Kaempe, H. (2020). "Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Daun Gedi Merah Terhadap Kandungan Total Flavonoid". Pharmacy Medical Journal Vol.3 No.2, 2020.
<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pmj/article/view/32877>
- Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyo, E. (2018). The 8th University Research Colloquium 2018 Universitas Muhammadiyah Purwokerto Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun , Daging Differences Of Activities Antioxidant Of Leaf Extracts Ethanol , Fruit Meat , And Mengkudu Seeds (Morinda Citrif. 454–462.
- Rahmawati, A. F. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. 8.5.2017, 2003–2005.
- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I., & Edison, E. (2019). Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi dengan Sokletasi pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*)(Studi Pendahuluan terhadap Proses Pembuatan Sediaan Obat Penyembuhan Luka). *Dentin*, 1(1).
- Setyawijaya, G. N. (2020). *Stabilitas Antioksidan Dan Fenolik Pada Proses Preparasi Minuman Herbal Daun Pegagan (Centella asiatica L. Urban)* (Doctoral dissertation, UNIKA SOEGIJAPRANATA SEMARANG). <http://repository.unika.ac.id/24955/>
- 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>
- Sogandi, S., & Rabima, R. (2019). "Identification of Active Compound Extracts from Noni Fruit (*Morinda citrifolia L.*) and Its Potential as Antioxidants". *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 22(5), 206–212. <https://doi.org/10.14710/jksa.22.5.206-212>
- Zaky, M., Junaidin, & Yulyanti, R. (2023). Potensi Krim Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L. .*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacopolium*, 6(1), 1–12.