

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FLAVONOID TOTAL PADA EKSTRAK ETANOL BIJI DAN KULIT MELINJO (*GNETUM GNEMON L.*) DENGAN METODE DPPH

Hasriyani^{a,*}, Akhyasin^b, Latifah Dikdayani^c

^{abc}Universitas Muhammadiyah Kudus. Jalan Ganesha No 1, Kudus. Indonesia

Email : hasriyani@umkudus.ac.id

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 IC₅₀ 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, DPPH.

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 IC₅₀ 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.

I. 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 (Purwaningsih, 2014).

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 O₂ menjadi superoksida pada fagositosis, secara endogen sumber radikal bebas yang berasal dari proses metabolik yang normal dalam tubuh manusia (Sayuti dan Yenrina, 2015).

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 (Rao and Moller, 2011).

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 (Gutowski dan Kowalczyk, 2013).

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 C₆-C₃-C₆ yang tiap bagian C₆ merupakan rantai alifatik (Rais, 2015).

Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah Melinjo (Parhusip dan Sitanggang, 2011). 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 β-karoten (Siregar dkk., 2009).

Berdasarkan uraian di atas, 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-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Peneliti berharap hasil penelitian ini nantinya dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan dapat menemukan sumber antioksidan alami.

II. LANDASAN TEORI

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 (Parhusip dan Sitanggang, 2011). 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 menginaktivasi 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 (Leba, 2017).

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 (Kedare dan Singh, 2011). 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 (Winata, dkk., 2015).

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 (Pakaya, dkk., 2015).

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 digunakan spektrofotometer untuk mengukur energi relatif. Energi ditransmisikan, dipantulkan, atau dipancarkan menurut suatu fungsi panjang gelombang (Abdi, 2010). 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 (Erukainure, *et al.*, 2011).

III. METODE PENELITIAN

A. Bahan

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

B. Alat

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.

C. Jalannya Penelitian

1) Pembuatan Ekstrak Etanol Biji dan Kulit Melinjo

Serbuk biji melinjo ditimbang sebanyak 250 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 2500 mL pelarut etanol 70% perbandingan 1:10, kemudian direndam

sampai 5 hari, sesekali diaduk. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat hasil penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Hasil dari evaporasi diuapkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Perlakuan yang sama dilakukan pada sampel serbuk kulit melinjo.

2) Penentuan kadar Flavonoid Total

1. 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.

2. 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.

3. 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, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL.

4. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum (λ 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.

5. 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.

6. 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^[15].

$$\text{Kandungan Flavonoid (\%)} = \frac{C \times V \times Fp \times 10^{-3}}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

C = Kesetaraan Kuersetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak etanol(mL)

Fp = Faktor Pengenceran

m = Berat sampel (mg)

D. Pengujian Aktivitas Antioksidan

1. 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^[16].

2. 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.

3. Pembuatan Larutan Vitamin C Sebagai Perbandingan

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.

4. 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^[17].

5. 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.

6. 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^[18,19]. Pengujian larutan perbandingan 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^[20,21].

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

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

Ket :

Abscontrol = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

Abssampel = Absorbansi sampel setelah 30 menit

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Ekstraksi

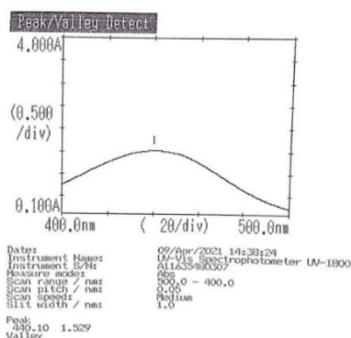
Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung prosentase rendemen ekstrak biji dan kulit melinjo. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi

Serbuk (mg)	Berat botol + ekstrak kental (g)	Berat botol koso ng (g)	Berat ekstrak biji dan kulit melinjo (g)	Prosentase rendemen
Biji Melinjo 250	184	170	14	5,6%
Kulit Melinjo 250	204	169	35	14%

B. Hasil Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji dan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon L.*)

1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang. Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penentuan Panjang Gelombang

Kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440.1 nm.

2. Hasil Absorbansi Larutan Baku Standar.

Hasil absorbansi larutan baku standar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil absorbansi larutan baku standar

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

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.

3. Hasil perhitungan kadar flavonoid ekstrak biji melinjo

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Biji Melinjo

	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 3 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 devisi (SD) sebesar 0,009 dan relative standart deviasion (RSD) sebesar 0,55%.

4. Hasil perhitungan kadar flavonoid ekstrak kulit melinjo

Tabel 4. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Melinjo

	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 4 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 devisi (SD) sebesar 0,01 dan relative standart deviasion (RSD) sebesar 0,72%.

C. Hasil Uji Aktivitas

Antioksidan Ekstrak Biji dan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon L.*)

1. Hasil penentuan panjang gelombang maksimal (λ maks).

Berasarkan 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} .

2. Hasil penentuan operating time.

Penentuan operating time digunakan untuk menentukan waktu yang paling tepat dalam

Tabel 7. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Vitamin C

Data hasil antioksidan absorbansi vitamin C								
Konsentrasi (µg/mL)	Ln Konsentrasi	Absorbansi. Pengulangan			Rata- rata	A.Sampel	% inhibisi	IC50 (µg/mL)
		1	2	3				
2	0,6931472	0,212	0,117	0,113	0,147333	0,146633	56,15032	
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	1,375

D. Analisis Data Dengan SPSS

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.

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.

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.

V. KESIMPULAN

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 IC₅₀ 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 aktivitas 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.

DAFTAR PUSTAKA

- 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 : 196 –202.
- 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.
- Gutowski, M. and Kowalczyk, S. 2013. A Study Of Free Radical Chemistry: Their Role And Pathophysiological Significance. *Acta Biochimica Polonica*, 60: 1-16.
- Kedare, S.B & Singh, R. P., 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*, 48 (4), 412–422.
- Leba, M. A. U., 2017. Buku Ajar Ekstraksi Dan Real Kromatologi. Yogyakarta: Deepublish.
- 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*.
- 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, 103-112.
- 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.
- Rais, R.I. 2015. Isolasi dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanolik herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (BURM.F NESS). Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Rao, R. S. & Moller, I. M., 2011. Pattern Of Occurrence And Occupancy Of Carbonylation Sites In Proteins. *Proteomics*, Volume 11, 4166-4173.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- 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.
- 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.