

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI DAN KULIT BUAH MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)

[ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MELINJO SEEDS AND SKIN EXTRACTS (*Gnetum gnemon* L.)]

Dela Rosa^{1*}, Michelle A. Yuswandi¹, Tagor Marsillam Siregar², Marcelia Sugata³, dan Ernestine Arianditha¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Pelita Harapan
Jl. M.H.Thamrin Boulevard, Tangerang 15811, Banten

²Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan
Jl. M.H.Thamrin Boulevard, Tangerang 15811, Banten

³Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan
Jl. M.H.Thamrin Boulevard, Tangerang 15811, Banten

*Korespondensi penulis : dela.rosa@uph.edu

ABSTRACT

*Melinjo (*Gnetum gnemon* L.), widely cultivated in Southeast Asia, is known to have many phenolic and flavonoid compounds which have antioxidant activity. Antioxidants such as phenolic and flavonoids have photoprotective capabilities because they can help inhibit the formation of free radicals. In this research, the antioxidant activities of seed and fruit skin of melinjo are compared and the active compound are identified. For this purpose, seed and fruit skin of melinjo were extracted using various solvents, such as hexane, ethyl acetate, and ethanol. Antioxidant activity test using DPPH, total flavonoid, and total phenolic content were tested for each fraction. The result showed that ethanol fraction of melinjo seed has the best antioxidant activity both for the seed and the skin. IC_{50} for ethanol fraction from fruit skin is 440.58 ± 40.89 ppm with total flavonoid and phenolic content are 145.00 ± 23.79 QE/ g extract dan 32.31 ± 4.03 mg QE/ g extract. Meanwhile IC_{50} for ethanol fraction from seed is 424.78 ± 10.30 ppm with total flavonoid and phenolic content is 172.57 ± 18.01 mg QE/ g extract dan 32.31 ± 4.03 mg QE/ g extract. Since the fractions of the extracts of melinjo seed and fruit skin that show the most antioxidant activities also have high flavonoid and phenolic contents, it can be concluded that the active compounds in those extracts are from the flavonoid and phenolic compound groups.*

Key words: antioxidant, flavonoid, melinjo, phenolic

ABSTRAK

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman yang dibudidayakan secara luas di Asia Tenggara dan diketahui memiliki banyak senyawa fenol dan flavonoid sehingga berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan seperti fenolik dan flavonoid memiliki kemampuan fotoprotektif karena dapat menyerap sinar UV, membantu menghambat pembentukan radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan aktivitas antioksidan dari biji dan kulit melinjo serta mengidentifikasi zat aktifnya. Untuk itu biji dan kulit melinjo diekstraksi menggunakan berbagai pelarut, seperti heksana, etil asetat, etanol. Pada setiap fraksi dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH serta uji kandungan total flavonoid dan total fenolik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etanol untuk biji dan kulit melinjo memiliki aktivitas antioksidan terbaik. Aktivitas antioksidan terbaik dimiliki fraksi etanol kulit buah (IC_{50} $440,58 \pm 40,89$ ppm) dengan kandungan

total flavonoid dan fenolik sebesar $145,00 \pm 23,79$ QE/ g ekstrak dan $32,31 \pm 4,03$ mg QE/ g ekstrak dan fraksi etanol biji (IC_{50} $424,78 \pm 10,30$ ppm) dengan kandungan total flavonoid dan fenolik sebesar $172,57 \pm 18,01$ mg QE/ g ekstrak dan $32,31 \pm 4,03$ mg QE/ g ekstrak. Karena fraksi ekstrak kulit buah dan biji melinjo yang menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi juga mempunyai kandungan flavonoid dan fenolik yang besar, maka dapat disimpulkan bahwa zat aktif antioksidan dalam ekstrak tersebut tergolong senyawa flavonoid dan fenolik.

Kata kunci : antioksidan, fenolik, flavonoid, melinjo

PENDAHULUAN

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang termasuk dalam famili Gnetaceae merupakan tanaman yang dibudidayakan secara luas di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Siswoyo, 2004; Manner dan Elevitch, 2006; Kato *et al.*, 2009). Buah dan daun muda dari tanaman melinjo sering dimanfaatkan menjadi produk pangan tradisional bagi masyarakat Indonesia seperti dijadikan sebagai sayur asem maupun sebagai emping. Penelitian yang telah dilakukan terhadap bagian-bagian dari tanaman melinjo menunjukkan adanya kandungan senyawa stilbenoid yang merupakan turunan dari senyawa fenolik. Ekstrak biji melinjo diketahui mengandung stilbenoid yang meliputi resveratrol, gnemonosida A, gnemonosida D, gnetin C, gnemonosida C dan gnetin L (Kato *et al.*, 2009). Senyawa resveratrol, gnetol dan isorhapontigenin memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Iliya *et al.*, 2003; Atun *et al.*, 2007; He dan Yan, 2013). Ekstrak etanol dari kulit melinjo merah diketahui memiliki kandungan fenolik

dan juga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Cornelia *et al.*, 2009).

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). Antioksidan seperti fenolik dan flavonoid memiliki kemampuan fotoprotektif karena dapat menyerap sinar UV dan membantu antioksidan natural tubuh untuk menghambat pembentukan radikal bebas oleh sinar UV (Gonzales *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan membandingkan aktivitas antioksidan antara kulit buah melinjo dan biji melinjo dengan membandingkan konsentrasi penghambatannya (IC_{50}) dan juga membandingkan kandungan senyawa

flavonoid dan fenolik yang terdapat dikeduanya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji dan kulit buah melinjo (*Gnetum gnemon L.*), etanol absolut (Smartlab), heksana (Smartlab), etil asetat (Smartlab), DPPH (Merck), Folin-Ciocalteu 10% (Merck), natrium karbonat (Na_2CO_3) 7,5%, natrium nitrit (NaNO_2) 5,0%, aluminium klorida (AlCl_3) 10%, dan natrium hidroksida (NaOH) 1M, asam galat (Merck), Quercetin (Sigma Aldrich).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat - alat gelas, *freeze dryer* (Chris martin), sentrifugator (Hettich), *rotary evaporator* (BUCHI R-210), vortex (Thermolyne), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800).

Metode Penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi Biji dan Kulit Buah melinjo

Ekstraksi dan fraksinasi biji dan kulit buah melinjo dilakukan dengan menggunakan metode Bakar (2015) yang dimodifikasi. Potongan biji atau kulit melinjo dikeringkan menggunakan *freeze dryer* dan digiling hingga berbentuk serbuk. Sebanyak 100 gram serbuk biji/kulit dimaserasi dalam

200 ml etanol absolut selama 24 jam pada suhu ruangan. Hasil maserasi disaring dan filtrat disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 15 menit. Setelah itu, supernatan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, 50 rpm. Sedangkan, ekstraksi bertahap diawali dengan maserasi menggunakan pelarut nonpolar (heksana), semipolar (etil asetat), hingga polar (etanol). Ketiga fraksi yang didapat masing-masing dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, 50 rpm. Fraksi-fraksi yang didapat akan digunakan untuk uji selanjutnya.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode yang dikembangkan oleh Soubir (2007) digunakan dalam penelitian ini untuk menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH. Larutan ekstrak *crude* (10.000 ppm) didilusi menjadi beberapa konsentrasi berbeda. Sampel dibuat dari larutan DPPH 0,17 mM dan larutan ekstrak dengan perbandingan 5:4. Kontrol dibuat dengan cara yang sama, tetapi ekstrak diganti dengan etanol absolut. Blanko yang digunakan adalah etanol absolut. Campuran divorteks dan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Campuran divorteks lagi sebelum dilakukan penghitungan absorbansi pada 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase penangkapan

DPPH. Selanjutnya, dilakukan penghitungan IC_{50} .

Uji Kandungan Fenolik Total Ekstrak Biji dan Kulit Buah Melinjo dengan Metode Folin-Ciocalteu

Skergt *et al.* (2005) menjadi acuan dalam penelitian ini untuk melakukan pengujian kandungan fenolik total dengan menggunakan Folin-Ciocalteu. Larutan ekstrak sebanyak 250 μ l (1.000 ppm) ditambah dengan 625 μ l Folin-Ciocalteu 10% lalu diinkubasi delapan menit, dan ditambah dengan 625 μ l Na_2CO_3 7,5%. Setelah diinkubasi selama satu jam pada suhu 45°C, absorbansi campuran diukur pada 765 nm. Kandungan fenolik total (TPC) dihitung berdasarkan kurva standar absorbansi asam galat.

Uji Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Biji dan Kulit Buah Melinjo

Metode pengujian flavonoid total dalam penelitian ini mengikuti metode yang digunakan oleh Kamtekar *et al.* (2014). Sebanyak 417 μ l larutan ekstrak (1.000 ppm.) dan 125 μ l $NaNO_2$ 5 % dicampur lalu diinkubasi pada suhu ruangan selama lima menit. Selanjutnya, campuran ditambah dengan 125 μ l $AlCl_3$ 10 % dan 833 μ l $NaOH$ 1 M dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 nm. Kandungan

flavonoid total (TFC) dihitung berdasarkan kurva standar absorbansi kuersetin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan dari sampel diuji menggunakan metode DPPH. Jika terdapat aktivitas antioksidan, radikal bebas dapat dinetralkan dengan cara mereduksi DPPH sehingga terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang 517 nm (Tirzitis and Bartosz, 2010). Konsentrasi sampel yang dapat menangkap 50% DPPH dinyatakan sebagai IC_{50} aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} yang semakin rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Nilai IC_{50} dapat digunakan untuk penggolongan antioksidan. Sampel tergolong antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat jika IC_{50} berada pada rentang 50 – 100 ppm, sedang jika IC_{50} berkisar antara 100 – 150 ppm, lemah jika IC_{50} 150 – 200 ppm, sangat lemah jika IC_{50} lebih besar dari 200 ppm, dan bukan antioksidan jika IC_{50} lebih dari 2000 ppm (Agustini *et al.*, 2015). Hasil uji aktivitas antioksidan dari sampel biji dan kulit melinjo dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari berbagai fraksi kulit buah dan biji melinjo

Sampel	Fraksi	IC ₅₀ aktivitas antioksidan (ppm)
Kulit	Etanol	440,58 ± 40,89
	Etil asetat	550,95 ± 2,08
	Heksan	860,08 ± 49,59
Biji	Etanol	424,78 ± 10,30
	Etil asetat	1323,79 ± 145,51
	Heksan	634,65 ± 34,42

Uji kandungan flavonoid dan fenolik total dari ekstrak biji dan kulit buah melinjo

Senyawa fenolik dapat bereaksi reagen Folin-Ciocalteu dan menghasilkan kompleks kromofor biru dalam suasana basa. Kandungan fenolik total (TPC) ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 765 nm (Blainski *et al.*, 2013). Kandungan flavonoid total (TFC) ditentukan dengan aluminium klorida (AlCl₃) (Kamtekar *et al.*, 2014). Aluminium klorida bereaksi dengan gugus keto dan hidroksil pada flavonoid yang menghasilkan kompleks berwarna merah ketika ditambah dengan NaOH dan NaNO₂. Absorbansi senyawa kompleks diukur pada panjang gelombang 510 nm (Jaiswal and Abu-Ghannam, 2013). Hasil uji TPC dan TFC dari sampel kulit dan biji melinjo dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan flavonoid dan fenolik total berbagai fraksi kulit buah dan biji melinjo

Fraksi	Total	
	Flavonoid (mg QE/ g ekstrak)	Fenolik (mg GAE /g ekstrak)
Kulit	Etanol	145,00 ± 23,79
	Etil asetat	128,86 ± 41,65
	Heksan	144,23 ± 15,72
Biji	Etanol	172,57 ± 18,01
	Etil asetat	39,69 ± 10,49
	Heksan	0

Terlihat dari Tabel 1 bahwa fraksi etanol baik dari kulit buah maupun dari biji memiliki IC₅₀ terendah yang menunjukkan kemampuan antioksidan paling baik dibanding fraksi lainnya. Aktivitas antioksidan ini diperkuat dengan data Tabel 2 yang menunjukkan kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang terbanyak adalah di fraksi etanol kuli buah dan biji, sehingga terlihat bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh kulit buah dan biji melinjo merupakan senyawa-senyawa fenol dan flavonoid yang memiliki kepolaran yang sedang sampai polar (Pittella *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Hasil perbandingan aktivitas antioksidan pada biji dan kulit buah melinjo, menunjukkan bahwa pada kedua bagian melinjo tersebut aktivitas antioksidan terbaik didapatkan dalam fraksi etanolnya. Fraksi

etanol kulit buah dan biji melinjo menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC₅₀ masing-masing sebesar 440,58 ± 40,89 ppm dan 424,78 ± 10,30 ppm. Dengan demikian terlihat bahwa aktivitas antioksidan fraksi etanol biji melinjo sedikit lebih baik daripada fraksi etanol kulit buahnya.

Aktivitas antioksidan fraksi etanol di kulit buah dan biji melinjo ternyata bersesuaian dengan tingginya nilai TPC, yaitu 27,43 ± 4,69 mg GAE/g ekstrak kulit buah dan 145,00 ± 23,79 mg GAE/g ekstrak biji. Nilai TFC dari fraksi etanol kulit buah (145,00 ± 23,79 mg QE/ g ekstrak) dan biji melinjo (172,57 ± 18,01 mg QE/ g ekstrak) juga ternyata cukup tinggi. Dengan membandingkan kandungan flavonoid (TFC) dan fenolik (TPC) dari kulit buah dan biji melinjo terhadap aktivitas antioksidannya terlihat bahwa senyawa aktif antioksidan dalam fraksi etanol ekstrak tersebut kemungkinan besar merupakan senyawa flavonoid dan fenolik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM UPH yang telah bersedia mendanai penelitian ini (435/LPPM-UPH/XII/2018), juga kepada pihak Laboratorium Biologi, Laboratorium Kimia, Laboratorium *Quality Control* UPH yang telah menyediakan tempat dan fasilitas dalam melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, T. W., Suzery, M., Sutrisnanto, D., Ma'ruf, F. W., and Hadiyanto. 2015. Comparative study of bioactive substances extracted from fresh and dried *Spirulina* sp. *Procedia Environmental Sciences* 23: 282-289.
- Atun, S., Arianingrum R., and Masatake, N. 2007. Some phenolic compounds from stem bark of Melinjo (*Gnetum gnemon*) and their activity test as antioxidant and uv-b protection. *Proceeding JSChem-ITB-UKM*, p 1-4. Bandung, Indonesia: Jurusan Kimia, FMIPA, ITB dan Program Pengajian Sains Kimia dan Teknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Bakar, M. F. A., Karim, F. A., and Perisamy, E. 2015. Comparison of phytochemicals and antioxidant properties of different fruit parts of selected *Artocarpus* species from Sabah, Malaysia. *Sains Malaysiana* 44 (3): 355 – 363.
- Blainski, A., Lopes, G. C., and Palazzo de Mello, J. C. 2013. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 18: 6852-6865.
- Briganti, S., Camera, E., and Picardo, M. 2003. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Research* 16(2):101-10.
- Gonzales, S., Lorente, M. F., and Calzada, Y. G. 2008. The latest on skin photoprotection. *Clinics in Dermatology* 26: 614-626.
- Gutowski, M. and Kowalczyk, S. 2013. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica* 60: 1-16.

- He, S. and Yan, X. 2013. From resveratrol to its derivatives: new sources of natural antioxidant. *Current Medicinal Chemistry* 20(8): 1005-1017.
- Iliya, I., Ali, Z., Tanaka, T., Inuma, M., Furusawa, M., Nakaya, K., Murata, J., Darnaedi, D., Matsuura, N., and Ubukata, M. 2003. Stilbenes derivatives from *Gnetum gnemon* Linn. *Phytochemistry* 62: 601-606.
- Jaiswal, A. K. and Abu-Ghannam, N. 2013. Degradation kinetic modelling of color, texture, polyphenols and antioxidant capacity of New York cabbage after microwave processing. *Food Research International* 53: 125-133.
- Kamtekar, S., Keer, V., and Patil, V. 2014. Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 4:061-065.
- Kato, E., Yuji, T., and Fujio, S. 2009. Stilbenoids isolated from the seeds of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 2544-2549.
- Manner, H.I. and Elevitch, C.R. 2006. "*Gnetum gnemon* (*gnetum*)". *Agroforestry online*. Downloaded from <https://agroforestry.org/images/pdfs/Gnetum-gnetum.pdf> on 04/04/2020.
- Pittella, F., Dutra, R. C., Junior, D. D., Lopes, M. T. P., and Barbosa, N. R. 2009. Antioxidant and cytotoxic activities of *Centella asiatica* (L) Urb. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 3713-3721.
- Siregar, T. M., Cornelia, M., Ermiziar, T., and Raskita, S. 2009. Antioxidant activity, carotenoid and vitamin c content of Melinjo peels (*Gnetum gnemon* L). *Proceeding National Seminar of The Indonesia Association of Food Technologists (PATPI)*, p. 289-292. Jakarta, Indonesia: The Indonesia Association of Food Technologists.
- Siswoyo, T.A. 2004. Physicochemical characteristics of Melinjo (*Gnetum gnemon*) starch-lipid. *Jurnal Ilmu Dasar* 5(2): 97-102.
- Skergt, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Sinmonic, M., and Knez, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 89:191-198.
- Soubir, T. 2007. Antioxidant activities of some local Bangladesh fruits (*Artocarpus heterophyllus*, *Annona squamosa*, *Terminalia bellirica*, *Syzygium samarangense*, *Averrhoa carambola* and *Olea Europa*). *Chinese Journal of Biotechnology* 23: 257 - 261.
- Tirzitis, G. and Bartosz, G. 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica* 57: 139-142.