



Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Antioksidan

Sogandi^{a,*}, Rabima^a

^a Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Sunter, Jakarta Utara 14356, Indonesia

* Corresponding author: sogandi@uta45jakarta.ac.id

<https://doi.org/10.14710/jksa.22.5.206-212>

Article Info

Article history:

Received: 13 July 2019
 Revised: 13 August 2019
 Accepted: 20 August 2019
 Online: 30 September 2019

Keywords:

Antioxidant; Bioactive;
 DPPH; Noni fruits
 (*Morinda citrifolia* L)

Abstract

Title: Identification of Active Compound Extracts from Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.) and Its Potential as Antioxidants

Antioxidants are compounds that can inhibit oxidation reactions by binding to free radicals and highly reactive molecules. One form of reactive oxygen compounds is free radicals, these compounds are formed in the body and are triggered by various factors. Noni fruits have been used by the community as a medicine for high blood pressure, beriberi, urinating, inflammation of bile, inflammation of the intestine, dysentery, constipation, spleen pain, liver pain, diabetes and lumbago. Nevertheless, research on the identification of the active compounds of noni fruit which act as antioxidants yet. This study aims to extract and fractionation of Noni fruit, determine the antioxidant activity of Noni fruit extract, and identify the types of bioactive compounds that act as antioxidants. Noni fruit was extracted used maceration technique with 96% ethanol and then fractionated using n-hexane, chloroform and ethyl acetate solvents. Antioxidant activity from the results of noni fruit fractionation was measured by the DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrachyl) method and identification of bioactive compounds was carried out by GCMS. The results showed the greatest antioxidant activity was found in chloroform fraction with a percentage of inhibition of 78.19%. For the first time this study revealed the types of bioactive compounds from noni fruit ethyl acetate fraction which act as antioxidants are n-hexadecanoic acid, squalene, pyridin-3-carboxamide, oxime, n- (2-trifluoro methyl phenyl), and beta-sitosterol

Abstrak

Kata Kunci:

Antioksidan; Bioaktif;
 DPPH; Mengkudu (*Morinda citrifolia* L)

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Tanaman mengkudu sudah dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tekanan darah tinggi, beri-beri, melancarkan kencing, radang empedu, radang usus, disentri, sembelit, nyeri limpa, sakit liver, kencing manis dan sakit pinggang. Namun belum ada penelitian mengenai identifikasi senyawa aktif dari buah mengkudu yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan melakukan fraksinasi buah mengkudu, mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak buah mengkudu, serta mengidentifikasi jenis senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan. Buah mengkudu diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Aktivitas antioksidan dari hasil fraksinasi buah mengkudu diukur dengan metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) dan identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan GCMS. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan terbesar terdapat pada fraksi kloroform dengan persen inhibisi sebesar 78,19%. Untuk pertama kalinya penelitian ini

mengungkapkan jenis senyawa bioaktif dari buah mengkudu fraksi etil asetat yang berperan sebagai senyawa antioksidan adalah n-hexadecanoic acid, squalene, pyridin-3-carboxamide, oxime, n-(2-trifluoro methyl phenyl), dan beta-sitosterol.

1. Pendahuluan

Kerusakan oksidatif dari komponen sel merupakan salah satu faktor penting yang berhubungan dengan beberapa penyakit seperti diabetes melitus, kanker, dan kardiovaskular [1]. Kerusakan oksidatif terutama dipicu oleh senyawa radikal bebas ROS (*reactive oxygen species*). Oksigen reaktif (ROS) yang terdiri dari SAFR (O-2), HFR (OH-), hidrogen peroksida (H₂O₂), dan oksigen tunggal (O₂) dibentuk melalui proses endogen pada metabolisme makanan ataupun proses eksogen [2]. Radikal bebas di dalam tubuh menyebabkan kerusakan pada membran lipid, protein, DNA, dan RNA [3].

Antioksidan berfungsi dalam menghambat pembentukan radikal, pembentukan hidrogen peroksida, pengambilan radikal, dan peroksida lainnya. Antioksidan dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) atau luar tubuh (eksogen). Antioksidan dapat diproduksi oleh semua organisme diantaranya superoksida dismutase, katalase, dan antioksidan non-enzimatik (biomolekul) yaitu glutathion [4]. Keperluan tubuh terhadap antioksidan yang sangat tinggi menyebabkan antioksidan endogen tidak mencukupi. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan luar yang berasal dari asupan makanan untuk mengurangi kerusakan [5, 6]. Beberapa antioksidan eksogen dapat disintesis secara kimiawi yaitu butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) dan n-propyl gallate (PG) juga dapat digunakan namun lebih banyak pada bidang industri makanan.

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas tinggi dan memiliki kawasan hutan hujan tropis yang luas. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai bahan baku obat. Saat ini, banyak dilakukan pencarian tumbuhan obat yang belum teridentifikasi secara ilmiah di daerah pedalaman atau daerah hutan. Tanaman yang sudah banyak digunakan sebagai obat adalah tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Buah mengkudu merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai obat tekanan darah tinggi, beri-beri, melancarkan kencing, radang empedu, radang usus, disentri, sembelit, nyeri limpa, sakit liver, kencing manis dan sakit pinggang [7].

Penelitian mengenai ekstrak dari tanaman mengkudu telah banyak dilakukan, namun penelitian tentang identifikasi jenis senyawa aktif dari hasil fraksinasi ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) sebagai penghasil senyawa antioksidan belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan melakukan fraksinasi buah mengkudu, mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak buah mengkudu, serta mengidentifikasi jenis senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan.

2. Metode Penelitian

2.1. Ekstraksi Sampel

Buah mengkudu diperoleh dari BALITRO dan determinasi dilakukan di LIPI. Simplisia kering disortir dan dipilih buah mengkudu yang bebas dari jamur maupun karakteristik yang kurang baik, kemudian simplisia dicuci bersih. Buah mengkudu yang telah bersih dikeringkan dan dirajang membentuk potongan kecil, kemudian dihaluskan [8]. Sebanyak 2,5 kg buah mengkudu yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam bejana kaca, diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan ekstrak dan pelarut adalah 1:3, dengan volume pelarut tiga kali lebih banyak dari jumlah serbuk simplisianya yaitu 7,5 L. Maserasi dilakukan dalam waktu 24 jam dengan tiga kali pengadukan selama 3 hari. Maserat yang diperoleh, dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan diputar dengan kecepatan 60 rpm untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dihitung nilai rendemennya [9].

2.2. Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak etanol kental buah mengkudu ditimbang sebanyak 50 gram, lalu diencerkan dengan 100 mL air panas, kemudian ditambahkan 100 mL n-heksan, diaduk dan dimasukkan ke dalam corong pemisah, didiamkan sampai terpisah menjadi dua lapisan. Fraksi n-heksan dipisahkan, fraksi air difraksinasi dengan kloroform sebanyak 100 mL, sehingga diperoleh fraksi kloroform dan fraksi air. Fraksi air dilanjutkan fraksinasi menggunakan etil asetat sebanyak 100 mL, lalu kocok dan diamkan sampai diperoleh dua lapisan. Pisahkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Masing-masing fraksi yang telah ditampung kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* [9].

2.3. Uji Bebas Etanol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol buah mengkudu dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 1 mL asam asetat glasial, dan 1 mL asam sulfat pekat. Kemudian dihomogenkan dan dipanaskan, lalu tutup bagian atas tabung dengan kapas. Jika tidak tercium bau ester maka larutan tersebut positif bebas etanol [10].

2.4. Skrining Metabolit Sekunder

2.4.1. Identifikasi antrakuinon

Uji identifikasi antrakuinon dilakukan dengan cara uji Brontrager. Dua mililiter ekstrak diuapkan sampai kering, lalu setelah dingin ditambah 10 mL aqudest kemudian disaring. Filtrat diekstrak kembali dengan 5 mL toluen. Hasil ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, bagian A dan B. Filtrat A digunakan sebagai blangko dan filtrat B ditambahkan 5 mL ammonia kemudian dikocok, bila terdapat warna merah berarti hasil positif [10].

2.4.2. Identifikasi alkaloid

Dua tetes ekstrak ditambahkan satu tetes HCl, jika terbentuk larutan yang bening, maka dapat langsung diuji dengan pereaksi mayer, dragendorf, dan bouchardat. Jika tidak bening ekstrak ditambahkan NH_4OH kemudian ditambahkan CHCl_3 , dikocok dan kemudian diambil lapisan CHCl_3 kemudian ditambahkan lagi HCl 2N, dikocok lalu diambil lapisan air dan langsung direaksikan dengan pereaksi mayer, dragendorf, dan bouchardat. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih jika direaksikan dengan pereaksi mayer, merah atau jingga dengan pereaksi dragendorf, dan coklat dengan pereaksi bouchardat [10].

2.4.3. Identifikasi tanin

Ekstrak sebanyak 1–2 tetes ditambah dengan larutan FeCl_3 1% sebanyak 3 tetes. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan warna biru kehijauan atau hijau tua [10].

2.4.4. Identifikasi flavonoid

Ekstrak buah mengkudu sebanyak 0,5 g ditambahkan dengan 20 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. 5 mL filtrat ditambahkan 0,05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Positif mengandung flavonoid apabila terbentuknya endapan warna merah, kuning atau jingga [10].

2.4.5. Identifikasi steroid dan triterpenoid

Ekstrak buah mengkudu sebanyak 2 tetes ditambah asam asetat glasial 10 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Positif mengandung steroid apabila terbentuk warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid terbentuk warna merah atau ungu [10].

2.4.6. Identifikasi golongan Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak buah mengkudu ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, setelah dingin langsung dikocok kuat selama 10 detik, jika terbentuk adanya buih yang stabil selama 10 menit setinggi 1–10 cm dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N buihnya tidak hilang, maka menunjukkan adanya senyawa saponin [10].

2.5. Pengukuran aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1 difenil-2-pikrilhidrazil*) yang dibuat dengan konsentrasi 100 ppm menggunakan *micoplate 96 well*. Pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm menggunakan mesin *Elisa reader*. Digunakan pembanding yakni asam askorbat sebagai kontrol positif dari aktivitas antioksidan. Larutan induk dibuat dengan melarutkan 10 mg sampel dalam 10 mL methanol p.a, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan sampel ditambahkan dengan 2 mL methanol p.a, kemudian ditambah larutan DPPH 100 ppm 1 mL. Setelah itu dikocok dengan vortex hingga homogen. Lalu diinkubasi di tempat gelap pada suhu ruang selama

30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm [11].

2.6. Identifikasi senyawa bioaktif

Senyawa bioaktif dari fraksi buah mengkudu yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi diidentifikasi menggunakan GCMS (Agilent Technologies 7890). Jenis kolom yang digunakan adalah HP Ultra 2. *Capillary Column* (30 m × 0.20 mm LD, 0.11 μm film thickness) dengan kondisi temperatur kolom 250°C, helium sebagai gas pembawa memiliki laju alir 30 cm/detik, rasio 1/30, temperatur sumber ion 230°C, dan suhu ion permukaan adalah 280°C.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi sampel tanaman mengkudu di LIPI Bogor untuk memastikan spesies sampel yang akan digunakan adalah benar dari tanaman mengkudu. Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang menjadi sampel dalam penelitian ini adalah *Morinda citrifolia* L.

3.1. Ekstraksi dan Fraksinasi Buah Mengkudu

Metode ekstraksi yang digunakan adalah menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan perendaman dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya [12]. Pemilihan metode maserasi ini merupakan metode yang sesuai untuk tekstur serbuk buah mengkudu yang lunak. Pelarut etanol 96% ini dipilih sebagai cairan penyari dalam penelitian ini karena etanol 96% merupakan pelarut yang bersifat universal, sehingga dengan menggunakan etanol 96% diharapkan metabolit sekunder yang ada didalam sampel sebagian besar dapat terambil oleh etanol. Etanol memiliki sifat dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang dibutuhkan untuk pemekatan juga lebih rendah [10]. Selain itu juga, etanol 96% lebih efisien dalam mendegradasi dinding sel, sehingga metabolit sekunder dapat tersari lebih banyak. Etanol 96% juga lebih meminimalisir kontaminasi dan pertumbuhan mikroorganisme lain pada ekstrak karena hanya mengandung 4% air [12]. Proses pemekatan ekstrak cair dilakukan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada kisaran suhu 40–50°C, alasan penggunaan rotary evaporator sebagai alat penguap karena pelarut dapat menguap dibawah titik didihnya, hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak selama proses penyarian.

Hasil maserasi ekstrak kental buah mengkudu yang diperoleh sebanyak 180,5 gram dengan persen rendemen 7,22% serta kadar air 8,27%. Kriteria ini memenuhi standar yang sudah ditetapkan oleh Badan Pemeriksa Obat dan Makanan (BPOM) [13]. Selanjutnya dilakukan standarisasi terhadap ekstrak etanol yang dihasilkan. Standarisasi ini dilakukan untuk mengontrol atau

menjaga mutu simplisia ataupun ekstrak sehingga didapatkan ekstrak yang bermutu, aman dan bermanfaat berdasarkan parameter nonspesifik dan parameter spesifik suatu sample [10]. Hasil standardisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Standardisasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Pengamatan	Hasil
Rendemen	7,22%
Organoleptis	
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Kuning kecoklatan
Rasa	Pahit
Bau	Khas mengkudu

Ekstrak kental yang didapat selanjutnya difraksinasi. Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya antara pelarut air dan pelarut organik. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari nonpolar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat nonpolar dapat larut dalam pelarut nonpolar, semi polar larut dalam pelarut yang bersifat semi polar, dan yang bersifat polar pun akan larut kedalam pelarut yang bersifat polar juga yang dikenal dengan prinsip prinsip “Like dissolve like” [14].

Fraksinasi menggunakan pelarut organik yang memiliki kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksan, klorofom, dan etil asetat. Fraksi heksan dan klorofom untuk menarik senyawa yang bersifat non-polar, pelarut etil asetat akan menarik senyawa yang bersifat semi polar dan senyawa yang bersifat polar akan tertarik dengan pelarut air [15].

3.2. Identifikasi Senyawa Fitokimia Buah Mengkudu

Hasil skrining senyawa fitokimia terhadap ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ekstrak buah mengkudu memberikan hasil positif yang berbeda pada setiap fraksinya. Ekstrak etanol mengandung senyawa antrakuinon, alkaloid, tannin, flavonoid, steroid, saponin, dan fenolik sedangkan untuk fraksi heksan mengandung, antrakuinon, alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan senyawa fenol. Fraksi klorofom mengandung antrakuinon, alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, dan fenolik. Fraksi etil asetat mengandung antrakuinon, alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Sedangkan fraksi air mengandung senyawa antrakuinon, alkaloid, dan triterpenoid. Hasil identifikasi senyawa fitokimia dari berbagai hasil fraksinasi ekstrak buah mengkudu dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan senyawa fitokimia buah mengkudu

Senyawa fitokimia	Fraksi				
	Etanol	Heksan	Klorofom	Etil asetat	Air
Antrakuinon	+	+	+	+	+
Alkaloid	+	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	-
Steroid	+	-	+	-	-
Triterpenoid	-	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	-
Fenolik	+	+	+	-	-

Keterangan: (+) memberikan reaksi positif, (-) memberikan reaksi negatif

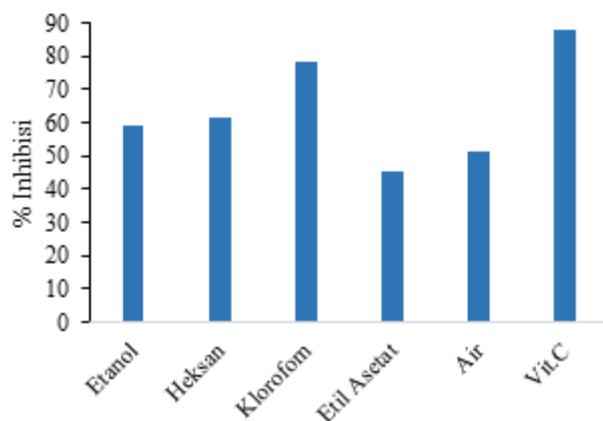
Hasil positif pengujian senyawa antrakuinon pada semua fraksi menunjukkan bahwa senyawa ini dapat terlarut dalam pelarut polar maupun nonpolar. Reaksi antrakuinon dalam larutan benzena dan asam sulfat membentuk cincin benzen yang merupakan hasil reaksi antara sulfonasi benzena dengan antrakuinon. Reaksi sulfonasi adalah reaksi kimia yang terjadi pada benzena dan asam sulfat dengan adanya pemanasan. Produk yang dihasilkan dalam reaksi sulfonasi adalah asam benzena sulfonat dan air yang merupakan reaksi reversibel (reaksi yang dapat balik). Senyawa antrakuinon sudah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan terdapat pada bagian akar dan batang tanaman mengkudu [16].

Pengujian alkaloid pada ekstrak etanol menggunakan pereaksi Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda yang diakibatkan oleh atom nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam kalium (K⁺). Identifikasi flavonoid menunjukkan warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid. Magnesium dan asam klorida pada uji ini bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas hidrogen, sedangkan logam magnesium dan asam klorida pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi jingga.

3.3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi buah mengkudu didasarkan pada penangkapan radikal bebas DPPH dan aktivitasnya ditentukan menggunakan metode spektroskopi. Radikal bebas DPPH memiliki warna ungu yang ditunjukkan oleh pita absorpsi dalam pelarut metanol pada panjang gelombang maksimum 517 nm. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Jika elektron DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel maka akan terjadi perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning kecoklatan, yang menandakan adanya aktivitas antioksidan [17]. Aktivitas antioksidan diketahui dengan menghitung persentase inhibisi, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH.

Reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dan DPPH adalah dengan memberikan atom hidrogen dari senyawa flavonoid untuk mereduksi radikal DPPH. Selanjutnya radikal aril dari flavonoid mengalami resonansi dan memberikan atom hidrogennya kembali kepada radikal DPPH. Pembentukan kompleks antara antioksidan dan DPPH bergantung pada kestabilan dan potensial reaksi dari struktur molekulnya. Berdasarkan mekanisme tersebut, maka dapat dikatakan bahwa senyawa antioksidan mempunyai sifat yang relatif stabil dalam bentuk radikalnya [18]. Sifat ini yang menyebabkan golongan senyawa flavonoid, terpenoid, dan alkaloid memiliki potensi sebagai antioksidan. Prinsip dari pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH ini adalah terjadinya perubahan warna larutan yaitu perubahan warna ungu menjadi kuning kecoklatan, perubahan warna ini dikarenakan adanya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH [18].



Gambar 1. Aktivitas antioksidan masing-masing fraksi buah mengkudu

Hasil uji aktivitas antioksidan pada Gambar 1 menunjukkan bahwa fraksi klorofom buah mengkudu memiliki aktivitas antioksidan paling kuat, hal ini ditunjukkan dengan nilai inhibisi ekstrak klorofom yakni 78,19%, diikuti dengan fraksi heksan 61,59%, dan fraksi etanol 59,19%. Oleh sebab itu, fraksi klorofom dipilih untuk dilakukan analisis lebih lanjut dengan GCMS untuk mengidentifikasi jenis kandungan senyawa bioaktifnya.

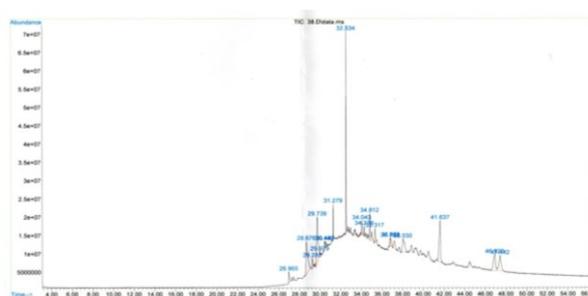
Hasil pengujian aktivitas fraksi klorofom buah mengkudu ini berbeda dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan di buah mengkudu yang fraksi teraktifnya adalah fraksi air diikuti dengan fraksi etil asetat dan kemudian fraksi klorofom [7]. Sebagai pembanding digunakan vitamin C dengan aktivitas inhibisi sebesar 87,92%. Vitamin C bekerja dengan mereduksi dua radikal bebas dari DPPH melalui pelepasan dua atom hidrogennya, sehingga dapat membentuk DPPH yang nonradikal. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu dengan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai [19].

Reaksi yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan akan menghasilkan dehidrogenasi pada

molekul antioksidan, sedangkan DPPH berubah menjadi DPPHn dengan n menunjukkan jumlah atom H yang diterima oleh DPPH dari antioksidan. DPPH berwarna violet dan DPPHn tak berwarna sehingga memungkinkan pengukuran dengan spektrofotometri dari penurunan intensitas warna DPPH. Absorbansi yang rendah menunjukkan kapasitas penangkapan radikal DPPH yang lebih tinggi.

3.4. Identifikasi Senyawa Bioaktif

Fraksi klorofom dengan aktivitas antioksidan tertinggi dianalisis menggunakan GCMS untuk mengetahui jenis kandungan senyawanya yang diduga berperan sebagai senyawa bioaktif antioksidan. Hasil identifikasi senyawa bioaktif menggunakan GCMS menunjukkan adanya beberapa senyawa turunan dari alkaloid, terpenoid dan steroid. Kemampuan fraksi klorofom ekstrak buah mengkudu sebagai antioksidan terjadi karena adanya kandungan berupa senyawa hexadecanoic acid, squalene, pyridin-3-carboxamide, dan beta-sitosterol.



Gambar 2. Spektrogram hasil GCMS fraksi klorofom Buah Mengkudu

Tabel 3. Hasil GCMS fraksi etil asetat Buah Mengkudu

Nama Senyawa	Kandungan (%)	Golongan
<i>n-hexadecanoic acid</i>	13,17%	Asam Palmitat
<i>Squalene</i>	13,32%	Terpenoid
<i>Pyridin-3-carboxamide,oxime,N-(2-trifluoromethylphenyl)</i>	8,05%	Alkaloid
<i>Beta - sitosterol</i>	7,19	Steroid

Senyawa *n-hexadecanoic acid* merupakan turunan lemak dan *n-hexadecanoic acid* adalah asam lemak jenuh yang memiliki formula $C_{16}H_{32}O_2$ [20]. Senyawa ini juga diketahui terdapat pada fraksi klorofom tanaman *Rumex vesicarius L* tanaman herbal dari India [21]. Selain itu *n-hexadecanoic acid* juga diketahui memiliki aktivitas dan dimanfaatkan sebagai pestisida, antiandrogenik, hemolitik, dan sebagai 5-alpha reductase inhibitor [22].

Senyawa squalene termasuk kedalam golongan triterpenoid dan merupakan senyawa intermediet dalam biosintesis senyawa sterol baik di tanaman maupun di hewan. Squalene banyak terdapat pada minyak hati ikan hiu dan di minyak sayur. Squalene adalah komponen utama lemak tak jenuh yang ada di permukaan kulit yang

berguna untuk melunakan kulit serta sebagai antitumor serta golongan triterpen juga diketahui melindungi terhadap beberapa bahan karsinogen [23]. Squalene juga diketahui dapat bersinergi dengan senyawa α -tokoperol dan β -sitosterol sebagai antioksidan dengan squalene sebagai senyawa kompetitif dalam reaksi *crocin bleaching* dengan menurunkan tingkat oksidasi. Squalene juga diketahui dapat stabil ketika disimpan pada suhu 40–62°C dalam kondisi gelap dan hanya mengalami penyusutan 12% saat proses pemanasan 20 menit 150°C [24]. Squalene adalah antioksidan alam yang bersifat hidropilik yang khasiat antiradikal serta antioksidannya bergantung pada cara penyimpanan dan perlakuan saat proses produksi, namun investigasi mengenai kemampuan antioksidan squalene di hewan dan manusia masih perlu dilakukan.

Pyridin-3-carboxamide, oxime, n-(2-trifluoromethylphenyl) termasuk kedalam golongan alkaloid. Senyawa *Pyridin-3-carboxamide, oxime, N-(2-trifluoromethylphenyl)* yang merupakan golongan alkaloid telah diketahui selain memiliki aktivitas antioksidan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*) dan Gram positif (*Staphylococcus aureus*) serta aktif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* [17].

Beta sitosterol merupakan golongan sterol atau steroid diketahui memiliki aktivitas seperti hormon dan aprodisiak [25]. Beta sitosterol juga diketahui terdapat pada ekstrak metanol umbi tanaman *Eulophia herbacea* dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, serta diduga memiliki khasiat lain sebagai hormon estrogenik, antifertilitas, mencegah penyakit hati, antikanker dan antidiabetes [26].

4. Kesimpulan

Penelitian ini mengungkapkan bahwa ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L*) memiliki aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi tertinggi terdapat pada fraksi klorofom yaitu sebesar 78,19%. Hasil identifikasi kandungan terbesar buah mengkudu dalam fraksi klorofom adalah senyawa *n-Hexadecanoic acid*, *Squalene*, *Pyridin-3-carboxamide, oxime, N-(2-trifluoromethylphenyl)*, dan *Beta - sitostero*.

Daftar Pustaka

- [1] Roja Rahimi, Shekoufeh Nikfar, Bagher Larijani, Mohammad Abdollahi, A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59, 7, (2005) 365–373
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.07.002>
- [2] Małgorzata Nita, Andrzej Grzybowski, The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, (2016) 23
<https://doi.org/10.1155/2016/3164734>
- [3] Yulong Zhang, Ping Hu, Lijiao Lou, Jianlong Zhan, Min Fan, Dan Li, Qianwei Liao, Antioxidant Activities of Lactic Acid Bacteria for Quality Improvement of Fermented Sausage, *Journal of Food Science*, 82, 12, (2017) 2960–2967
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13975>
- [4] Dixit Rajiv Ramesh, Sanjay C Swami, Total antioxidant capacity of some common seeds and effect of sprouting and its health benefits, *International Journal of Chemical Studies*, 4, 2, (2016) 25–27
- [5] S. Kapila, P. R. Sinha, Antioxidative and hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus casei* ssp *casei* (biodefensive properties of *Lactobacilli*), *Indian journal of medical sciences*, 60, 9, (2006) 361–370
- [6] Yiyun Liu, Haiming Chen, Wenxue Chen, Quipping Zhong, Guanfei Zhang, Weijun Chen, Beneficial Effects of Tomato Juice Fermented by *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Casei*: Antioxidation, Antimicrobial Effect, and Volatile Profiles, *Molecules*, 23, 9, (2018) 2366
<https://doi.org/10.3390/molecules23092366>
- [7] Abdul Rohman, Sugeng Riyanto, Nurul Khusna Hidayati, Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*), *agriTECH*, 27, 4, (2016) 147–151
<https://doi.org/10.22146/agritech.9849>
- [8] Sogandi, Frensiska Anggelia, Lilih Riniwasih, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Rambai (*Sonneratia Caseolaris*, (L.) Engl) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*, *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2, 1, (2017) 73–80
- [9] Anjar Purba Asmara, Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dalam Ekstrak Metanol Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora L. Pers*), *Al Kimia*, 5, 1, (2017) 48–59
- [10] Direktorat Pengawasan Obat Tradisional - Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, in, 2000.
- [11] Zeta Kuntari, Sumpono Sumpono, Nurhamidah Nurhamidah, Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Akar Tanaman *Moringa oleifera L* (Kelor), *ALOTROP Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1, 2, (2017) 80–84
- [12] Domnic Maxwell Colvin, A Review on Comparison of the Extraction Methods Used in Licorice Root: Their Principle, Strength and Limitation, *Medicinal & Aromatic Plants*, 7, 6, (2018) 1–4
<https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000323>
- [13] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka, in: B.P.O.d.M.R. Indonesia (Ed.), Jakarta, 2005.
- [14] Louis J. Kirschenbaum, Ben Ruekberg, A Correlation of the Solubility of Water in Hydrocarbons as a Function of Temperature Based on the Corresponding Vapor Pressure of Pure Water, *Chemical Sciences Journal*, 2013, CSJ-101, (2013)
- [15] Divya Gupta, Mukesh Kumar, Evaluation of in vitro antimicrobial potential and GC-MS analysis of *Camellia sinensis* and *Terminalia arjuna*, *Biotechnology Reports*, 13, (2017) 19–25
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.11.002>

- [16] Rudiyanasyah, Chia Lang Lang, Gusrizal Gusrizal, Andi Hairil Alimuddin, Senyawa Antraquinon yang Bersifat Antioksidan dari Kayu Akar Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia*), *Bulletin of The Indonesian Society of Natural Products Chemistry*, 12, (2012) 9-13
- [17] J Helan Chandra, Harini Gunasekaran, Screening of phytochemical, antimicrobial and antioxidant activity of *Glycyrrhiz glabra* root extract, *Journal of Environmental Biology*, 38, 1, (2017) 161-165
- [18] Irina I. Koleva, Teris A. van Beek, Jozef P. H. Linssen, Aede de Groot, Lyuba N. Evstatieva, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods, *Phytochemical Analysis*, 13, 1, (2002) 8-17
<https://doi.org/10.1002/pca.611>
- [19] Gloria Sindora, Andi Hairil Allimudin, Harlia, Identifikasi Golongan Senyawa Antraquinon pada Fraksi Kloroform Akar Kayu Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6, 1, (2017) 37-41
- [20] Zhong-hui Pu, Yu-qun Zhang, Zhong-qiong Yin, Jiao Xu, Ren-yong Jia, Yang Lu, Fan Yang, Antibacterial Activity of 9-Octadecanoic Acid-Hexadecanoic Acid-Tetrahydrofuran-3,4-Diyl Ester from Neem Oil, *Agricultural Sciences in China*, 9, 8, (2010) 1236-1240
[https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60212-1](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60212-1)
- [21] Shah Ankita, Singh Tribhuwan, Vijayvergia Rekha, GC-MS Analysis of Bioactive Phytoconstituents from *Rumex vesicarius* L., *International Research Journal of Pharmacy*, 6, 4, (2015) 269-272
- [22] D Sheela, F Uthayakumari, GC-MS analysis of bioactive constituents from coastal sand dune taxon- *Sesuvium portulacastrum* (L.), *Bioscience discovery*, 4, 1, (2013) 47-53
- [23] Zih-Rou Huang, Yin-Ku Lin, Jia-You Fang, Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic Dermatology, *Molecules*, 14, 1, (2009) 540-554
<https://doi.org/10.3390/molecules14010540>
- [24] Rohan V. Tikekar, Richard D. Ludescher, Mukund V. Karwe, Processing Stability of Squalene in Amaranth and Antioxidant Potential of Amaranth Extract, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 22, (2008) 10675-10678
<https://doi.org/10.1021/jf801729m>
- [25] Keshav Mahajan Ghanashyam, Yashwant Mahajan Arun, Totaram Mahajan Raghunath, Efficacy of Aphrodisiac Plants towards Improvement in Semen Quality and Motility in Infertile Males, *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 9, 1, (2012) 1-12
<https://doi.org/10.1515/1553-3840.1520>
- [26] Patil Manisha, Patil Chandrashekhar, Mahajan Raghunath, Phytochemical Investigation and Validation of Antioxidant Potential of β -Sitosterol from Tubers of *Eulophia herbacea* and *Eulophia ochreatea*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 10, 8, (2018) 309-316