

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N- Heksana Biji Mengkudu (*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*

Irawati, Nurisyah, Alfrida Monica Salasa, Asyhari Asyikin
Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

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

ABSTRACT

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 using a UV-Vis Spectrophotometer at a wavelength of 516 nm. The results showed that the IC_{50} value of the ethanol extract of noni fruit seeds was 507.75 ppm and the IC_{50} 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.

Keywords: Antioxidants, Noni Seeds (*Morinda citrifolia L.*), DPPH

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meredam dampak buruk radikal bebas. Biji mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) mengandung senyawa tersebut sebagai metabolit sekundernya. Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksana, biji mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dengan metode 1,1- difenil-2- picrylhydrazyl menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol biji mengkudu adalah 507,75 ppm dan nilai IC_{50} 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 kategori lemah dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetatnya termasuk kategori sangat kuat. Larutan pengekstrak yang menghasilkan ekstrak biji mengkudu dengan aktivitas antioksidan paling tinggi adalah pelarut etil asetat.

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

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 buruk dari radikal bebas adalah antioksidan (Putri et al 2023). Antioksidan adalah senyawa yang mampu mengurangi, menghambat, atau mencegah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal dan oksidan dengan cara memberikan elektron pada molekul radikal untuk membantunya menjadi molekul yang lebih stabil dan menghentikan reaksi berantai (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).

Kekhawatiran akan 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 kebanyakan memilih kembali ke alam (*Back to Nature*) dan penelitian-penelitian yang terbukti sejalan dengan dunia medis (Sakka & Muin, 2022). Salah satu tanaman yang banyak dikaji aktivitas antioksidannya adalah tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

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, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji mengkudu menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan tertinggi dibanding ekstrak etanol buah dan daun mengkudu. Selain itu, dalam penelitian lain juga didapatkan bahwa krim ekstrak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dapat menekan peningkatan jumlah melanin kulit marmot (*Cavia porcellus*) yang terkena sinar UVB serta krim ekstrak biji mengkudu 4% (*Morinda citrifolia* L.) memiliki efektivitas yang sama dengan krim hidrokinon 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 etil asetat dan n-heksana untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak biji mengkudu berdasarkan tingkat kepolaran senyawa pengekstraknya. Berdasarkan hal tersebut, dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-heksana Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl” untuk melihat ekstrak dengan jenis pelarut yang mana yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana biji mengkudu dengan metode 1,1- difenil-2-picrylhydrazyl menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar. Pada September 2023 sampai Januari 2024.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rangkaian alat soxhlet, *Waterbath*, alat-alat gelas, dan Spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak 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 yang digunakan adalah biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang 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 dikeluarkan dari dagingnya secara manual dan dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama kurang lebih 3 hari, disortasi kering, kemudian dihaluskan, lalu disaring dengan ayakan untuk mendapatkan serbuknya.

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. Proses ekstraksi berlangsung selama 4-6 jam pada suhu 60 °C. Proses ekstraksi dilakukan sampai semua senyawa yang terkandung dalam biji mengkudu habis yang ditandai dengan cairan mengkudu sudah tidak berwarna/jernih. 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 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 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., 2022).

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 (Safruddin & Nurfitasari, 2018).

1 ml ekstrak + 1 ml H₂SO₄ pekat

Uji Tannin

Untuk identifikasi senyawa tanin, 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 (Yanty et al., 2019).

1 ml ekstrak + 3 tetes FeCl₃.

Pengujian Antioksidan

Pembuatan Larutan Stok DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dalam 250 mL ethanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 40 ppm.

Pembuatan Larutan Blanko

Etanol p.a (pro analisa) dipipet sebanyak 1,0 ml kemudian ditambahkan 4,0 ml larutan DPPH 40 ppm, 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 Ekstrak Etanol Biji Mengkudu

Ditimbang 0,0507 gram ekstrak kental dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dengan etanol 96% lalu dicukupkan hingga tanda dan diperoleh konsentrasi 5000 ppm. Diukur 5,0 ml larutan tersebut lalu dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml, dicukupkan volumenya hingga tanda dan diperoleh konsentrasi 500 ppm. dilakukan pengenceran dengan cara diukur larutan tersebut masing-masing 2,0 ml; 4,0 ml; 6,0 ml; 8,0 ml; dan 10,0 ml kedalam labu ukur 10 ml lalu dicukupkan dengan etanol 96% hingga tanda dan diperoleh konsentrasi berturut-turut 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.

Sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil* (Salasa et al., 2021).

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etil Asetat Biji Mengkudu

Ditimbang ekstrak etil asetat biji mengkudu sebanyak 0,0508 gram ke dalam labu ukur 10 ml kemudian dilarutkan dengan 1 ml etil asetat, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit etanol 96% hingga ekstrak larut sempurna, kemudian dicukupkan hingga tanda menggunakan etanol 96% dan didapatkan konsentrasi larutan 5000 ppm ($\mu\text{g/ml}$). Diukur 2,5 ml larutan tersebut ke dalam labu ukur 25 ml, dicukupkan dengan etanol hingga tanda lalu dihomogenkan dan diapatkan konsentrasi 500 ppm. Kemudian diukur 5 ml larutan tersebut kedalam labu ukur 25 ml lalu dicukupkan hingga tanda dan didapatkan konsentrasi 100 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 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. larutan sampel disimpan dalam vial yang terbungkus aluminium foil.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak N-heksana Biji Mengkudu

Ditimbang 0,2503 gram ekstrak kedalam labu ukur 10 ml kemudian dilarutkan dengan etanol 96% lalu dicukupkan hingga tanda dan didapatkan konsentrasi larutan sebesar 25.000 ppm. larutan sampel disimpan dalam vial yang terbungkus aluminium foil.

Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Sebanyak 10 mg baku pembanding Vitamin C dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml kemudian dilarutkan dan dicukupkan dengan etanol 96% hingga tanda dan didapatkan konsentrasi larutan 100 ppm. Setelah itu diukur larutan masing-masing larutan tersebut sebanyak 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml kedalam labu ukur 10 ml lalu dicukupkan menggunakan etanol 96% hingga tanda kemudian dihomogenkan dan didapatkan larutan dengan konsentrasi berturut-turut 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm. Sampel hasil pengenceran ditempatkan pada vial yang dibungkus *aluminium foil* (Indah et al., 2021).

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. Pengujian pembanding vitamin C dilakukan dengan prosedur yang sama (Adhayanti & Ahmad, 2021).

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 ppm (Asrina et al., 2021).

HASIL

Berdasarkan perhitungan, didapatkan rendemen ekstrak etanol 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 Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Sampel	Jenis Pelarut	Metode Ekstraksi	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen Ekstrak
Biji Mengkudu	Etanol 96%	Sokletasi	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%

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 table berikut.

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

Metabolit sekunder	Jenis Pelarut		
	Etanol 96%	Etil Asetat	N-Heksana
Flavonoid	+	+	-
Alkaloid	+	+	+
Steroid	+	+	+
Tanin	+	+	-
Saponin	+	-	-

Sumber: Data primer

Keterangan:

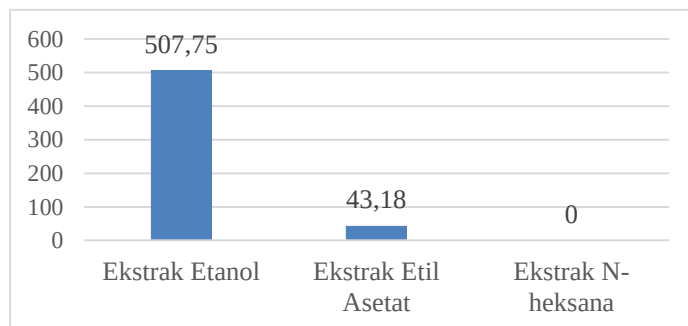
- + : Terdapat kandungan senyawa
- : Tidak terdapat kandungan senyawa

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		

Sumber: Data primer



Gambar 4.1 Grafik nilai IC_{50} (ppm) ekstrak Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasi laboratorium untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana, biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan metode 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl. Pembuatan ekstrak biji mengkudu dilakukan dengan menggunakan metode sokletasi. Sokletasi adalah suatu metode pemisahan komponen yang terdapat dalam sampel padat dengan cara ekstraksi berulang-ulang dengan pelarut yang sama, sehingga semua komponen yang diinginkan dalam sampel terisolasi dengan sempurna. Alat yang digunakan adalah seperangkat alat sokletasi yang terdiri atas labu didih, tabung soklet, dan kondensor (Harefa, 2023).

Tahap awal yang dilakukan pada penelitian ini yaitu menyiapkan sampel biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Buah mengkudu matang yang ditandai dengan warna putih atau tekstur yang sudah lembek dipetik dari pohonnya kemudian diambil biji dengan cara dipisahkan dari daging buahnya sebelum dikeringkan. Setelah kering, simplisia dihaluskan 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). Proses ekstraksi dilakukan sampai semua senyawa yang terkandung dalam biji mengkudu habis yang ditandai dengan cairan mengkudu sudah tidak berwarna/jernih (Rosita et al., 2019).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan rendemen ekstrak etanol biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebesar 7,46%, ekstrak etil asetat biji mengkudu sebesar 7,59%, dan ekstrak n-heksana biji mengkudu sebesar 5,52%. 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). Besar kecilnya rendemen ekstrak yang dihasilkan tergantung pada keefektifan dalam proses ekstraksi, hal tersebut bisa saja dipengaruhi oleh ukuran sampel waktu ekstraksi, suhu, pengadukan, dan pelarut.

Terdapat perbedaan jumlah rendemen yang dihasilkan oleh tiga jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi biji mengkudu. Pelarut etanol menghasilkan ekstrak yang lebih banyak dibanding dengan pelarut n-heksana, dan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak yang lebih banyak dibanding dengan pelarut etanol. Hal tersebut erat kaitannya dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam simplisia. Pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Islami, 2021). Rendemen ekstrak etil asetat yang lebih besar dari kedua jenis ekstrak lainnya dikarenakan kemampuan senyawa ini untuk menarik senyawa polar maupun senyawa non-polar (Wicaksono, 2021).

Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung didalam ekstrak biji mengkudu. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, ekstrak etanol dan etil asetat biji mengkudu mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, sedangkan saponin hanya terkandung di dalam ekstrak etanol saja. Ekstrak n-heksana biji mengkudu hanya mengandung senyawa steroid dan alkaloid. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Syaiful Qulub pada tahun 2019 yang menyatakan bahwa biji mengkudu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin. Namun pada penelitian ini juga didapatkan senyawa steroid dan saponin. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji mengkudu mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jahurul pada tahun 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 mengetahui ekstrak yang menghasilkan aktivitas antioksidan paling tinggi sehingga bisa menjadi bahan pertimbangan dalam menentukan jenis pelarut yang lebih baik untuk mengekstraksi senyawa antioksidan biji mengkudu. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dalam waktu yang singkat (Adhayanti & Ahmad, 2021).

Masing-masing sampel diencerkan dengan variasi konsentrasi. Tiap 1 ml larutan sampel dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 4 ml DPPH 40 ppm. 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). Setelah itu diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (516 nm). Prosedur yang sama dilakukan terhadap pembanding Vitamin C. Data serapan

sampel kemudian digunakan untuk menghitung persen inhibisi sampel. 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. 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).

Berdasarkan tabel hasil pengujian aktivitas antioksidan diatas, dihasilkan nilai IC_{50} ekstrak etanol biji mengkudu sebesar 507,75 ppm, ekstrak etil asetat biji mengkudu sebesar 43,18 ppm dan aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana termasuk kategori tidak aktif. Aktivitas antioksidan ekstrak dengan pelarut etanol termasuk kategori lemah karena nilai IC_{50} yang dihasilkan diatas 150 ppm. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji mengkudu termasuk kategori sangat kuat karena berada dibawah angka 50 ppm. Jika dibandingkan, pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanol biji mengkudu. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (E, Nnaoma et al., 2023) bahwa ekstrak biji mengkudu memiliki banyak metabolit sekunder yang penting dan memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat. Dari nilai IC_{50} yang diperoleh dapat dijelaskan pula bahwa vitamin C sebagai pembanding atau control positif termasuk antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini. Hal tersebut bisa dilihat dari nilai IC_{50} untuk vitamin C yang diperoleh yaitu 8,17 ppm dan termasuk golongan antioksidan sangat kuat.

Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang paling baik untuk mengekstraksi biji mengkudu. Hal tersebut dapat dilihat dari rendemen yang dihasilkan ekstrak etil asetat adalah yang paling tinggi dibanding dua jenis ekstrak yang lain. 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. Selain itu, aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana tergolong tidak aktif diduga karena adanya senyawa pengganggu seperti protein, lemak dan senyawa lainnya yang dapat terlarut dalam pelarut non-polar seperti pelarut n-heksana, sehingga menghalangi proses penangkapan radikal bebas (Pratiwi et al., 2016). Sedangkan ekstrak etanol dan etil asetat mengandung senyawa yang lebih banyak dimana ekstrak etanol mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, serta saponin, dan ekstrak etil asetat juga mengandung senyawa tersebut kecuali saponin. Senyawa-senyawa ini yang menyebabkan kuatnya aktivitas antioksidan pada biji mengkudu. Firdayani & Winarni Agustini (2015) menyatakan bahwa senyawa utama paling kuat yang berperan aktif sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenol misalnya flavonoid dan tanin. Manfaat flavonoid yaitu untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, dan anti-inflamasi.

Jenis senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol lebih banyak dibanding ekstrak etil asetat 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 isoflavan, flavanon, flavon, 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.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol biji mengkudu adalah 507,75 ppm dan nilai IC_{50} 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 kategori lemah dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetatnya termasuk kategori sangat kuat. Larutan pengekstrak 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.

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 Nanda 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>
- 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. *Zifatama Jawara*.
- Harefa, S. A. D. (2023). Efek Antimikroba Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *Eschericia coli* dan *Salmonella Typhi* dengan Metode Difusi Cakram. *Revista Brasileira de Linguística Aplicada*, 5(1), 1689–1699. <https://revistas.ufrj.br/index.php/rce/article/download/1659/1508%0Ahttp://hipatiapress.com/hpiournals/index.php/qre/article/view/1348%5Cnhttp://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09500799708666915%5Cnhttps://mckinseysociety.com/downloads/reports/Educa>
- 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>
- Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyanto, E. (2018). *The 8 th 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., & Edyson, 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).
- 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*.
- Sakka, L., & Muin, R. (2022). Identifikasi Kandungan Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1), 92–100. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i1.13518>
- 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.