

## Testing Antioxidant Activity and Total Flavonoid Levels in Ethanol Extracts of Melinjo Seeds and Skin (*Gnetum gnemon* L.) Using DPPH Method

Hasriyani<sup>1</sup> , Wahid Sabaan<sup>2</sup>, Ridwan<sup>3</sup>, Nura Ali Dahbul<sup>4</sup>, Evi Kasari<sup>3</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup> Department of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Kudus, Indonesia

 [hasriyani@umkudus.ac.id](mailto:hasriyani@umkudus.ac.id)

### Abstract

One of the plants known to have antioxidant activity is melinjo plant (*Gnetum gnemon* L.). In the melinjo plant (*Gnetum gnemon* L.) there are various kinds of secondary metabolites. These compounds can function as ingredients in traditional medicine. These secondary metabolites include alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. This study aims to determine the antioxidant activity and total flavonoid levels in the seeds and skins of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) using the DPPH method. The method used in this research is a quantitative approach. Quantitative analysis was to determine the antioxidant activity test and total flavonoid content in the ethanol extract of the seeds and skin of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results showed that the extra ethanol for the seeds and skin of melinjo had good antioxidant activity. The results of the quantitative antioxidant test obtained the IC<sub>50</sub> value in the ethanol extract of melinjo seeds 0.043 g/mL and melinjo peel 0.121 g/mL. For the results of the quantitative test the levels of flavonoid compounds in melinjo seeds were 1.26 mgQE/gram while in melinjo skin the levels were 1.37 mgQE/gram. The melinjo seed and skin extracts showed antioxidant activity which had a very strong category. Melinjo peel extract had higher total flavonoid content than melinjo seed extract.

**Keywords:** Melinjo Seeds, Melinjo Peel, Ethanol Extract, Antioxidants, Flavonoids, DPPH

## Uji Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Biji dan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan Metode DPPH

### Abstrak

Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Pada tumbuhan melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terdapat berbagai macam senyawa metabolit sekunder. Senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai bahan obat tradisional. Senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan metode DPPH. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pendekatan kuantitatif. Analisis kuantitatif yaitu untuk mengetahui uji aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstra etanol untuk biji dan kulit melinjo memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Hasil uji kuantitatif antioksidan yang diperoleh nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol biji melinjo 0,043 µg/mL dan kulit melinjo 0,121 µg/mL. Untuk hasil dari uji kuantitatif kadar senyawa flavonoid pada biji melinjo sebesar 1,26 mgQE/gram sedangkan pada kulit melinjo diperoleh kadar sebesar 1,37 mgQE/gram. Ekstrak biji dan kulit melinjo menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang memiliki kategori sangat kuat.

Ekstrak kulit melinjo memiliki kadar flavonoid total lebih tinggi dari pada ekstrak biji melinjo.

*Kata Kunci: Biji Melinjo, Kulit Melinjo, Ekstrak Etanol, Antioksidan, Flavonoid, DPPH.*

## 1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu bentuk senyawa reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dalam tubuh manusia bisa terbentuk dengan metabolisme sel normal, tubuh yang kekurangan gizi, pola makan yang tidak benar, gaya hidup yang salah, asap rokok, sinar ultraviolet, dan lingkungan yang terpolusi. Hal ini diperlukan suatu penangkalnya yaitu antioksidan [1].

Sumber radikal bebas yaitu berasal dari endogen dan eksogen, Radikal bebas pada organisme aerobik berasal dari 1-5% terjadi kebocoran elektron, elektron ini bereaksi dengan oksigen membentuk radikal superoksida, reduksi O<sub>2</sub> menjadi superoksida pada fagositosis, secara endogen sumber radikal bebas yang berasal dari proses metabolik yang normal dalam tubuh manusia [2].

Upaya untuk mencegah terjadinya akumulasi radikal bebas diperlukan senyawa antioksidan untuk menetralkan, menurunkan, dan menghambat pembentukan radikal bebas baru didalam tubuh dengan menjadi pendonor elektron untuk radikal bebas sehingga menjadi elektron bebas dalam radikal bebas menjadi berpasangan dan menghentikan kerusakan dalam tubuh. Antioksidan dapat diproduksi secara endogen atau eksogen untuk membantu menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh diantaranya glutathion, ubiquinon, dan asam urat. Sementara antioksidan eksogen yang bersifat lebih ringan diantaranya vitamin C, E, dan beta karoten [3].

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas yang tidak stabil sehingga dapat menghambat proses stress oksidatif. Mekanisme fenolik dan flavonoid sebagai antioksidan salah satunya adalah menangkap (scavange) radikal bebas. Penangkapan radikal bebas oleh senyawa fenolik dan flavonoid dipengaruhi oleh potensi reduksi dan energi disosiasi ikatan antara oksigen dan hidrogen pada fitokimia [4].

Flavonoid terdapat di hampir semua tumbuhan. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang didapat dari metabolisme pada tumbuhan dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa ini terdapat di buah-buahan dan sayuran. Flavonoid adalah zat aktif yang terdapat pada tumbuhan yang mempunyai struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yang tiap bagian C<sub>6</sub> merupakan rantai alifatik [5].

Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah Melinjo [6]. Melinjo atau (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman biji-bijian, hampir dari seluruh bagian tanaman mempunyai manfaat. Daun muda, bunga, kulit biji tua yang sangat populer dimasyarakat yang digunakan sebagai bahan sayuran. Pada data Direktorat Gizi Depkes menunjukkan bahwa semua bahan makanan yang terbuat dari tanaman melinjo mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi, selain karbohidrat juga mengandung lemak, protein, mineral dan vitamin - vitamin.

Kulit biji melinjo yang berwarna merah memiliki berbagai macam komponen atau senyawa yang berguna bagi tubuh dan dapat digunakan sebagai pewarna makanan alami. Komponen atau senyawa di dalam kulit biji melinjo yang berwarna merah adalah fenolik, flavonoid, likopen, vitamin C, dan β-karoten. Sifat dari kulit biji melinjo yang berwarna

merah dapat digunakan sebagai pewarna alami karena memiliki pigmen likopen dan  $\beta$ -karoten [7].

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian uji aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total menggunakan ekstrak etanol Biji dan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Peneliti berharap hasil penelitian ini nantinya dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan dapat menemukan sumber antioksidan alami.

## 2. Literatur Review

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) adalah tanaman lokal Indonesia yang belum dimanfaatkan secara luas. Umumnya melinjo dikonsumsi sebagai komponen dalam pembuatan sayur ataupun dalam pembuatan kue kering yang dikenal dengan emping. Di Indonesia, area penyebaran tanaman ini yaitu di sekitar pulau. Pulau Sumatera dan pulau Jawa. Di pulau Sumatera, produksi melinjo lebih dari 20.000 granules (biji) per tahun. Hal ini merupakan pertumbuhan yang spontan untuk satu spesies tanaman di hutan dan melinjo juga biasa ditanam di kebun ataupun di halaman sebagai hiasan [8]. Berdasarkan senyawa yang terkandung dalam melinjo terdiri dari flavonoid, Saponin, tanin, dan alkaloid.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau sering disebut juga elektron donor atau reduktan. Senyawa antioksidan mampu menginaktivasikan berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Uji aktivitas antioksidan terdiri atas metode in vivo dan in vitro. Para peneliti lebih mengembangkan metode in vitro karena metode in vivo membutuhkan waktu pengerjaan yang lama. Metode antioksidan secara in vitro terbagi menjadi metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), xantin oksidase, tiosianat, dan deoksiribosa [9].

Prinsip kerja metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ini yaitu, ketika larutan DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan, senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada DPPH. Kemudian diukur dengan UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm, jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua menjadi kuning/kuning pucat) perubahan warna tersebut menunjukkan kemampuan sampel atau ekstrak dalam merendam aktivitas radikal bebas DPPH [10]. Metode DPPH menggunakan parameter  $IC_{50}$  yang menunjukkan bahwa konsentrasi uji yang dapat menangkap radikal bebas adalah sebesar 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Nilai  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kapasitas antioksidan senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  senyawa uji tersebut, maka semakin tinggi aktivitas senyawa tersebut sebagai penangkal radikal bebas [11].

Analisis flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilakukan melalui uji kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dengan spektrofotometer UV-Vis dengan cara mengidentifikasi adanya struktur flavonoid. Sedangkan analisis dengan kuantitatif dengan menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan cara mengukur nilai absorbansinya. Hukum yang digunakan pada analisa kuantitatif adalah hukum Lambert-Beer. Kadar flavonoid dengan nilai absorbansi memiliki hubungan yang linear, yakni semakin tinggi nilai absorbansi maka kadar flavonoid juga semakin tinggi [12].

Spektrofotometri adalah analisis kimia kuantitatif dalam kimia analitik. Berapa banyak energi radiasi yang diserap dengan mengukur tingkat penyerapan Panjang gelombang terisolasi. Spektrofotometer menghasilkan cahaya spektrum pada panjang gelombang tertentu, diwakili oleh fotometer instrumen yang mengukur intensitas cahaya

yang ditransmisikan atau diserap. Oleh karena itu, jika ada gunakan spektrofotometer untuk mengukur energi relatif. Energi ditransmisikan, dipantulkan, atau dipancarkan menurut suatu fungsi panjang gelombang <sup>[13]</sup>. Prinsip spektrofotometri UV-Vis dengan radiasi pada jarak panjang gelombang 200-800 nm dihubungkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron pada ikatan dalam molekul akan tereksitasi sehingga mendapatkan kuantum yang lebih tinggi dan saat proses penyerapan energi akan melewati larutan tersebut. Semakin longgar elektron ditahan dalam ikatan molekul, maka semakin panjang pula gelombang radiasi yang diserap <sup>[14]</sup>.

## 3. Metode

### 3.1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah kertas label, alat tulis, pipet tetes (*Onemed*<sup>®</sup>), mikro pipet (*Micropipette*<sup>®</sup>), neraca analitik (*Ohaus PA2102*<sup>®</sup>), *waterbath* (*Memmert WNB 22*<sup>®</sup>), batang pengaduk (*Pyrex*<sup>®</sup>), spatula, labu ukur (*Pyrex*<sup>®</sup>), cawan porselein (RRC), ayakan 40 mesh (*Laboratory Test Sieve*), kertas saring (Whatman), corong kaca (*Pyrex*<sup>®</sup>), wadah maserasi (Toples Kaca), gelas ukur (*Pyrex*<sup>®</sup>), beaker glass (*Pyrex*<sup>®</sup>), sarung tangan, masker, tissue, alumunium foil, *rotary vacuum evaporator* (*IKA*<sup>®</sup>), kuvet (*Quartz*), dan Spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu 1800*).

### 3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.), aquades, etanol 70% (teknis), etanol p.a, kuersetin, kalium asetat, alumunium klorida, serbuk Mg, pereaksi DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), Vitamin C.

### 3.3. Jalannya Penelitian

#### 3.3.1. Determinasi Tanaman

Menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Sampel dilakukan determinasi di Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan (UAD) yang berada di daerah Yogyakarta.

#### 3.3.2. Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental. Sampel pada penelitian ini yaitu kulit dan biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang diambil dari Desa Pule, Kecamatan Mayong, Kabupaten Jepara.

#### 3.3.3. Pengolahan Sampel

Sampel pada penelitian ini yang digunakan berupa kulit dan biji melinjo yang masih segar sebanyak 4 kg dicuci hingga bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Kemudian kulit dan biji melinjo dirajang, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutupi kain hitam, kemudian kulit dan biji melinjo yang sudah kering dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan.

#### 3.3.4. Uji Fitokimia Flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 10 tetes HCl, bila beraksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah.

#### 3.3.5. Uji Kadar Air

2 gr Serbuk dimasukkan kedalam alat *moisture balance*. Standart kadar air yang baik yaitu  $\leq 10\%$ .

### 3.3.6. Ekstraksi Kulit dan Biji Melinjo

250 gr serbuk kulit dan biji melinjo direndam dengan 250 mL etanol 70%. Pertama dimaserasi dengan pelarut sebanyak 2,4 L selama 3x24 jam. Kemudian diaduk setiap 6 jam sekali. Setelah 3 hari ekstrak disaring, menghasilkan filtrat 1 dan ampas 1. Ampas 1 kemudian di remaserasi menggunakan etanol 70% ditutup dengan aluminium foil. didiamkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Filtrat hasil penyaringan maserasi dan remaserasi dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Hasil dari evaporasi kemudian diuapkan dengan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental.

### 3.3.7. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan larutan induk (Kuersetin 100 ppm)

Pembuatan larutan induk dilakukan dengan menimbang kuersetin sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 70% dalam labu ukur 50 mL. Sehingga diperoleh larutan kuersetin 1000 ppm. Setelah itu dibuat larutan standar kuersetin 100 ppm.

b. Pembuatan larutan seri standar kuersetin

Pembuatan larutan standar dengan cara larutan induk dipipet sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL masing masing ke dalam labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet. Volume nya dicukupkan dengan etanol 70% sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm.

c. Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko dalam penelitian ini menggunakan etanol 70% sebanyak 4 mL, kalium asetat 0,2 mL dan aluminium klorida 0,2 mL, ditambahkan aquades 5,6 mL, ke mudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL.

d. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum ( $\lambda$  maks)

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan standar (4 ppm) dipipet 0,5 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Etanol 70% ditambahkan sebanyak 1,5 mL, aluminium klorida sebanyak 0,1 mL, kalium asetat 1 M sebanyak 0,1 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 350-500 nm.

e. Pembuatan kurva kalibrasi

Panjang gelombang maksimum diperoleh kemudian dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dengan cara larutan standar 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL aluminium klorida 10%, dan 0,1 mL kalium asetat 1 M. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

f. Pembuatan larutan ekstrak

Pembuatan larutan sampel ekstrak kulit dan biji melinjo ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan 5 mL etanol p.a dalam gelas kimia 100 mL. Larutan diaduk menggunakan batang pengaduk, setelah itu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Gelas kimia dibilas dengan etanol p.a kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Setelah diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm, dilakukan pengenceran dengan cara dipipet 1 mL larutan sampel 1000 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm, lalu dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 8 mL dan ditambahkan 1,5 mL etanol p.a, 0,3 mL aluminium klorida 10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan air suling 2 mL kemudian kocok sampai homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer

UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dilakukan perhitungan kadar flavonoid menggunakan rumus metode <sup>[15]</sup>.

$$\begin{aligned} & \text{Kandungan Flavonoid (\%)} \\ & = \frac{C \times V \times Fp \times 10^{-3}}{m} \times 100\% \end{aligned} \quad (1)$$

Keterangan:

- C = Kesetaraan Kuersetin (mg/L)  
 V = Volume total ekstrak etanol (mL)  
 Fp = Faktor Pengenceran  
 m = Berat sampel (mg)

### 3.3.8. Uji Aktivitas Antioksidan

#### a. Pembuatan Larutan DPPH:

Larutan pereaksi yang digunakan adalah DPPH 0,4 mM. Dibuat dengan cara menimbang 15,8 mg serbuk DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Lalu ditambah metanol p.a sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol <sup>[16]</sup>.

#### b. Pembuatan seri konsentrasi larutan uji:

Menimbang sebanyak 100 mg ekstrak kental dilarutkan dengan pelarut metanol p.a sebanyak 100 mL kemudian diperoleh larutan 1000 ppm kemudian dibuat seri konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.

#### c. Pembuatan larutan vitamin C sebagai pembanding:

Sebanyak 0,1 gr vitamin C dilarutkan menggunakan pelarut metanol p.a dicukupkan hingga 100 mL lalu di aduk sampai homogen dan dibuat konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

#### d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum:

Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara memasukkan 1,0 mL larutan DPPH ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambah dengan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dikocok dan diamati serapannya pada rentang 450-550 nm <sup>[17]</sup>.

#### e. Penetapan operating time:

Penetapan operating time dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1,0 mL larutan stok DPPH 100 ppm dan 1,0 mL larutan uji kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL ditambah metanol p.a sampai tanda batas. Penetapan operating time dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 10 menit sampai didapat absorbansi yang stabil dan tidak terlihat adanya penurunan absorbansi. Dilakukan juga penetapan operating time DPPH pada asam askorbat.

#### f. Pengukuran aktivitas antioksidan:

Memipet 4 ml DPPH kemudian dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengujian sampel dilakukan dengan memipet 1 mL larutan uji dari berbagai konsentrasi (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400, dan 500 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 mL DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517.4 nm <sup>[18,19]</sup>. Pengujian larutan pembanding dilakukan dengan memipet 1 mL larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8, dan 10 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 mL DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517.4 nm, pengukuran dilakukan replikasi sebanyak 5 kali <sup>[20,21]</sup>.

Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs control}} \times 100\% \quad (2)$$

Ket :

*Abs control* = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

*Abs sampel* = Absorbansi sampel setelah 30 menit

## 4. Hasil dan Pembahasan

### 4.1. Determinasi Sampel Tanaman

Berdasarkan hasil identifikasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta surat Nomor (076/Lab.Bio/B/III/2021). Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman melinjo (*Gnetum gnemon L.*).

### 4.2. Pengelolaan Sampel

**Tabel 1.** Pengelolaan Simplisia

Simplisia Basah	Simplisia kering	Serbuk	Prosentase atau susut pengeringan
Biji melinjo 4 kg	0,9 kg	300 g	77,5%
Kulit melinjo 4 kg	0,85 kg	350 g	78,75%

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil pengeringan dan pembuatan serbuk biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon L.*) yang diperoleh dari desa Pule Kecamatan Mayong Kabupaten Jepara untuk biji sebanyak 300 g dan kulit sebanyak 350 g.

### 4.3. Uji Fitokimia

**Tabel 2.** Hasil Uji Fitokimia

Uji Kandungan Flavonoid	Pereaksi	Perubahan Warna	Kesimpulan
Biji melinjo	1 mL sampel + 0,1 g serbuk Mg + 10 tetes HCl	Menghasilkan warna jingga	Positif mengandung flavonoid
Kulit melinjo	1 mL sampel + 0,1 g serbuk Mg + 10 tetes HCl	Menghasilkan warna kuning ke jingga	Positif mengandung flavonoid

Tabel 2 menunjukkan bahwa mengetahui kandungan senyawa dalam biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon L.*). Pemeriksaan tersebut dilakukan pada senyawa metabolit sekunder yang diduga mempunyai kandungan golongan flavonoid.

#### 4.4. Hasil Uji kadar Air

**Tabel 3.** Hasil Uji Kadar Air

Berat awal	Kadar air (%)
Biji melinjo 2 g	3,67
Kulit melinjo 2 g	3,87

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil uji kadar pada serbuk biji melinjo 3,67% dan pada serbuk kulit melinjo 3,87%. Uji kadar pada serbuk menggunakan alat yaitu *moisture balance*. Hal ini dimaksudkan agar mutu dan khasiat serbuk daun kelengkeng tetap terjaga. Apabila kadar air kurang dari 10% maka tingkat kekeringan serbuk dalam taraf yang normal, tidak lembab, tidak ditumbuhi jamur.

#### 4.5. Hasil Ekstraksi

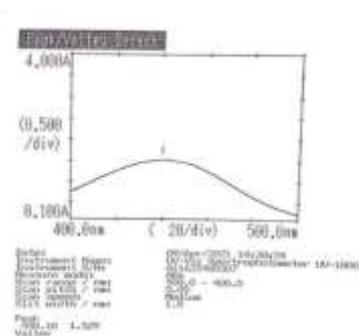
**Tabel 4.** Hasil Ekstraksi

Serbuk	Berat bobot + ekstrak kental (g)	Berat botol kosong (g)	Berat bersih ekstrak (g)	Prosentase rendemen
Biji melinjo 250 g	184	170	14	5,6%
Kulit melinjo 250 g	204	169	35	14%

Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstraksi biji dan kulit melinjo dilakukan menggunakan metode maserasi. Serbuk biji dan kulit melinjo ditimbang masing-masing 250 g, dimasukkan kedalam wadah maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70 % sebanyak 2,5 L. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung prosentase rendemen ekstrak biji dan kulit melinjo.

#### 4.6. Hasil Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji & Kulit Melinjo (*G. gnemon* L.)

##### 4.6.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang



**Gambar 1.** Kurva Panjang Gelombang Maksimum Kuerseti

Gambar 1 menunjukkan, penetapan kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440.1 nm.

#### 4.6.2. Hasil Absorbansi Larutan Baku Standar

**Tabel 5.** Hasil Absorbansi Larutan Baku Standar

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,280
4	0,418
6	0,691
8	0,852
10	1,135

Tabel 5 menunjukkan bahwa tujuan kurva baku yaitu untuk menghitung konsentrasi dari biji dan kulit melinjo. Penentuan kurva baku didapat dengan membaca nilai absorbansi larutan baku kuersetin dengan berbagai konsentrasi antara lain 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Hasil absorbansi pada kurva standar kuersetin diperoleh persamaan regresi yaitu  $Y = 0,1096x + 0,0159$  dengan nilai  $r$  (koefisien korelasi) sebesar 0,9925.

#### 4.6.3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

**Tabel 6.** Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
Nilai absorbansi	0,155	0,156	0,154
Kadar (mg/L)	1,26	1,27	1,26
Kadar % (b/v)	1,26 %	1,27 %	1,26 %
Kadar rata-rata		1,26 %	
SD		0,009	
RSD		0,55 %	

Berdasarkan Tabel 6 menunjukkan bahwa flavonoid pada ekstrak biji melinjo diperoleh dengan cara memasukkan nilai absorbansi pada kurva standar kuersetin sehingga hasil dari besar kadar rata-rata flavonoid total ekstrak biji melinjo sebesar 1,26%. Standar deviasi (SD) sebesar 0,009 dan relative standart deviasion (RSD) sebesar 0,55%.

#### 4.6.4. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

**Tabel 7.** Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
Nilai absorbansi	0,167	0,168	0,166
Kadar (mg/L)	1,37	1,38	1,36
Kadar % (b/v)	1,37 %	1,38 %	1,36 %
Kadar rata-rata		1,37 %	
SD		0,01	

RSD	0,72 %
-----	--------

Berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa flavonoid pada ekstrak kulit melinjo diperoleh dengan cara memasukkan nilai absorbansi pada kurva standar kuersetin sehingga hasil dari besar kadar rata-rata flavonoid total ekstrak kulit melinjo sebesar 1,37%. Standar deviasi (SD) sebesar 0,01 dan relative standart deviasion (RSD) sebesar 0,72%.

#### **4.7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji dan Kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.)**

##### **4.7.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimal ( $\lambda$ maks)**

Berdasarkan hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 0,4 mM dalam metanol p.a dengan spektrofotometri UV-Vis dalam rentang 450-550 nm diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 517.4 nm dengan nilai absorbansi 2,5622. Absorbansi larutan DPPH yang diperoleh digunakan sebagai absorbansi kontrol. Absorbansi kontrol DPPH ini digunakan untuk menghitung persen (%) aktivitas antioksidan, yang selanjutnya untuk menghitung  $IC_{50}$ .

##### **4.7.2. Hasil Penentuan Operating Time**

Penentuan operating time digunakan

untuk menentukan waktu yang paling tepat dalam meredam radikal bebas DPPH. Penentuan operating time dengan pengambilan konsentrasi 40 ppm ekstrak etanol biji dan kulit melinjo yang direaksikan dengan larutan DPPH 0,4mM. Panjang gelombang yang digunakan yaitu 517.4 nm dan diukur pada rentang waktu 10 menit, dihasilkan waktu yang stabil.

##### **4.7.3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan**

Besarnya kemampuan aktivitas antioksidan suatu ekstrak ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat radikal bebas DPPH. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai  $IC_{50}$  ekstrak biji melinjo 0,043, kulit melinjo 0,121, dan diperoleh nilai  $IC_{50}$  dari larutan pembanding vitamin c sebesar 1,375. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  diperoleh kekuatan antioksidan dari yang terkuat yaitu Vitamin C, kulit melinjo, dan biji melinjo. Berdasarkan literatur tentang rentang nilai kekuatan antioksidan, senyawa dengan nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, nilai  $IC_{50}$  antara 50 -100 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, nilai  $IC_{50}$  antara 101 -150 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dan nilai  $IC_{50}$  besar dari 150 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Pada ekstrak etanol biji dan kulit melinjo diperoleh nilai  $IC_{50}$  yang sangat kuat. Nilai absorbansi dari ekstrak biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dan larutan pembanding Vitamin C dari tiap konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 8, 9 dan 10.

**Tabel 8.** Hasil Perhitungan % inhibisi & Nilai IC<sub>50</sub> Biji Melinjo

Data hasil antioksidan absorbansi Biji Melinjo								
Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ln Konsentrasi	Absorbansi Pengulangan			Rata rata	A. Sampel	% inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
		1	2	3				
100	4,6051702	0,329	0,255	0,293	0,292333	0,291633	12,78907	0,043
200	5,2983174	0,209	0,232	0,225	0,222	0,2213	33,82177	
300	5,7037825	0,113	0,126	0,126	0,121667	0,120967	63,82576	
400	5,9914645	0,091	0,089	0,095	0,091667	0,090967	72,79705	
500	6,2146081	0,087	0,086	0,086	0,086333	0,085633	74,39195	

**Tabel 9.** Hasil Perhitungan % inhibisi & Nilai IC<sub>50</sub> Kulit Melinjo

Data hasil antioksidan absorbansi Kulit Melinjo								
Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ln Konsentrasi	Absorbansi. Pengulangan			Rata rata	A. Sampel	% inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
		1	2	3				
100	4,6051702	0,258	0,279	0,269	0,268667	0,267967	19,86643	0,121
200	5,2983174	0,205	0,239	0,221	0,221667	0,220967	33,92145	
300	5,7037825	0,189	0,174	0,18	0,181	0,1803	46,08254	
400	5,9914645	0,181	0,152	0,142	0,158333	0,157633	52,86085	
500	6,2146081	0,113	0,144	0,093	0,116667	0,115967	65,32097	

**Tabel 10.** Hasil Perhitungan % inhibisi & Nilai IC<sub>50</sub> Vitamin C

Data hasil antioksidan absorbansi vitamin C								
Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ln Konsentrasi	Absorbansi. Pengulangan			Rata rata	A. Sampel	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
		1	2	3				
2	0,6931472	0,212	0,117	0,113	0,147333	0,146633	56,15032	1,375
4	1,3862944	0,151	0,101	0,097	0,116333	0,115633	65,42065	
6	1,7917595	0,101	0,087	0,076	0,088	0,0873	73,89354	
8	2,0794415	0,098	0,075	0,053	0,075333	0,074633	77,68142	
10	2,3025851	0,089	0,067	0,042	0,066	0,0653	80,47249	

#### 4.7.4. Analisis Data

Hasil data dari nilai kadar flavonoid dan hasil analisis aktivitas antioksidan diolah dengan metode SPSS. Kemudian data dianalisis menggunakan Uji Sapohiro-wilk. Kemudian data dikatakan memiliki distribusi normal dan syarat untuk dilakukan uji T-test independent.

##### 1. Uji normalitas

Hasil yang diperoleh dari uji normalitas bertujuan untuk dapat mengetahui apakah data tersebut berdistribusi normal atau tidak. Pada penelitian ini menggunakan uji

Sapohiro-wilk. Data yang dihasilkan pada kadar antioksidan sampel biji melinjo adalah 105 dan pada kulit melinjo adalah 094 sedangkan pada kadar flavonoid sampel biji dan kulit melinjo masing-masing menghasilkan data 1.000 yang menunjukkan semua data berdistribusi normal karena semua sampel telah memenuhi signifikasinya yaitu  $p > 0.05$  sehingga dapat dilanjutkan uji T-Test Independent.

## 2. Uji T-Test Independent

Independent sample t-test merupakan uji parametrik yang digunakan untuk mengetahui adakah perbedaan mean antara dua kelompok bebas atau dua kelompok yang tidak berpasangan dengan maksud bahwa kedua kelompok data berasal subjek yang berbeda.

Hasil data uji t-test SPSS pada hasil antioksidan menunjukkan nilai sig 0,476 yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara kedua sampel Pengujian statistik t atau t-test ini dilakukan dengan menggunakan tingkat signifikansi sebesar 0,05 ( $\alpha = 5\%$ ). Jika hasil  $< 0,05$  maka terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua sampel jika  $> 0,05$  maka tidak terdapat perbedaan antara kedua sampel. Sedangkan hasil pada kadar flavonoid menunjukkan nilai sig 0,00 yang menunjukkan hal yang sama yaitu terdapat perbedaan yang signifikan antara biji melinjo dan kulit melinjo.

## 5. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu mengetahui aktivitas antioksidan dan mengetahui nilai kadar flavonoid total pada ekstrak etanol biji dan kulit melinjo, sehingga dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak biji dan kulit melinjo menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang memiliki kategori sangat kuat. Ekstrak kulit melinjo memiliki kadar flavonoid total lebih tinggi daripada ekstrak biji melinjo.
2. Pada ekstrak biji dan kulit melinjo menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan Nilai  $IC_{50}$  ekstrak biji melinjo, kulit melinjo, dan larutan pembanding vitamin C berturut-turut sebesar 0,043, 0,121, dan 1,375. Kategori antioksidan dari semua ekstrak memiliki kategori sangat kuat. Tetapi, pada larutan pembanding memiliki antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak sampel yang lain yaitu sebesar 1,375.
3. Total kadar flavonoid biji melinjo, kulit melinjo berturut-turut sebesar 1,26% dan 1,37%. Dari ke dua sampel didapatkan bahwa pada ekstrak kulit melinjo memiliki total kadar flavonoid lebih tinggi daripada ekstrak sampel yang lain.

## Referensi

- [1] Purwaningsih, S., Ella, S.&Tika, A. B. 2014. Formulasi Skin Lotion dengan Penambahan Karagen dan Antioksidan Alami dari *Rhizophora mucronate* Lamk. Jurnal Akuatika; 5: 55-62
- [2] Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- [3] Rao, R. S. & Moller, I. M., 2011. *Pattern of Occurrence and Occupancy of Carbonylation Sites in Proteins. Proteomics, Volume 11*, pp. 4166-4173.
- [4] Gutowski, M. and Kowalczyk, S. 2013. *A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. Acta Biochimica Polonica* 60: 1-16.
- [5] Rais, R, I. 2015. *Isolasi dan Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Herba Sambiloto (Andrographis paniculata (BURM.F NESS))*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- [6] Parhusip, A. J. N., Sitanggang, A. B., 2011. *Antimicrobial Activity of Melinjo Seed*

- and Peel Extract (Gnetum gnemon) Against Selected Pathogenic Bacteria. Microbiology Indonesia. Volume 5, No.3. September 2011, p 103-112.*
- [7] Siregar, Cornelia, Ermiziar dan Raskita., 2009. Studi Kandungan Karotenoid, Vitamin C, dan Aktivitas Antioksidan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L). Jurusan Teknologi Universitas Pelita Harapan, Tangerang. Banten.
- [8] Parhusip, A. J. N., Sitanggang, A. B. 2011. *Antimicrobial Activity of Melinjo Seed and Peel Extract (Gnetum gnemon) Against Selected Pathogenic.*
- [9] Leba, M. A. U., 2017. Buku Ajar Ekstraksi Dan Real Kromatologi. Yogyakarta: Deepublish.
- [10] Kedare, S.B & Singh, R. P., 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*, 48 (4), 412–422.
- [11] Winata, Enesty Winnie dan Yunianta., 2015. Ekstraksi Antosianin buah Murbei (*Morus alba* L.) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu dan Rasio bahan: Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (2): 773 -783.
- [12] Pakaya, Wilna, Netty Ino Ischak, Julhim S. Tangio., 2015. Analisis Kadar Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun dan Bunga Tembelean. *Jurnal Penelitian Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.*
- [13] Abdi Redha., 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Jurusan Teknologi Pertanian. Politeknik Negeri Pontianak, Jalan Ahmad Yani Pontianak 78124. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2 Sep. 2010: 196 –202.
- [14] Erukainure, O.L., J.A. Ajiboye, R.O. Adejobi, O.Y. Okafor, S.O. Adenekan., 2011. *Protective effect of pineapple (ananas comosus) peel extract on alcohol- induced oxidative stress in brain tissues of male albino rats. Asian Pac. J. Trop. Disease. 5-9.*
- [15] Azwar., 2012. Metode Penelitian: Yogyakarta. Pustaka pelajar.
- [16] Depkes RI., 2008, Informatorium Obat Nasional Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- [17] Purwanto, P. E., dan Santosa, D., 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan *Cynara Scolimus* L., *Artemisia China* L., *Borreria Repenst* DC., *Poligala Paniculata* L. Hasil Koleksi dari Tanaman Nasional Gunung Merapi dengan metode penangkapan radikal DPPH (2,2 Difenyl-1 picrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional.*
- [18] Molyneux, P., 2008. *The use of the stable 6 free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26(2): 211–216.
- [19] Pratama, M., Razak, R., Sandra, R.V. Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 2019; Vol.6(2). Hal. 363-373.
- [20] Wahyuni, S., Pandapotan, M.M. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia.* 2020; Vol.3(2). Hal. 52-61.
- [21] Departemen Kesehatan RI., 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makana.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)