JURNAL RISET KESEHATAN
POLTEKKES DEPKES BANDUNG
Vol 16 No 1

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

UJI KADAR VITAMIN C DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI KULIT BUAH MELINJO (*Gnetum gnemon* L)

Test of Vitamin C and Antioxidant Activity of Fractions of Melinjo (Gnetum gnemon L) Fruits

Kevvy Buana Ibrahim[1], Fendi Yoga Wardana[1*], Bagus Dadang Prasetiyo[1], Meyrika Dwi Puspitasari[1]

[1]Program Studi Sarjana Farmasi Klinis dan Komunitas, Fakultas Sains dan Teknologi, Institut Teknologi, Sains dan Kesehatan RS DR. Soepraoen Kesdam V/BRW Malang, Jawa Timur, Indonesia

Email: fendiyoga@itsk-soepraoen.ac.id

ABSTRACT

Melinjo (Gnetum gnemon L) in Indonesia is widely used as a food ingredient but melinjo fruit peel is considered waste because there has been no effort to maximize its utilization and there has been no research details of the active compound content in it. Melinjo fruit peels are thought to have the potential to be a source of vitamin C and natural antioxidants that can suppress the activity of free radicals. The study aimed to determine the vitamin C content and antioxidant activity of melinjo fruit peel fraction. It was conducted from August to September 2023 at the Pharmacognosy and Chemistry Laboratory of ITSK RS DR. Soepraoen. Extraction using maceration method followed fractionation. Determination of vitamin C content using UV-Vis spectrophotometry, while determination of antioxidant activity using the DPPH method. The highest vitamin C content was 7.3483 µg/mL in ethanol fraction, followed by ethyl acetate 7.0285 µg/mL and n-hexane 3.6108 µg/mL. Antioxidant activity results with the highest IC_{50} value of 279.35 µg/mL in ethyl acetate fraction, followed by ethanol 333.98 µg/mL, and n-hexan 4077.31 µg/mL. Solvents with higher polarity can extract vitamin C compounds from simplisia more efficiently and semi-polar solvents can more effectively attract compounds that have antioxidant activity, the type of polarity of a solvent can affect the number and type of compounds to be extracted according to the polarity of compound. It is recommended that further research test the antioxidant active compounds of ethyl acetate fraction and other methods of testing the antioxidant activity melinjo fruit peel.

Keywords: *Antioxidant, DPPH, Fractionation, Melinjo (Gnetum gnemon L), Vitamin C.*

ABSTRAK

Melinjo (*Gnetum gnemon* L) di Indonesia banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan namun kulit buah melinjo sendiri dianggap limbah karena belum ada upaya pemanfaatannya secara maksimal dan belum ada penelitian mengenai detail kandungan senyawa aktif yang ada di dalamnya. Kulit buah melinjo diduga dapat berpotensi menjadi sumber vitamin C dan antioksidan alami yang dapat menekan aktivitas dari radikal bebas. Tujuan penelitian mengetahui kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan dari fraksi kulit buah melinjo. Dilaksanakan pada Agustus hingga September 2023 di Laboratorium Farmakognosi dan Kimia ITSK RS DR. Soepraoen. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dilanjutkan fraksinasi. Penentuan kadar vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Vis, sedangkan penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Hasil kadar vitamin C tertinggi sebesar 7,3483 µg/mL pada fraksi etanol, diikuti etil asetat 7,0285 µg/mL dan n-heksan 3,6108 µg/mL. Hasil aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} tertinggi sebesar 279,35 µg/mL pada fraksi etil asetat, diikuti etanol 333,98 µg/mL, dan n-heksan 4077,31 µg/mL. Pelarut dengan kepolaran lebih tinggi mampu mengekstrak senyawa vitamin C dari simplisia lebih efisien dan pelarut yang bersifat

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

semi polar mampu lebih efektif menarik senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, jenis kepolaran dari sebuah pelarut mampu mempengaruhi jumlah serta jenis senyawa yang akan diekstraksi sesuai dengan kepolaran dari senyawa tersebut. Direkomendasikan pada penelitian selanjutnya menguji senyawa aktif antioksidan fraksi etil asetat dan metode lain pengujian aktivitas antioksidan kulit buah melinjo.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Fraksinasi, Melinjo (Gnetum gnemon L), Vitamin C.

PENDAHULUAN

Di Indonesia penderita penyakit kanker menempati urutan ke-8 di Asia Tenggara serta urutan ke-23 di benua Asia dengan data angka kejadian sebesar 136 orang per 100.000 penduduk.[1] Dalam kasus penyakit kanker radikal bebas memiliki peranan yang sangat penting sebagai pencetus dari timbulnya penyakit tersebut.[2] Radikal bebas merupakan molekul yang tidak memiliki pasangan elektron dan berakibat mempunyai sifat antagonis dikarenakan ketidakseimbangan dari dua kekuatan yang berlawanan, yaitu Reactive Oxygen Species (ROS) dan antioksidan.[3] Radikal bebas di dalam tubuh keberadaannya tidak bisa dihilangkan, tetapi jumlah kemunculannya dapat ditekan sebelum menghadirkan dampak yang lebih berisiko.[4] Karena adanya efek yang merusak dari radikal bebas maka perlu suatu materi yang mampu memberi perlindungan bagi tubuh agar dapat meredam dari dampak buruk yang diakibatkan oleh radikal bebas yaitu antioksidan.[5]

Antioksidan merupakan materi yang mampu menekan dampak buruk dari radikal bebas dengan cara memutus atau menghentikan reaksi berlanjut yang disebabkan oleh radikal bebas di dalam tubuh.[6] Ditinjau dari asal sumber didapatkannya terdapat dua jenis antioksidan, ialah antioksidan alami serta antioksidan buatan.[7] Satu diantara jenis antioksidan alami yang sanggup menahan radikal bebas dengan sangat baik yakni asam askorbat alias vitamin C yang bekerja dalam sitosol. Antioksidan ini memiliki fungsi yang vital bagi tubuh antara lain berkontribusi dalam kerja enzim tertentu atau prekursor.[8] Vitamin C merupakan nutrien serta vitamin yang dapat larut di dalam air juga penting bagi kehidupan serta guna menjaga kesehatan tubuh. Vitamin C sendiri memiliki fungsi menjadi sebuah katalis di dalam reaksi-reaksi kimia yang timbul di dalam tubuh manusia, maka dari itu jika katalis ini tidak terpenuhi selayaknya pada kondisi kekurangan vitamin, maka terjadilah gangguan pada fungsi normal tubuh.[9] Tumbuh-tumbuhan maupun buah-buahan merupakan sumber makanan alami yang didapati kaya akan antioksidan meliputi vitamin C, vitamin D, dan flavonoid.[10]

Satu diantara banyaknya tanaman yang memuat antioksidan didalamnya ialah kulit buah melinjo.[11] Berdasarkan pada penelitian sebelumnya, kulit buah melinjo mampu menjadi sumber antioksidan alami karena memuat senyawa vitamin C, tokoferol dan polifenol.[12] Pendayagunaan dari kulit buah melinjo yang telah berwarna merah atau memasuki usia panen belum dimanfaatkan secara optimal dan kadang kala masih dipandang sebagai limbah.[13] Kulit buah melinjo yang telah berwarna merah (telah memasuki masa panen) mempunyai beragam kandungan senyawa yang menguntungkan bagi tubuh, ragam kandungan senyawa tersebut meliputi flavonoid, vitamin C, fenolik, likopen, serta β-karoten.[14] Oleh karena itu kebanyakan kulit buah melinjo terbuang mubazir saat musim panen tiba karena kurangnya informasi mengenai seberapa besar senyawa yang terkandung di dalam kulit buah melinjo.[15]

Fraksinasi cair–cair sebagai metode dalam mendapatkan senyawa

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

yang didasarkan pada proses pemisahan sesuai dengan tingkat kepolaran yang sama antara dua jenis pelarut atau lebih, menggunakan jenis pelarut dengan tingkatan kepolaran yang berbeda–beda.[16] Jenis pelarut yang awam digunakan dalam fraksinasi adalah pelarut non polar, semi polar, dan polar.[17] Pelarut non polar digunakan dalam menarik senyawa yang sama–sama memiliki sifat non polar seperti klorofil, α-karoten, dan β-karoten.[18] Pelarut semi polar mampu menarik senyawa yang mengandung sifat semi polar juga seperti aglikon flavonoid, alkaloid, polifenol.[19] Pelarut polar mampu menarik senyawa yang memiliki sifat yang sama–sama bersifat polar, seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, tanin dan vitamin C.[20]

Berlandaskan pada paparan latar belakang di atas, kulit buah melinjo memiliki potensi sebagai sumber vitamin C dan antioksidan alami. Karena itulah tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan dari fraksi kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L).

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *Quasi Experimental Design*, dengan model *Nonequivalent Control Group Design* yang dilaksanakan pada bulan Agustus hingga September tahun 2023 bertempat di Laboratorim Farmakognosi dan Laboratorium Kimia Institut Teknologi, Sains dan Kesehatan RS DR. Soepraoen Kesdam V/BRW. Variabel bebas dari penelitian ini adalah sampel hasil fraksinasi ekstrak kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dan kadar vitamin C dari fraksinasi ekstrak kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: toples kaca, batang pengaduk, pisau, sudip, aluminium foil (Bestfresh), oven (Memmert GmbH + Co. KG seri UN55), blender (Philips), ayakan nomor 60 mesh, neraca analitik (Ohaus), sendok tanduk, pipet mikro (Dragonlab), tiang statif, corong pisah 250 mL (pyrex), corong kaca (pyrex), kertas saring, peralatan gelas (pyrex), cawan porselen (Pyrex), rotari evaporator (Shenzhen Haocheng Instrumen Co.,Ltd), penangas air (Nanbei), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV-1780).

Bahan

Bahan utama yang digunakan di dalam penelitian ini ialah sampel kulit buah melinjo dengan kriteria kulit buah telah berwarna merah hingga merah kehitaman dengan kondisi yang baik tanpa ada kerusakan dan kebusukan, bahan penelitian selanjutnya meliputi: etanol 96%, etil asetat, n-heksan, aquades, air, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0,3 mM, asam askorbat.

Pengambilan Sampel

Sampel utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit buah melinjo yang diperoleh dari Dusun Krajan Desa Wonorejo Kecamatan Bantur Kabupaten Malang.

Determinasi Sampel

Determinasi sampel kulit buah melinjo dilakukan pada bulan Agustus tahun 2023 di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu, dengan nomor 067/ 2106/ 102.20/ 2023.

Preparasi Sampel

Kulit buah melinjo yang telah dipisahkan dari bijinya dicuci menggunakan air kran yang terus mengalir untuk menghilangkan kontaminasi dari kotoran yang menempel kemudian ditiriskan atau dikeringkan dengan suhu ruang, setelah kering kulit buah melinjo dirajang

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

menggunakan pisau sehingga berbentuk cacahan atau potongan kecil-kecil. Sampel dikeringkan menggunakan oven dengan suhu sebesar 60^{o}C dengan waktu selama 24 jam, dihaluskan dengan blender hingga berbentuk serbuk lalu diayak menggunakan ayakan dengan nomor 60 mesh. Simplisia yang telah diayak ditimbang dengan neraca analitik seberat 400 gr kemudian masuk ke proses ekstraksi.

Ekstraksi

Ekstraksi sampel kering kulit buah melinjo dengan kadar air yang menguap sebesar 70,9% menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi, dikarenakan senyawa antioksidan yang akan diuji aktivitasnya dan vitamin C yang diuji kadarnya dapat mengalami kerusakan bila terkena suhu panas.[21] Proses maserasi sampel simplisia kering seberat 400 gr direndam dengan menggunakan pelarut etanol sebanyak 1.200 mL selama 3x24 jam dengan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1:3 didalam toples kaca yang ditutup rapat dengan aluminium foil agar terhindar dari paparan cahaya dengan diberi perlakuan pengadukan setiap 24 jam sekali. Setelah diekstraksi selama 3x24 jam, ekstrak disaring sehingga didapat filtrat dan residu.

Fraksinasi

Fraksinasi kulit buah melinjo dilakukan dengan menggunakan 3 pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu non polar, semi polar dan polar berturut-turut yaitu, n-heksan, etil asetat dan etanol. Proses fraksinasi ekstrak kulit buah melinjo dilakukan dengan cara hasil filtrat ekstraksi etanol kulit buah melinjo ditambahkan dengan n-heksan sebanyak 1.200 mL didalam corong pisah dengan perbandingan 1:1 antara filtrat etanol dengan n-heksan lalu dikocok hingga tercampur, kemudian didiamkan ditiang statif hingga terbentuk 2 lapisan fase, fase yang terbentuk dipisahkan, didapatkanlah fase fraksi etanol dan fase fraksi n-heksan. Fase fraksi etanol yang telah didapat, dimasukkan ke dalam corong pisah yang berbeda dan ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 1.200 mL dengan perbandingan 1:1 antara fraksi etanol dengan etil asetat kemudian digojok didiamkan ditiang statif hingga terbentuk 2 lapisan fase, fase yang terbentuk dipisahkan, didapatkanlah fase fraksi etanol dan fase fraksi etil asetat.

Setelah difraksinasi didapatkanlah 3 hasil filtrat fraksi, yaitu fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan, setiap hasil fraksi di uapkan dengan rotari evaporator hingga didapat ekstrak kental dari tiap fraksi, lalu dilanjutkan pengupan dengan menggunakan waterbath hingga didapat ekstrak kering dari setiap fraksi.

Penentuan Kadar Vitamin C

Pembuatan Larutan Standar (asam askorbat) Vitamin C

Dibuat larutan induk vitamin C 100 ppm dengan cara ditimbang 1 mg vitamin C dengan dilarutkan menggunakan etanol di dalam labu ukur hingga tanda batas. Selanjutnya dibuat larutan standar vitamin C dengan konsentarsi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dengan cara dipipet larutan induk vitamin c sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL, dan 1,2 mL kemudian diencerkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas.

Pengukuran Larutan Standar (asam askorbat) Vitamin C

Larutan standar vitamin C pada konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm diukur serapannya dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat, yaitu sebesar 244 nm.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

Penetapan Kadar Vitamin C Sampel Fraksi Kulit Buah Melinjo (*Gnetum gnemol* L)

Ditimbang sampel masing-masing fraksi sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan etanol sampai tanda batas. Larutan masing-masing fraksi diencerkan 10 kali dengan cara mengambil 1 mL larutan stok masing-masing fraksi (1000 ppm). Selanjutnya diukur absorbansi larutan tiap fraksi menggunakan spektrofotomeri UV-Vis pada panjang gelombang 244 nm.

Perhitungan Kadar Vitamin C

Data absorbansi standar (asam askorbat) vitamin C pada tiap konsentrasi diregresi agar memperoleh persamaan regresi. Selanjutnya data absorbansi larutan sampel dari masing-masing fraksi dihitung nilai kadar vitamin Cnya dengan persamaan:

$$\text{Kadar Vitamin C} = \frac{Konsentrasi\ (X)}{Konsentrasi\ (Awal)} \text{ x } fp \text{ x } 100\%$$

Dimana fp = faktor pengenceran

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sampel ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditandabataskan dengan etanol (larutan induk 1000 ppm). Kemudian dibuat larutan standar 75 ppm, 100 ppm, 125 ppp, 175 ppm, dan 200 ppm dari larutan induk dengan cara dipipet larutan induk sebanyak 0,75 mL, 1 mL, 1,25 mL, 1,75 mL, dan 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditandabataskan dengan etanol. Masing masing larutan standar dipipet sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,3 mM.[22]

Pembuatan kontrol standar DPPH

Larutan kontrol dibuat dengan cara dipipet 2,5 mL etanol dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,3 mM. Selanjutnya larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan instrumen alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yang telah didapatkan yaitu sebesar 516,1 nm.

Analisa Data Persentase (%) Inhibisi

Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi masing-masing fraksi dihitung nilai persen (%) inhibisinya. Nilai tersebut diperoleh dari persamaan:

$$\%\ Inhibisi = \frac{Abs\ kontrol\ - Abs\ sampel}{Abs\ kontrol}\ x\ 100\%$$

Penentuan Daya Antioksidan (IC_{50})

Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi masing-masing fraksi pelarut diolah menggunakan aplikasi SPSS dengan analisa regresi probit agar memperoleh nilai IC_{50} dan ditentukan kategori kekuatan dari aktivitas antioksidan yang didapat.

HASIL

Hasil proses fraksinasi cair–cair dari filtrat maserasi dengan perbandingan 1:1 menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yaitu non polar, semi polar dan polar berturut-turut yaitu, n-heksan, etil asetat dan etanol yang kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan menggunakan *water bath* menghasilkan persen rendemen dengan jumlah yang berbeda–beda pada tiap jenis fraksi pelarutnya yang datanya dipaparkan dalam Tabel 1.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

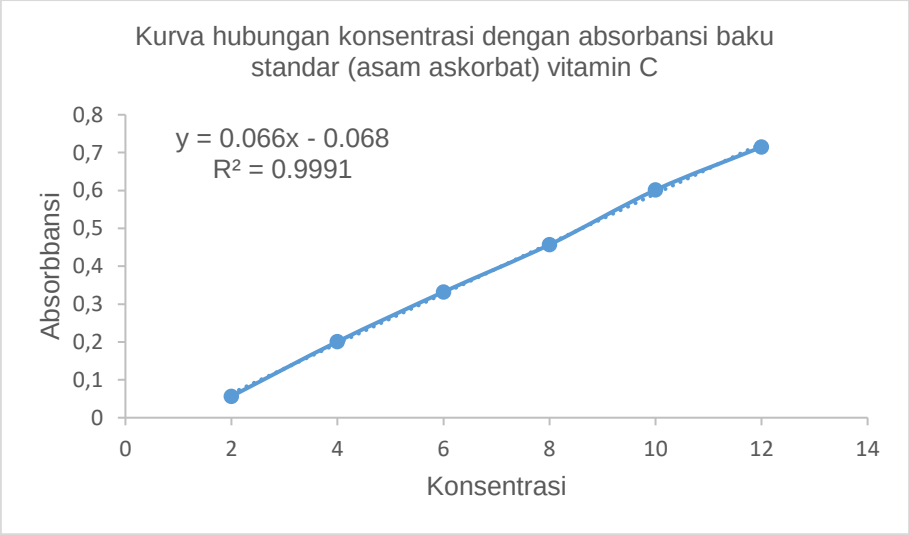
Tabel 1. Data Rendemen Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Melinjo (*Gnetum gnemon* L)

Sampel	Sampel Kering (gr)	Ekstrak Kental (gr)	Rendemen (%)
Fraksi Etanol	400	8,71	2,17
Fraksi Etil Asetat		7,86	1,96
Fraksi N-Heksan		1,83	0,45

Hasil perolehan data yang ditampilkan dalam Tabel 1. dapat diamati bahwa jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda dapat mempengaruhi jumlah hasil dari rendemen fraksi. Fraksi etanol (polar) menghasilkan jumlah rendemen terbanyak dengan total sebesar 2,17 %, diikuti oleh fraksi etil asetat (semi polar) menghasilkan rendemen sebanyak 1,96 %, dan fraksi n-heksan menghasilkan rendemen sebanyak 0,457 %.

Penentuan Kadar Vitamin C

Pengujian kadar vitamin C menggunkan asam askorbat sebagai larutan standar dihitung nilai serapannya dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm pada panjang gelombang maksimum 244 nm dengan menggunakan alat analisa instrumen spektrofotometri UV-Vis diperoleh hasil persamaan regresi linear: $y = 0{,}066x - 0{,}068$.



Gambar 1. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan Absorbasi Baku Standar Vitamin C

Dalam data kurva yang ditampilkan pada Gambar 1. menunjukan nilai R^2: 0,9991 mendekati angka 1 yang memiliki makna semakin tinggi tingkat korelasi dan pengaruhnya.[23] Persamaan regresi dari baku standar asam askorbat yang telah diperoleh digunakan untuk menghitung penetapan kadar Vitamin C pada masing-masing sampel fraksi dari kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) dan didapatkan data kadar vitamin C yang disajikan pada Tabel 2.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

Tabel 2. Kadar Vitamin C Kulit Buah Melinjo (*Gnetum gnemon* L) dalam Setiap Fraksi

No.	Sampel	Berat (g)	Konsentrasi (awal) (ppm)	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Volume sampel (mL)	FP	Kadar Vitamin C (µg/mL)
1.	F. Etanol	0,0100	1000	0,4168 ± 0,0006	7,3483	1	10	7,3483 ± 0,0093
2.	F. Etil Asetat	0,0100	1000	0,3957 ± 0,0010	7,0285	1	10	7,0285 ± 0,0149
3.	F. n-Heksan	0,0100	1000	0,1702 ± 0,0008	3,6108	1	10	3,6108 ± 0,0131

Data yang ditampilkan dalam Tabel 2. yang didapat dari persamaan regresi y = 0.066x - 0.068 menunjukkan hasil kadar vitamin C yang berbeda pada setiap fraksi pelarut dengan jenis kepolaran yang berbeda, hasil tertinggi kadar vitamin C diperoleh pada sampel fraksi etanol dengan kadar sebesar 7,3483 µg/mL, diikuti oleh sampel fraksi etil asetat sebesar 7,0285 µg/mL, dan yang terkecil didapat pada sampel fraksi n-heksan dengan kadar 3,6108 µg/mL.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Penentuan panjang gelombang maksimal dari DPPH 0,3 mM menggunakan alat instrumen spektrofotometri UV-Vis diperoleh hasil pada panjang gelombang maksimum 516,1 nm, panjang gelombang tersebut digunakan dalam proses absorbansi. Diperoleh hasil data dari proses absorbansi masing–masing sampel fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol pada masing–masing konsentrasi beserta hasil persen inhibisi dan nilai IC_{50} aktivitas antioksidannya dalam mereduksi radikal bebas yang berasal dari DPPH yang ditampilkan pada Tabel 3., Tabel 4., Dan Tabel 5.

Tabel 3. Data Hasil Uji Persen (%) Inhibisi dan IC_{50} pada Fraksi Etanol

No.	C sampel (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
1.	75	0,8963 ± 0,0008	0,7311 ± 0,0010	18,4313 ± 0,1621	333,98
2.	100	0,8955 ± 0,0002	0,6741 ± 0,0005	24,7236 ± 0,0573	
3.	125	0,8959 ± 0,0003	0,6606 ± 0,0003	26,2641 ± 0,0554	
4.	175	0,9016 ± 0,0005	0,5894 ± 0,0005	34,6273 ± 0,0176	
5.	200	0,8981 ± 0,0003	0,5511 ± 0,0001	38,6371 ± 0,0737	

Data dalam Tabel 3. diatas menampilkan hasil uji persen inhibisi dan nilai IC_{50} dari sampel fraksi pelarut etanol yang bersifat polar pada setiap variabel konsentrasi dengan 3 kali replikasi dengan hasil persen inhibisi terbesar pada konsentrasi 200 ppm sebesar 38,6371 % yang menunjukkan bahwa sampel fraksi etanol memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mendegradasi radikal bebas dari DPPH yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 333,98 µg/mL dengan kategori lemah.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

Tabel 4. Data hasil uji persen (%) inhibisi dan IC_{50} pada fraksi etil asetat

No.	C sampel (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
1.	75	0,8977 ± 0,0005	0,7289 ± 0,0001	18,8036 ± 0,0519	279,35
2.	100	0,8979 ± 0,0001	0,6988 ± 0,0004	22,1740 ± 0,0493	
3.	125	0,8978 ± 0,0003	0,6651 ± 0,0003	25,9189 ± 0,0156	
4.	175	0,8977 ± 0,0001	0,6651 ± 0,0002	31,5807 ± 0,0301	
5.	200	0,8986 ± 0,0003	0,6142 ± 0,0003	46,0717 ± 0,0299	

Dalam Tabel 4. menampilkan data hasil uji persen inhibisi dan nilai IC_{50} dari sampel fraksi pelarut etil asetat yang bersifat semi polar pada setiap variabel konsentrasi dengan 3 kali replikasi dengan hasil persen inhibisi terbesar pada konsentrasi 200 ppm sebesar 46,0717 % yang menunjukkan bahwa sampel fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mendegradasi radikal bebas dari DPPH yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 279,35 µg/mL dengan kategori lemah.

Tabel 5. Data hasil uji persen (%) inhibisi dan IC_{50} pada fraksi n-heksan

No.	C sampel (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
1.	75	0,8976 ± 0,0002	0,8425 ± 0,0004	6,1386 ± 0,0608	4077,31
2.	100	0,8997 ± 0,0003	0,8256 ± 0,0002	8,2361 ± 0,0473	
3.	125	0,8986 ± 0,0004	0,8223 ± 0,0003	8,4910 ± 0,0641	
4.	175	0,9029 ± 0,0029	0,8064 ± 0,0003	10,6878 ± 0,2701	
5.	200	0,9007 ± 0,0006	0,7842 ± 0,0006	12,9344 ± 0,1131	

Data yang ditampilkan pada Tabel 5. memuat hasil uji persen inhibisi dan nilai IC_{50} dari sampel fraksi pelarut n-heksan yang bersifat non polar pada setiap variabel konsentrasi dengan 3 kali replikasi dengan hasil persen inhibisi terbesar pada konsentrasi 200 ppm sebesar 12,9344 % yang menunjukkan bahwa sampel fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mendegradasi radikal bebas dari DPPH karena memiliki nilai IC_{50} sebesar 4077,31 µg/mL.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *Quasi Experimental Design*, dengan model *Nonequivalent Control Group Design* karena pada penelitian ini mempunyai kelompok kontrol akan tetapi tidak dipilih secara acak, serta kelompok kontrol yang dimiliki tidak dapat sepenuhnya mengontrol variable lain yang mampu mempengaruhi hasil penelitian.[24]

Dari data yang telah diperoleh ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa rendemen ekstrak hasil fraksinasi dengan jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda akan menghasilkan jumlah rendemen yang berbeda pula.[25]

Digunakannya tiga buah jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda memiliki tujuan agar dapat mengidentifikasi dan memperoleh senyawa aktif pada kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) berdasarkan pada tingkat kepolarannya. Digunakannya pelarut dengan jenis kepolaran yang berbeda dapat menghasilkan komponen dari polifenol yang berbeda pula, yang pada akhirnya sifat dari antioksidan yang dipunyai oleh setiap senyawa yang diterima dari fraksinasi tersebut juga tidak sama.[26]

Penetapan kadar vitamin C berdasarkan data yang diperoleh

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

membuktikan kadar vitamin C dari sampel fraksi etanol dapat menghasilkan kadar tertinggi, yaitu sebesar 7,3483 µg/mL diikuti oleh sampel dari sampel fraksi etil asetat sebesar 7,0285 µg/mL dan yang terkecil dari sampel fraksi n-heksan sebessar 3,6108 µg/mL. Hasil penarikan pelarut etanol yang bersifat polar memiliki selisih hasil yang lebih rendah dari hasil penarikan oleh pelarut etil asetat yang bersifat semi polar, namun dari kedua pelarut polar dan semi polar tersebut memiliki selisih hasil penarikan vitamin C yang cukup signifikan dari hasil penarikan pelarut n-heksan yang memiliki sifat non polar. Hasil data yang diperoleh menunjukkan bahwa pelarut yang memiliki sifat kepolaran lebih tinggi mampu menarik vitamin C dari simplisia kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) dengan lebih efektif dibandingkan dengan pelarut lainnya yang memiliki kepolaran lebih rendah yang dalam penelitian ini adalah pelarut n-heksan. Hasil data ini terjadi dikarenakan vitamin C sendiri merupakan senyawa yang memiliki banyak ikatan polar O-H dan C-O, sehingga membuat vitamin C bersifat polar dan dapat tertarik dengan efektif oleh pelarut etanol yang memiliki tingkat kepolaran lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya, yaitu etil asetat dan n-heksan.[27]

Data mengenai hasil uji aktivitas antioksidan pada fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksan dari kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) menunjukkan ketiganya terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mereduksi radikal bebas dari DPPH pada nilai IC_{50} yang diperoleh. DPPH atau 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl disini bertindak sebagai radikal bebas yang akan terdegradasi oleh aktivitas pendonoran elektron berupa hidrogen sehingga warna dari DPPH mengalami perubahan yang awalnya berwarna violet berubah menjadi warna kuning, penyebab dari terjadinya aktivitas pendegradasian radikal bebas dari DPPH ini karena disebabkan oleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, intensitas perubahan warna ini akan berbanding lurus dengan banyaknya jumlah elektron yang disumbangkan pada DPPH serta turunnya nilai absorbansi DPPH, oleh sebab itu DPPH dipakai dalam metode untuk menguji aktivitas antioksidan yang dikandung oleh simplisia.[28]

Data pengujian pada masing-masing hasil fraksi sampel menunjukkan perbedaan hasil yang cukup signifikan pada nilai IC_{50} sebagai aktivitas antioksidan dalam menekan radikal bebas dari DPPH antara satu sama lain. Fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} terkecil dari ketiga jenis sampel pelarut yaitu sebesar 279,35 µg/mL yang berarti sampel fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terkuat dari ketiga jenis sampel, diikuti oleh sampel fraksi etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 333,98 µg/mL, dan sampel dari fraksi n-heksan dengan nilai IC_{50} sebesar 4077,31 µg/mL. Hasil perolehan data nilai IC_{50} dari ketiga sampel fraksi dengan kepolaran pelarut yang berbeda dari kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon* L) dapat dikatakan memiliki kekuatan aktivitas antioksidan dengan kategori lemah.[29] Kategori kekuatan antioksidan dapat dilihat dari perolehan nilai IC_{50}, semakin kecil perolehan nilai IC_{50} maka semakin kuat kategori dari aktivitas antioksidan suatu senyawa, skala kategori kekuatan antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ µg/mL, kategori kuat jika nilai IC_{50} 50–100 µg/mL, kategori sedang jika nilai IC_{50} 101–150 µg/mL, dan kategori lemah jika nilai IC_{50} 151–200 µg/mL.[30] Meskipun perolehan data aktivitas antioksidan fraksi etanol dan fraksi etil asetat menghasilkan nilai IC_{50} dikisaran antara 200–1000 µg/mL akan tetapi masih berpotensi menjadi sumber antioksidan alami dengan kategori lemah.[31]

Data nilai IC_{50} yang telah diperoleh menunjukkan sampel fraksi etil asetat yang bersifat semi polar memiliki kekuatan aktivitas antioksidan yang paling kuat atau efektif dalam

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

menekan radikal bebas yang berasal dari DPPH dan diurutan kedua adalah sampel dari fraksi etanol yang bersifat polar. Aktivitas antioksidan dari pelarut etil asetat dan etanol dengan nilai nilai IC_{50} yang tinggi ini diduga karena disebabkan mengandung vitamin C dengan kadar paling banyak dibandingkan dengan sampel fraksi n-heksan. Keadaan ini dikarenakan vitamin C sendiri merupakan senyawa yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang terbaik dalam mereduksi radikal bebas dibandingkan dengan kumpulan komponen beberapa senyawa.[32] Vitamin C dapat menjadi antioksidan karena memiliki gugus hidroksi dalam keadaan bebas yang dapat menangkap molekul yang tidak memiliki pasangan elektron dari radikal bebas.[33] Meskipun pada pelarut etanol memiliki kandungan kadar vitamin C lebih tinggi yang mampu menjadi sumber antioksidan dibandingkan oleh fraksi etil asetat, akan tetapi aktivitas antioksidan tertinggi ada pada fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} sebesar 279,35 µg/mL, hasil ini dapat dipengaruhi oleh senyawa lain seperti aglikon flavonoid, alkaloid, polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat larut dalam didalam pelarut semi polar yang pada penelitian ini menggunakan pelarut etil asetat.[34]

Kondisi ini juga diduga disebabkan karena senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti flavonoid, kuinon, dan polifenol memiliki sifat polar yang membuatnya dapat dengan mudah terlarut lebih efektif pada pelarut polar dan semi polar, dan mengakibatkan pula sampel dari fraksi n-heksan yang memiliki sifat non polar tidak mampu melarutkan senyawa antioksidan yang bersifat polar untuk dapat mereduksi radikal bebas dari DPPH dan terbukti aktivitas antioksidan sampel fraksi n-heksan memiliki nilai IC_{50} terkecil diantara jenis pelarut lainnya.[35] Kemampuan aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan adalah yang terkecil nilai IC_{50}nya dalam mendegradasi radikal bebas DPPH dibandingkan jenis pelarut lainnya, hasil ini disebabkan karena senyawa yang ikut terlarut didalam proses penarikan oleh pelarut non polar dalam penelitian ini adalah sampel fraksi n-heksan seperti, lemak, protein tidak memiliki aktivitas antioksidannya dalam proses mendegradasi radikal bebas dari DPPH.[36]

SIMPULAN

Pelarut dengan kepolaran lebih tinggi mampu mengekstrak vitamin C lebih efisien dan pelarut yang bersifat semi polar mampu lebih efektif menarik senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, jenis kepolaran dari sebuah pelarut mampu mempengaruhi jumlah serta jenis senyawa yang akan diekstraksi sesuai dengan kepolaran dari senyawa tersebut. Direkomendasikan penelitian selanjutnya untuk menguji senyawa aktif antioksidan fraksi etil asetat dan metode lain pengujian aktivitas antioksidan kulit buah melinjo lalu membandingkan hasilnya dengan hasil penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI. Penyakit Kanker di Indonesia Berada pada Urutan 8 di Asia Tenggara dan Urutan 23 di Asia. Published 2019. http://p2p.kemkes.go.id/penyakit-kanker-di-indonesia-berada-pada-urutan-8-di-asia-tenggara-dan-urutan-23-di-asia/
2. Ningrum MP, Rahayu RSR. Determinan Kejadian Kanker Payudara pada Wanita Usia Subur (15-49 Tahun). *Indones J Public Heal Nutr*. 2021;1(3):362-370. http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/IJPHN
3. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001

4. Youngson DR. *Antioxidant : Vitamins C & E for Health*. (Juwono L, ed.). Jakarta; Arcan; 2007.
5. Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *J Agric Food Chem*. 2002;50(7):2161-2168. doi:10.1021/jf011348w
6. Prakash A, Rigelhof F, Miller E. Medallion Laboratories Analytical Progress: Antioxidant Activity. *J DeVries, PhD (ed), Medallion Lab*. 2001;19(2):1-6.
7. Linder MC. *Nutritional Biochemistry And Metabolism: With Clinical Applications*. (Parakkasi A, ed.). Jakarta; UI-Press; 1992.
8. Suryohudoyo P. Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. Published online 2000:1-11. https://adoc.pub/oksidan-antioksidan-dan-radikal-bebas.html
9. Pakaya D. Peranan Vitamin C Pada Kulit. *J Ilm Kedokteran, Med Tadulako*. 2014;1(2):45-54.
10. Temple NJ. Antioxidants and Disease: More Questions Than Answers. *Nutr Res*. 2000;20(3):449-459.
11. Hasriyani, Akhsayin, Dikdayani L. Uji Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Biji dan Kulit Melinjo (Gnetum gnemon L.) dengan Metode DPPH. *Indones J Farm*. 2021;6(1):8-16.
12. Apriliyanti MW, Ardiyansyah M, Handayani AM. Antioxidant Activity, Total Phenol, and Sensory Properties of Melinjo Peel Tea with Pre-Treatment. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2018;207(1). doi:10.1088/1755-1315/207/1/012044
13. Kunarto B, Pratiwi E. Evaluasi Sifat Antioksidatif Mikroenkapsul Ekstrak Kulit Melinjo Merah (Gnetum gnemon L.) yang Dienkapsulasi Menggunakan Gam Arab dan Maltodekstrin. In: *Prosiding Seminar Nasional Nutrisi, Keamanan Pangan Dan Produk Halal, Surakarta*. Vol 26. ; 2014:241-247.
14. Amini SA, Yuliawati KM, Kodir RA. Penelusuran Pustaka Pemanfaatan Kulit Buah Melinjo (Gnetum gnemon L) sebagai AntiHiperurisemia. *Pros Farm*. 2021;7(2):758-762. http://dx.doi.org/10.29313/.v0i0.30655
15. Suhendar A. Kerikil as a Diversified Product from Melinjo Skin For Economic Improvement of the Community on Kadu Agung Village [Kerikil sebagai Produk Diversifikasi Olahan Kulit Melinjo untuk Peningkatan Ekonomi Masyarakat Desa Kadu Agung]. *Proceeding Community Dev*. 2018;2:250-256. doi:https://doi.org/10.30874/comdev.2018.299
16. Satria R, Hakim AR, Darsono PV. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Eng Technol Appl Sci*. 2022;4(1):33-46. doi:10.36079/lamintang.jetas-0401.353
17. Ahwan A. Identifikasi dan Isolasi Isolat Non Polar, Semipolar dan Non Polar dari Fraksi Heksana Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.) dengan Metode TLC Scanner dan GC-MS. *J Ilm Farm*. 2018;1(2):88-99.
18. Leksono WB, Pramesti R, Santosa GW, Setyati WA. Jenis Pelarut Metanol Dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Gelidium sp. Dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *J Kelaut Trop*. 2018;21(1):9. doi:10.14710/jkt.v21i1.2236
19. Pratiwi DN, Utami N, Pratimasari D. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar , Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (Carica papaya L .). *J Farm*. 2021;2(1):1-7.

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

https://ojs.stikesnas.ac.id/index.php/jf/article/view/152

20. Chairunnisa S, Wartini NM, Suhendra L. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana L.) sebagai Sumber Saponin. *J Rekayasa Dan Manaj Agroindustri*. 2019;7(4):551. doi:10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07
21. Sie JO. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. *J Ilm Mhs Univ Surabaya*. 2013;2 no 1(1):1-10.
22. Molyneux P. The Use of The Stable Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;50(June 2003):211-219.
23. Sarwono J. *Metode Penelitian Kuantitatif & Kualitatif*. Yogyakarta; Graha Ilmu; 2006.
24. Sugiyono. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R&D*. Bandung; Alfabeta; 2013.
25. Sayuti M. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (Isis Hippuris). *Technol Sci Eng J*. 2017;1(3):2549-1601. https://politeknikaup.ac.id/assets/dokumen/publikasi/ilmiah/20211021102302.pdf
26. Pambayun R, Gardjito M, Sudarmadji S, Kuswanto KR. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (Uncaria gambir Roxb) Phenolic content and antibacterial properties of various extracts of gambir (Uncaria gambir Roxb). *Maj Farm Indones*. 2007;18(3):141-146.
27. Dewi PJN, Ganda Putra GP, Suhendra L. Effect of Solvent Type and Maceration Time on Characteristics and Stability of Lime Orange Extract (Citrus amblycarpa) as Natural Antioxidants in Foods. *Media Ilm Teknol Pangan (Scientific J Food Technol*. 2022;9(1):1-14.
28. Sinala S, Sisilia Tresia Rosmala Dewi. Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro dari Ekstrak Etanol Propolis dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). 2019;15(1).
29. Rumagit HM, Runtuwene MRJ, Sudewi S. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons Lamellodysidea herbacea. *PHARMACON J Ilm Farm*. 2015;4(3):2302-2493.
30. Ajhar NM, Meilani D. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Kopi Arabika (Coffea arabica) yang Tumbuh di Daerah Gayo dengan Metode DPPH. *Pharma Xplore J Ilm Farm*. 2020;5(1):34-40. doi:10.36805/farmasi.v5i1.978
31. Islami N, Nasution MP. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Kurma Safawi (Phoenix dactylifera L.) Menggunakan Metode DPPH. 2022;1(2):149-157.
32. Yuliani NN, Sambara J, Mau MA. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) Dengan Metode DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Inf Kesehat*. 2016;14(6):1091-1111.
33. Damanis FV., Wewengkang DS, Antasionasti I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian Herdmania Momus dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *J PHARMACON*. 2019;8(November):671-678.
34. Wicaksono B, Pratimasari D, Lindawati NY. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Bunga Telang (Clitoria ternatea L.) Dengan Metode ABTS. *J Kesehat Kartika*. 2021;16(3):88-94.
35. Mustarichie R, Runadi D, Ramdhani D. The antioxidant activity and phytochemical screening of ethanol

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451

e-ISSN: 2579-8103
p-ISSN:1979-8253

extract, fractions of water, ethyl acetate, and n-hexane from mistletoe tea (Scurrula atropurpurea BL. dans). *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;10(2):343-347. doi:10.22159/ajpcr.2016.v10i2.15724

36. Rahmadani D, Nasution HM. Potensi Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi N-Heksana Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Jawa (Tamarindus indica L.) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. *FARMASAINKES J Farm Sains, dan Kesehat*. 2021;1(1):28-37. https://jurnal-lp2m.umnaw.ac.id/index.php/FJFSK/article/view/814

https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2451