

Kajian Pengaruh Pemanasan terhadap Aktivitas Antioksidan Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) sebagai Alternatif Sumber Pangan Fungsional

Study of Heating Effect on Antioxidant Activity of Noni Fruit (Morinda citrifolia) as an Alternative of Functional Food

Dian Kurniati^{1)*}, Heni Radiani Arifin¹⁾, Drupadi Ciptaningtyas²⁾, Feni Windarningsih¹⁾

¹⁾ Departemen Teknologi Pangan, FTIP, Universitas Padjadjaran

²⁾ Departemen Teknologi Pertanian dan Biosistem, FTIP, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor Bandung 40600

Email: d.kurniati@unpad.ac.id

Abstrak

Dewasa ini, minat akan makanan fungsional menggunakan antioksidan berbasis tumbuhan terus meningkat. Salah satu sumber antioksidan alami adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang banyak dikonsumsi dalam bentuk jus, fruit leather, serbuk, kapsul sebagai sumber antioksidan alami, namun belum banyak penelitian yang mempelajari aktifitas antioksidan, fenolik dan flavonoid total dari buah mengkudu segar yang mengalami pemanasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proses pemanasan sebagai informasi untuk memperoleh bahan baku dari mengkudu yang memiliki aktifitas antioksidan tertinggi. Buah mengkudu diberi pemanasan pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C serta suhu ruang (RT), kemudian dimaserasi dengan etanol dan dipekatkan hingga diperoleh ekstrak etanol. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH (2,2-difenill-1-pikrilhidrazil). Kandungan fenolik total dan flavonoid total ditentukan dengan teknik spektrofotometri. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi dengan suhu pemanasan 60°C menunjukkan aktivitas antioksidan pling tinggi dengan nilai 365,56 mg/L yang didukung dengan nilai fenolik total tertinggi sebesar 1,21%. Dimana nilai flavonoid total tertinggi ditunjukkan oleh fraksi tanpa suhu pemanasan (RT) dengan nilai 0,06%.

Kata kunci: antioksidan, fenolik, flavonoid, buah mengkudu, pemanasan

Abstract

Nowadays, interest in functional foods using plant-based antioxidants continues to increase. One source of natural antioxidants is noni fruit (*Morinda citrifolia*) which is widely consumed in the form of juice, fruit leather, powder, capsules and others as a source of natural antioxidants. However, research that studied antioxidant activity, total phenolic and flavonoids from fresh noni fruits that are heated up is limited. This study aims to determine the effect of the heating process as information to obtain raw materials from noni which have the highest antioxidant activity. Noni fruit was heated at 40, 60, 80, and 100 ° C and room temperature (RT), then macerated with ethanol and concentrated until ethanol extract was obtained. Antioxidant activity was determined by the DPPH (2,2-difenill-1-pikrilhidrazil) method. Total phenolic content and total flavonoids were determined by spectrophotometric techniques. The test results showed that the fraction with a heating temperature of 60°C showed high antioxidant activity with a value of 365.56 mg / L which was supported by the highest total phenolic value of 1.21%. Where the highest total flavonoid value is indicated by fraction without heating (RT) with a value of 0.06%.

Keywords: antioxidant, phenolic, flavonoid, noni fruit, heating

Pendahuluan

Antioksidan yang berasal dari tanaman telah lama dikenal potensinya dan telah lama diketahui untuk menstabilkan senyawa radikal yang dapat diukur aktifitas antioksidan tersebut. Antioksidan itu sendiri adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas.

Berdasarkan sumber perolehannya ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Ardiansyah, 2007). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan. Meningkatnya minat untuk mendapatkan antioksidan alami terjadi beberapa tahun terakhir ini.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Beckman & Arneti (1998) disebutkan bahwa salah satu penyebab utama berbagai penyakit kronis pada manusia seperti kanker dan serangan jantung, adalah stres oksidatif. Stres oksidatif disebabkan karena tidak seimbangnya antara jumlah antioksidan dalam tubuh dengan banyaknya penyebab reaksi oksidatif seperti gugus radikal bebas (Percival, 1998). Untuk mencegah terjadinya kerusakan oksidatif ini dapat dilakukan dengan cara konsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan, baik berupa sayur-sayuran ataupun buah-buahan. Selain dari itu, sumber antioksidan juga dapat berasal dari tanaman obat

seperti jahe, mengkudu, pegagan, temulawak dan lain-lain. Senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut dapat bermanfaat sebagai sumber antioksidan misalnya flavonoid, tanin, polifenol dan lainnya. Tanaman biofarmaka yang berfungsi sebagai antioksidan dapat diformulasi menjadi pangan fungsional antioksidan dan menjadi menu sehari-hari. Mengkudu (*Morinda citrifolia*) merupakan salah satu tanaman obat yang diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang sangat baik. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa senyawa antioksidan yang terkandung dalam buah mengkudu antara lain asam askorbat, beta-karoten, terpenoid, alkaloid, beta-sitosterol, karoten, polipenol seperti flavonoid, flavon glikosides dan rutin (Preveen, dkk., 2007). Tikus yang mengkonsumsi jus buah mengkudu 10% selama seminggu dan selanjutnya diinduksi dengan agen penyebab kanker DMBA (7,12-Dimetylbenze anthracene) mengalami abnormal DNA lebih sedikit dari pada tikus yang disuntikkan DMBA tanpa diberikan jus mengkudu (Wang M.Y. & Su, 2001). Hal ini disebabkan jus buah mengkudu mengandung antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas ini jika dibiarkan akan merusak sel sehat dan selanjutnya membentuk sel kanker secara terus-menerus (Zackiyah, dkk., 2014). Selain itu, aktifitas antioksidan dalam buah mengkudu telah teruji secara *in vivo* dan *in vitro* pada hewan uji yang diberi ekstrak mengkudu. Jus mengkudu tersebut terbukti dapat mengikat radikal bebas, menghambat oksidasi LDL, merangsang sistem imun dan dapat juga bertindak sebagai anti-kanker dan anti-inflamasi (Akihisa, T., dkk., 2007, Yang, J., dkk., 2007, Palu, A.K., dkk., 2008).

Buah mengkudu telah diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang cukup tinggi, namun belum banyak penelitian yang mempelajari aktifitas antioksidan dari buah mengkudu segar yang mengalami perlakuan sederhana seperti pemanasan (pengeringan) dan penepungan. Dari uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui kadar antioksidan dari beberapa perlakuan buah mengkudu yang bertujuan mengetahui pengaruh proses pengolahan sebagai informasi untuk memperoleh bahan baku dari mengkudu yang memiliki aktifitas antioksidan tertinggi. Bahan tersebut dapat dimanfaatkan lebih lanjut menjadi produk pangan yang menjadi salah satu sumber pangan fungsional berbasis antioksidan, selain itu juga, dapat menjadi solusi dalam upaya peningkatan nilai jual dan pemanfaatan buah mengkudu.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu dengan tingkat kematangan 80% yang berasal dari daerah Bogor, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil), vitamin E, asam galat, , pereaksi Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, natrium hidroksida, methanol, etanol dan amonia diperoleh dari E. Merck, akuabides dan aquades.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, *vacuum rotary evaporator*, neraca analitik, spektrofotometer UV-VIS, sentrifuge, labu evaporator, mikropipet, tip mikropipet, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam analisis.

Prosedur

Ekstraksi

Buah mengkudu dipotong menjadi ukuran kecil kemudian dikeringkan dan dipanaskan pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C pada oven serta fraksi tanpa pemanasan (RT) masing-masing sebanyak 1 kg. Buah mengkudu yang telah mengalami perlakuan kemudian dimaserasi dengan masing-masing 2,5 L etanol selama 24 jam. Setelah proses ekstraksi, masing-masing ekstrak diuapkan pelarutnya dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH sesuai dengan Kikazaki, dkk (2002). Sebanyak 50 µl ekstrak atau fraksi uji dengan berbagai konsentrasi ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,4 mM, dan 3,950 ml etanol. Campuran selanjutnya divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm terhadap blanko (yang terdiri atas 50 µl ekstrak dan 4,950 ml etanol). Dilakukan juga pengukuran absorbansi kontrol yang terdiri atas 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan 4,0 ml etanol. Sebagai pembandingan digunakan vitamin E yang sudah diketahui sebagai antioksidan.

Penentuan Kandungan Fenolik total

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode spektrofotometri visibel sesuai dengan Chun dkk. (2003). Sejumlah ekstrak atau fraksi uji dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, ditambah dengan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5-8 menit. Larutan selanjutnya ditambah 4 ml Na₂CO₃ 7% dan ditambah aquabides sampai batas tanda. Setelah 2 jam, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 765 nm. Sebagai blanko digunakan aquabides dan reagen Folin-Ciocalteu. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekuivalen asam galat tiap 100 gram berat kering subfraksi (% b/b EAG).

Penentuan kandungan flavonoid total.

Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri visibel sesuai dengan Zou dkk. (2004). Sejumlah ekstrak atau fraksi uji dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, ditambah 4 ml aquades dan 0,3 ml larutan NaNO₂, lalu dibiarkan selama 6 menit. Setelah itu larutan ditambah dengan 0,3 ml AlCl₃ 10% dan dibiarkan selama 5 menit. Larutan selanjutnya ditambah 4 ml NaOH 10% dan aquades sampai 10 ml. Larutan dibiarkan selama 15

menit dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm, terhadap blangko yang terdiri atas semua pereaksi yang digunakan akan tetapi tidak mengandung kuersetin atau sampel uji. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai gram ekivalen kuersetin tiap 100 gram subfraksi (% b/b EK) (Rohman, A., 2007).

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode penangkapan radikal (*radical scavenging*) menggunakan radikal DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ini berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa uji untuk mengurangi intensitas warna radikal DPPH pada 515 nm (Prior dkk., 2005). Aktivitas antioksidan diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul difenilpicril hidrazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa difenilpicril hidrazin dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Penurunan nilai absorbansi DPPH mempunyai arti bahwa telah terjadinya penangkapan radikal DPPH oleh sampel. Penangkapan radikal tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadinya penurunan absorbansi (Zuhra dkk., 2008).

Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah nilai IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa (ekstrak/fraksi) uji yang dibutuhkan untuk mengurangi intensitas warna radikal DPPH sebesar 50% (Zou dkk., 2004). Prior dan Cao (1999) dalam Husni, dkk. (2014) menyatakan bahwa nilai IC_{50} antioksidan diartikan bahwa semakin rendah nilai IC_{50} antioksidan maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin aktif ekstrak/fraksi (senyawa uji) tersebut sebagai antioksidan. Hasil penentuan aktivitas antioksidan ekstrak buah mengkudu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Aktivitas antioksidan yang diekspresikan dengan nilai IC_{50} sampel uji

Suhu (°C)	Aktivitas Antioksidan IC_{50} (mg/L)
RT	526,42
40	559,65
60	365,56
80	672,37
100	927,42

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan pemanasan pada suhu 60°C mempunyai aktivitas antioksidan yang paling besar (nilai IC_{50} paling kecil) dibandingkan dengan suhu pemanasan lainnya. Urutan aktivitas antioksidan dari yang paling besar yang didasarkan pada nilai IC_{50} adalah: 60°C ($IC_{50} = 365,56$ mg/L) > RT ($IC_{50} = 526,42$ mg/L) > 80°C ($IC_{50} = 672,37$ mg/L) > 40°C ($IC_{50} = 559,65$ mg/L) > 100°C ($IC_{50} = 927,42$ mg/L).

Nilai aktivitas antioksidan pengujian menunjukkan bahwa pengaruh suhu menyebabkan munculnya perbedaan pada nilai aktivitas antioksidan ekstrak mengkudu. Dimana suhu maksimal yang dapat digunakan untuk mempertahankan aktivitas antioksidan suatu bahan adalah 60°C. Pemanasan dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya.

Aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan fenolik dan flavonoid totalnya. Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya (Kahkonen dkk., 1999). oleh karena itu dilakukan pengujian kadar total flavonoid dan fenolik dari lima sampel dengan variasi suhu pemanasan.

Kandungan Fenolik Total

Mekanisme dasar dari metode Folin Ciocalteu adalah reaksi oksidasi atau reduksi yang didasarkan pada sifat redoks dari senyawa antioksidan yang dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu, mempertajam pengukuran konsentrasi senyawa fenolik. Pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa pengaruh suhu menyebabkan munculnya perbedaan pada kadar total fenol ekstrak mengkudu. Sampel suhu 60°C mempunyai kandungan fenolik total yang paling besar diantara ekstrak uji. Hasil ini sejalan dengan aktivitas antioksidannya yang memiliki aktivitas tertinggi.

Tabel 2 Kadar Total Fenolik Sampel pada Variasi Suhu

Suhu (°C)	Kons. Fenolik (mg/Kg)	Kadar Total Fenolik (%)
RT	413,88	0,90
40	379,94	0,96
60	631,45	1,21
80	565,39	0,94
100	500,85	0,88

Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya. Senyawa fenolik beraksi sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengkelat logam yang potensial (Kahkonen dkk., 1999).

Kandungan Flavonoid Total

Buah mengkudu memiliki potensi antioksidan karena mengandung senyawa fenolik. Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik. Senyawa Flavonoid mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Anwar dan Triyasmono, 2016). Hasil penentuan kadar flavonoid total ekstrak mengkudu disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Kadar Total Flavonoid Sampel pada Variasi Suhu

Suhu (°C)	Kons. Flavonoid (mg/L)	Kadar Total Flavonoid (%)
RT	9,55	0,0588
40	13,92	0,0473
60	7,50	0,0279
80	6,72	0,047
100	10,81	0,0329

Urutan kandungan flavonoid total yang paling tinggi adalah: 40°C > 100°C > RT > 60°C > 80°C. Ekstrak mengkudu RT memiliki nilai kadar total flavonoid tertinggi, dimana hasil tersebut berkebalikan dengan nilai aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik. Senyawa-senyawa golongan flavonoid pada ekstrak mengkudu RT tidak memberikan kontribusi besar terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak tersebut.

Ekstrak mengkudu pemanasan 60°C memiliki nilai kadar total flavonoid terkecil kedua. Hal ini berkebalikan dengan nilai aktivitas antioksidannya yang tinggi. Kemungkinan besar senyawa-senyawa kimia yang juga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan adalah dari golongan alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin dan fenol hidrokuinon.

Kesimpulan

Suhu pemanasan menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak mengkudu. Suhu maksimal yang dapat digunakan untuk mempertahankan aktivitas antioksidan suatu bahan adalah 60°C. Dimana pemanasan berlebih dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Senyawa golongan lain seperti alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin dan fenol hidrokuinon juga dapat berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

Daftar Pustaka

- Ardiansyah. 2007. Anti Oksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan. <http://www.google.co.id/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=6&url=http%3A%2F%2Fwww.citylifechiropractic.com>.
- Anwar, K., Triyasmono, L. 2016. Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience* 3(1): 83-92.
- Beckman, K. B. & Arneti, B. N. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev.*, 78:547-581.
- Chun, O.K., Kim, D.O. dan Lee, C.Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 8067-8072.

- Husni, A., Putra, D. R., Lelana, I. Y. 2014. Aktivitas Antioksidan Padina sp. pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. JPB Perikanan 9 (2):165-173.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. dan Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of extracts containing phenolic compounds. Journal of Agriculture and Food Chemistry 47: 3954-3962.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. dan Taniguchi, H. (2002). Antioxidants properties of ferulic acid and its related compounds. Journal of Agriculture and Food Chemistry 50: 2161-2168.
- Percival, M. 1998. Antioxidant. *Clinical Nutrition Insights.*, 31. Richardson, T. and Finley, J.W. 1985. Chemical Changes In Food During Processing. pp. 2-5. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Prior, R.L., Wu, X. dan Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agriculture and Food Chemistry 55: 2698A-J.
- Rohman, A., Riyanto, S., Hidayati, N. K. 2007. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Agritech 27 (4):147-151.
- Wang MY, Su C: Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). Ann N Y Acad Sci 2001, 952:161-168.
- Zou, Y., Lu, Y. dan Wei, D. 2004. Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro. Journal of Agriculture and Food Chemistry 52:5032-50.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., Sihotang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus and rogunus* (L) Merr.). Jurnal Biologi Sumatera 3 (1)

