



**SKRINING FITOKIMIA BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L) VARIETAS
BRUNONIANUM DAN EFEK PEREBUSAN TERHADAP TOTAL
FENOL, FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SKRIPSI**

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Dalam Mencapai Gelar Sarjana S-1

Program Studi S-1

Teknologi Hasil Pertanian

Disusun Oleh :

AGUS MUNARTO

D.111.13.0106

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS SEMARANG

2017



**SKRINING FITOKIMIA BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L) VARIETAS
BRUNONIANUM DAN EFEK PEREBUSAN TERHADAP TOTAL
FENOL, FLAVONOIDDAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SKRIPSI**

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Dalam Mencapai Gelar Sarjana S-1

Program Studi S-1

Teknologi Hasil Pertanian

Disusun Oleh :

AGUS MUNARTO

D.111.13.0106

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS SEMARANG

2017

HALAMAN PENGESAHAN 1

Judul Skripsi : Skrining Fitokimia Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Varietas Brunonianum Dan Efek Perebusan Terhadap Total Fenol, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan

Nama : Agus Munarto

NIM : D.111.13.0106

Program Studi : S-1 Teknologi Hasil Pertanian



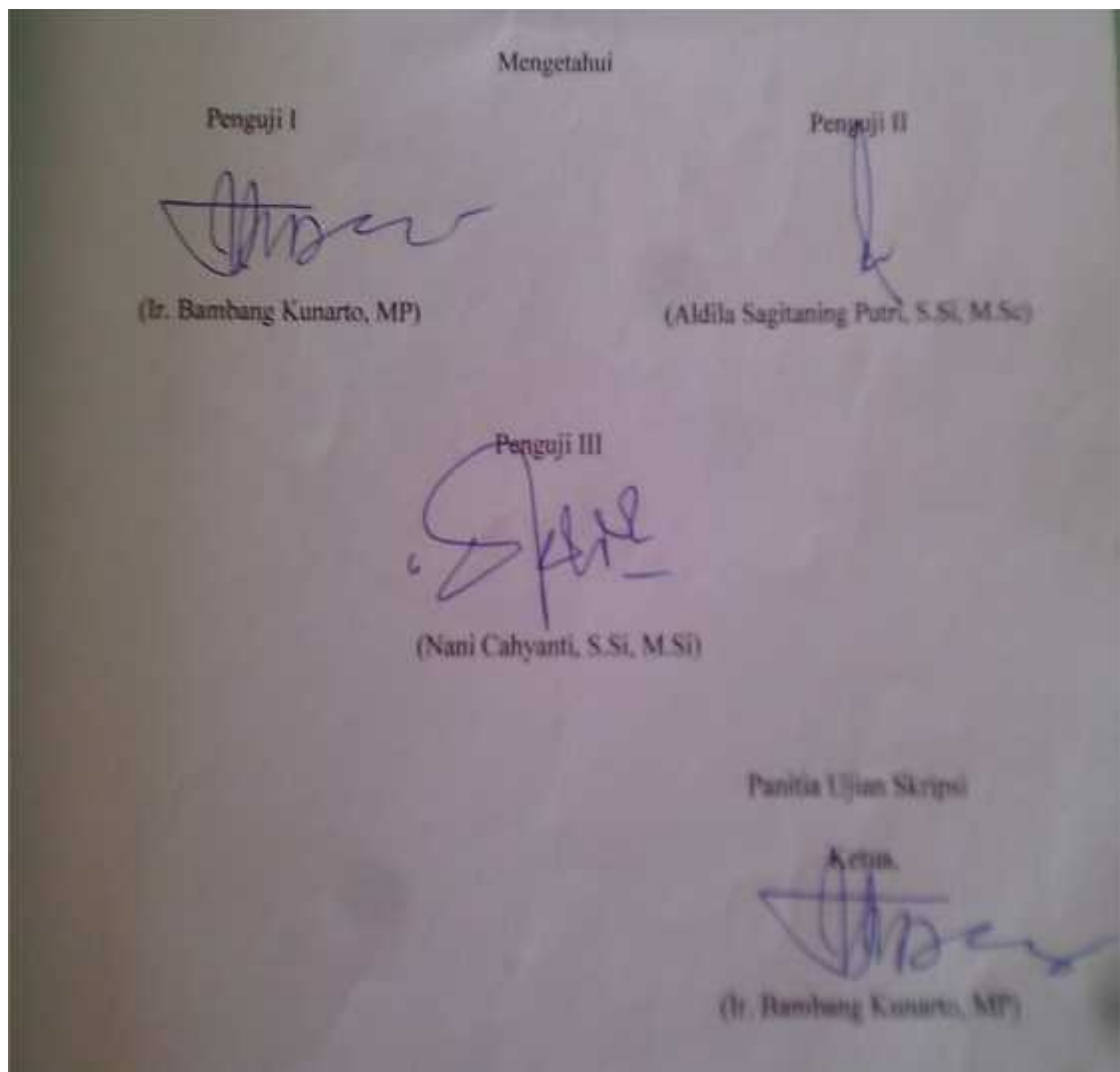
HALAMAN PENGESAHAN 11

Judul Skripsi : Skrining Fitokimia Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Varietas Brunonianum Dan Efek Perebusan Terhadap Total Fenol, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan

Nama : Agus Munarto

NIM : D.111.13.0106

Program Studi : S-1 Teknologi Hasil Pertanian



SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Agus Munarto

NIM : D.111.13.0106

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian –Universitas Semarang

Fakultas : Teknologi Pertanian

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul :

Skrining Fitokimia Biji Melinjo (*Genetum gnemon L*) Varietas Brunonianum dan Efek Perebusan Terhadap Total Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan adalah hasil penelitian saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain yang pernah ditulis atau diterbitkan, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya. Apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 17 Januari 2017

Yang menyatakan

(Agus Munarto)

ABSTRAK

Agus Munarto, D.111. 13. 0106. 2017. **Skrining Fitokimia Biji Melinjo (*Gnetum gnemon L*) Varietas Brunonianum dan Efek Perebusan Terhadap Total Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan.** (Pembimbing : Ir. Bambang Kunarto, MP dan Aldila Sagitaning Putri, S.Si, M.Sc)

Melinjo (*Gnetum gnemon L*) merupakan tanaman yang banyak terdapat di daerah Asia Tenggara termasuk Indonesia. Berdasarkan data BPS (Badan Pusat Statistik 2013), rata-rata produksi melinjo di Indonesia dengan lahan seluas 1 ha biasanya ditanami 100 pohon melinjo. Setiap pohon melinjo bisa menghasilkan 10 kg biji melinjo. Sehingga sekali panen mendapatkan biji melinjo sekitar 1,3-1,5 ton biji melinjo. Melinjo adalah sayuran yang dikenal memiliki rasa pahit. Namun dibalik rasa pahit dari melinjo, melinjo mengandung antioksidan dan beberapa vitamin essensial. Biji melinjo varietas brunonianum adalah jenis melinjo yang paling banyak dan dibudidayakan dan paling disukai. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskular, kanker, arterosklerosis, oestoporosis, dan lain-lain.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh lama perebusan terhadap kandungan total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada melinjo. Manfaat Penelitian ini adalah memberikan informasi tentang potensi biji melinjo sebagai antioksidan alami dan pengaruh yang terjadi setelah dilakukan perebusan pada biji melinjo.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor 5 perlakuan dan 3 kali pengulangan yaitu perlakuan (A1) 0 menit, (A2) 5 menit, (A3) 10 menit, (A4) 15 menit, dan (A5) 20 menit. Dan masing – masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data-data dianalisis statistik dan apabila ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama biji melinjo direbus maka kandungan Total Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan akan semakin menurun. Nilai Total Fenol antar perlakuan memiliki beda nyata ($p < 0,05$) perlakuan dengan nilai tertinggi adalah (A1) 0 menit dan nilai terendah adalah (A5) 20 menit. Nilai Total Flavonoid antar perlakuan memiliki beda nyata ($p < 0,05$) perlakuan dengan nilai tertinggi adalah (A1) 0 menit dan nilai terendah adalah (A5) 20 menit. Nilai Aktivitas Antioksidan antar perlakuan memiliki beda nyata ($P < 0,05$) perlakuan dengan nilai tertinggi adalah (A1) 0 menit dan nilai terendah adalah (A5) 20 menit.

Kata Kunci : Melinjo Varietas Ketan, Total Fenol, Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan.

ABSTRACT

Agus Munarto, D. 111.13.0106. 2017. **Phytochemical Screening seed *Gnetum* (*Gnetum gnemon*L) Varietas and the effects of Boiling Brunonianum Againsts Total Phenol, Flavonoid, and Antioxidant Activity.** (Supervisor : Ir. Bambang Kunarto, M.P and Aldila Sagitaning Putri, S.Si, M.Sc).

Gnetum (*Gnetum gnemon* L) is a plant in the southeast Asian region including Indonesia. According to the BPS (Central bureau of statistic to 2013), the verage production of gnetumin Indonesia by land 1 ha planted 100 trees usually *gnetum*. Each tree can produce 10 kg *gnetum* seed *gnetum*. So once the harvest is getting seed *gnetum* about 1.3-1.5 tons of seed of *gnetum*. *Gnetum* is a vegetable that is known to have a bitter taste. But behind the bitter taste of *gnetum*, contains antioxidant vitamins life. *Gnetum* seed varieties *brunonianum* is the most numer type of *gnetum* and cultivatd and most preferred. Consumption of adequate of amounts of antoxidant can lower the incidence of degenerative diseaces, such as cardiovascular, cancer, anterosklerosis, oestoporosis, and other.

This research aimed to asses the influence of the boiling time again the content of total phenol, flavonoid, and antioxidant activity in *gnetum*. The benefit of this research is to provide information about potential seeds of *gnetum* as natural antioxidant and influence happens after boiling it on theseed of *gnetum*.

The experimental design used was Complete Random Design (RAL) one factor 5 treatment and 3 repetition. Treatment (A1) 0 minutes, (A2) 5 minutes, (A3) 10 minutes, (A4) 15 minutes, (A5) 20 minutes, and each treatment was repeated three times as much. Date were annalys statistic and what if there is a differen between the treatment continue with a real differen test using test (DMRT) at the 5% level.

The result showed that the long the seed of *gnetum* boiling then the content of total phenol, Flavonoid, and antioxidant activity will progresiv decrease. the treatment the value of Total phenol between treatmen have areal different ($p < 0,05$) the treatment with with the high value is 0 second (A1) and the low value is 20 minutes (A5). The value of Total Flavonoid between the treatment have different ($p < 0,05$) treatment with the high value is) minutes (A1) and the low value is 20 minutes (A5). The value of antioxidant activity between the treatmen have different real ($p < 0,05$) treatmen with the high value is 0 minutes (A1) and the low value is 20 minutes (A5).

Keywords: *Gnetum* varietas *Brunonianum*, Total phenol, total flavonoid and antioksidan activity.

KATA PENGANTAR

Alkhamdulillah penulis panjatkan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul **“Skrining Fitokimia Biji Melinjo Varietas Brunonianum dan Efek Perebusan Terhadap Total Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan”**

Dalam melaksanakan maupun menyusun laporan penelitian ini penulis banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ir Sri Budi Wahjuningsih, MP selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Semarang.
2. Ir. Bambang Kunarto, MP selaku ketua jurusan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Semarang dan selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama penulisan laporan ini.
3. Aldila Sagitaning Putri, S.Si, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan selama penulisan laporan ini.
4. Nani Cahyanti, S.Si, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan pengarahan dalam penulisan laporan ini.
5. Keluarga saya tercinta, Bapak dan Ibu serta adik dan beserta keluarga besar yang telah memberikan dukungan moral maupun material dan juga yang selalu memberikan semangat.

6. Aprilliani, S.KH sebagai orang terbaik yang selalu mendukung untuk menyelesaikan laporan ini.
7. Teman – teman dari Ponpes Tahafudhul Qur’an Roudhotul Muhsinin Semarang yang selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan laporan ini.
8. Rekan – rekan mahasiswa FTP 2013 kelas B dan semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan laporan ini.

Laporan ini dapat bermanfaat dan dapat menjadi sumber pengetahuan untuk memperluas wawasan baik bagi penulis sendiri maupun bagi para pembaca. Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga penulis berharap adanya kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi perbaikan pada masa yang akan datang.

Akhir kata, harapan penulis semoga laporan penelitian ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Semarang 17 Januari 2017

Penulis

Agus Munarto

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| LEMBAR PENGESAHAN I..... | I |
| LEMBAR PENGESAHAN II..... | II |
| SURAT PERNYATAAN..... | III |
| ABSTRAK | IV |
| ABSTRACT..... | V |
| KATA PENGANTAR | VI |
| DAFTAR ISI..... | VII |
| DAFTAR GAMBAR | VIII |
| DAFTAR TABEL..... | X |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | XI |
| BAB 1. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 2 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| E. Hipotesis | 3 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Melinjo (<i>Gnetum gnemon</i> L)..... | 4 |
| B. Varietas Melinjo | 5 |
| C. Fitokimia..... | 6 |
| D. Skrining | 7 |
| E. Fenol | 7 |
| F. Flavonoid | 8 |

| | |
|----------------------|----|
| G. Antioksidan | 8 |
| H. Perebusan..... | 10 |

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

| | |
|---------------------------------------|----|
| A. Waktu Dan Pelaksanaan | 13 |
| B. Alat Dan Bahan | 13 |
| C. Prosedur Penelitian | 13 |
| D. Prosedur Analisis | 16 |
| 1. Uji Fitokimia | 16 |
| 2. Uji Kandungan Total Fenol | 18 |
| 3. Uji Kandungan Total Flavonoid..... | 19 |
| 4. Uji Aktivitas Antioksidan | 20 |
| E. Rancangan Percobaan | 21 |

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

| | |
|--|----|
| A. Skrining Fitokimia Biji Melinjo | 22 |
| B. Total Fenol..... | 23 |
| C. Total Flavonoid | 26 |
| D. Aktivitas Antioksidan..... | 28 |
| E. Korelasi Total Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan..... | 30 |

BAB V. PENUTUP

| | |
|--------------------|----|
| A. Kesimpulan..... | 33 |
| B. Saran | 33 |

| | |
|----------------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA | 34 |
|----------------------|----|

| | |
|----------------|----|
| LAMPIRAN | 49 |
|----------------|----|

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Biji Melinjo Varietas Brunonianum..... | 14 |
| Gambar 2. Diagram Alir Skrining Fitokimia Biji Melinjo | 15 |
| Gambar 3. Diagram Alir Perlakuan Biji Melinjo..... | 16 |
| Gambar 4. Grafik Rerata Kandungan Total Fenol..... | 24 |
| Gambar 5. Grafik Rerata Kandungan Total Flavonoid..... | 27 |
| Gambar 6. Grafik Rerata Kandungan Aktivits antioksidan | 29 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Pengaruh Perebusan Terhadap Aktivitas Antioksi dan Beberapa Bahan Pangan..... | 12 |
| Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia..... | 22 |
| Tabel 3. Kandungan Total Fenol..... | 23 |
| Tabel 4. Kandungan Total Flavonoid..... | 26 |
| Tabel 5. Kandungan Aktivitas Antioksidan..... | 28 |
| Tabel 6. Korelasi Total Fenol, dan total Flavonoid terhadap Aktivitas antioksidan | 32 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Melinjo (*Gnetum gnemon* L) merupakan tanaman yang tumbuh tersebar serta banyak ditemukan di tanah pekarangan penduduk desa maupun penduduk perkotaan di Indonesia. Berdasarkan data BPS (Badan Pusat Statistik 2013), rata-rata produksi melinjo di Indonesia dengan lahan seluas 1 ha biasanya ditanami 100 pohon melinjo. Setiap pohon melinjo bisa menghasilkan 10 kg biji melinjo. Sehingga sekali panen mendapatkan biji melinjo sekitar 1,3-1,5 ton biji melinjo. Melinjo adalah tanaman yang mempunyai banyak manfaatnya, dimana hampir seluruh bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, salah satunya adalah biji melinjo. Biji melinjo yang sudah tua merupakan bahan baku pembuatan emping melinjo yang mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi. Ekstrak biji melinjo mengandung 6 macam senyawa stilbenoid, yaitu *trans*-resveratrol (3,5,4'-*tryhydroxy-trans-stilbene*), *gnetin C*, *gnetin L*, *gnemonoside A*, *gnemonoside C*, dan *gnemonoside D* (Kato *et al.*, 2009).

Pada Tani *et al.* (2014), disebutkan bahwa ekstrak biji melinjo menunjukkan aktivitas farmakologikal seperti aktivitas anti mikrobia, penghambatan lipase dan amilase, modulasi dari produksi sitokin, antiangiogenesis, anti metabolik sindrom dan pencegahan penuaan endotelial. Selain itu, resveratrol dan turunannya diketahui memiliki aktivitas biologis

termasuk aktivitas antioksidan, penghambatan tirosinase dan biosintesis melanin.

Setiap tanaman memiliki karakteristik unik, sehingga setiap tanaman membutuhkan kondisi ekstraksi yang berbeda untuk mendapatkan senyawa fenolik dengan maksimal. Keberadaan fenol dalam jumlah yang cukup pada hasil ekstrak perlu diketahui karena senyawa ini merupakan antioksidan alami dan mampu mereduksi kerusakan oksidatif akibat dari penyakit degeneratif seperti kanker, arterosklerosis atau penyakit kardiovaskular (Bhat dan Nabilah, 2014).

Dari sekian banyak faktor tersebut, penelitian ini berfokus pada pengaruh lama perebusan melinjo terhadap total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak biji melinjo.

B. Rumusan Masalah

Pada umumnya masyarakat mengonsumsi biji melinjo dengan cara direbus, ditumis, dijadikan keripik dan lain-lain. Berdasarkan hal tersebut dapat dirumuskan, perebusan pada biji melinjo diduga dapat menyebabkan perubahan kandungan senyawa aktif dan bioaktivitasnya.

C. Tujuan penelitian

Berdasarkan perumusan masalah, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama perebusan terhadap kandungan total fenol, flavonoid dan aktivitas antioksidan biji melinjo.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi ilmiah bagi masyarakat tentang waktu perebusan biji melinjo yang tepat sehingga kandungan total fenol, flavonoid, aktivitas antioksidan masih baik. Diharapkan dapat diterapkan di masyarakat dan industri produksi melinjo.

E. Hipotesis

Di duga dengan adanya pengaruh lama perebusan yang berbeda terhadap biji melinjo akan menghasilkan total fenol, flavonoid dan aktivitas antioksidan berbeda pula.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Melinjo (*Gnetum gnemon* L)

Melinjo (*Gnetum gnemon*.L.) termasuk tumbuhan berbiji terbuka (*Gymnospermae*) dengan tanda-tanda bijinya tidak terbungkus daging, tetapi hanya terbungkus kulit luar (Sunanto, 1991). Tanaman melinjo dapat tumbuh baik di daerah-daerah yang hawanya panas, tetapi dapat juga tumbuh di daerah pegunungan. Tanaman melinjo menghendaki curah hujan yang banyak yaitu 3.000 – 5.000 mm/tahun merata sepanjang tahun, di daerah dengan iklim seperti ini hasilnya lebih baik. Tanaman melinjo yang dapat menghasilkan banyak buah melinjo adalah tanaman melinjo betina yang telah mengalami proses penyerbukan kepala putik bunga betina oleh tepung sari bunga jantan yang berasal dari tanaman jantan (Sunanto, 1991).

Klasifikasi biji melinjo dapat dilihat sebagai berikut :

Klasifikasi ilmiah biji melinjo menurut Tjitrosoepomo, G (2004) :

Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Kelas : Gnetopsida
Ordo : Gnetales
Famili : Gnetaceae
Genus : Gnetum
Spesies : Gnetum gnemon L.

Melinjo (*Genetum gnemon* L) merupakan tanaman yang tumbuh dan tersebar di berbagai tempat, serta banyak di temukan di tanah pekarangan penduduk desa maupun penduduk perkotaan.

Untuk membedakan tanaman jantan dan betina dapat terlihat dari bentuk bulir bunganya, bulir bunga jantan lebih kecil dan penuh dengan tepung sari biasanya dimanfaatkan untuk sayuran. Sedangkan pada bunga betina tampak jelas tonjolan bakal biji yang akan berkembang menjadi buah melinjo yang dapat dimanfaatkan sebagai sayuran dan bahan utama pembuatan emping melinjo.

B. Varietas Melinjo

Berdasarkan bijinya, melinjo memiliki tiga varietas :

1. Varietas kerikil, melinjo varietas kerikil menghasilkan biji melinjo dengan ukuran kecil, sekitar 1 cm, bentuknya agak bulat. Tiap pohon dapat berbuah sangat lebat.
2. Varietas ketan, melinjo varietas ketan menghasilkan biji melinjo berbentuk panjang (+2,7 cm) dan ramping, jauh lebih besar dari biji melinjo varietas kerikil.
3. Varietas gentong, melinjo varietas gentong menghasilkan biji melinjo paling besar, bentuknya tambun, panjangnya hampir sama dengan biji melinjo varietas ketan. Hanya buah yang terdapat pada tiap pohon tidak begitu lebat (Haryoto, 1998).

Sedangkan menurut Barua (2015) varietas melinjo dengan ukuran panjang 1-3, berbentuk elips merupakan varietas *brunonianum* dan yang berbentuk bundar merupakan varietas *griffithi*.

C. Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian utama meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimia, biosintesisnya, perubahan serta metabolisnya, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

D. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia atau penapisan kimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tumbuhan, karena pada tahap ini bisa diketahui golongan senyawa kimia yang dikandung tumbuhan yang sedang diuji atau diteliti. Fransworth (1996) mengatakan penapisan fitokimia adalah pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa aktif biologis yang terdapat pada simplisia tumbuhan.

E. Fenol

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007). Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Senyawa

fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana : orsinol, 4-metilresolsinol, 2- metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987; Apak *et al.*, 2007).

F. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang memiliki senyawa terdiri dari C6-C3-C6 dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007; Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987). Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan (Bhat *et al.*, 2009). Bagi manusia, flavon dalam dosis kecil bekerja sebagai

stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

G. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (donor electron) atau reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat di cegah. Senyawa ini merupakan berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Tamat *et al.* (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan. Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan yang diproduksi secara kontinue untuk menangkal atau meredam radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Bila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan alami dalam tubuh maka radikal bebas akan menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Sehingga tubuh kita membutuhkan asupan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas tersebut (Prakash, 2001; Winarsi, 2007).

Mekanisme reaksi antioksidasi dapat dipelajari dengan metoda penangkapan radikal DPPH (2,2-diphenyl-1 picrylyhdrazil). Kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas berdasarkan kalorimetri menggunakan DPPH sebagai radikal stabil. Pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada

sampel. Berkurangnya absorbansi dari larutan DPPH diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini terjadi ketika radikal bebas DPPH ditangkap oleh antioksidan melalui donor H ke bentuk molekul DPPH yang stabil. Donasi atom hidrogen tersebut menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH. Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan menggunakan penangkapan radikal bebas ini adalah nilai IC_{50} yaitu konsentrasi sample untuk mengurangi intensitas warna radikal bebas DPPH sebesar 50% (Zou, dkk 2004).

H. Perebusan

Sayuran biasanya dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dalam bentuk lalapan ataupun setelah melalui proses pemasakan seperti perebusan. Pemasakan selain mempunyai daya cerna, cita rasa dan membunuh mikroorganisme patogen, juga dapat mempengaruhi kandungan zat gizi makanan (Mulyati, 1994).

Perebusan adalah proses pemasakan air mendidih sekitar $100^{\circ}C$, dimana air sebagai media penghantar panas. Pengukusan merupakan proses pemasakan dengan medium uap air panas yang dihasilkan oleh air mendidih (Williams, 1979). Menurut Mulyati, 1994, antioksidan terdapat pada bahan pangan alami, tetapi jika bahan tersebut dimasak, maka kandungannya akan berkurang akibat terjadinya degradasi kimia dan fisik. Pemasakan dengan suhu $80^{\circ}C$ sampai $112^{\circ}C$ dan lama perebusan selama 5 : 15 menit untuk sayuran wortel dan terung dapat menurunkan total fenol dari 54-71% menjadi 38-43% (Subekti, 1998).

Proses pengolahan menggunakan panas seperti perebusan biasa dilakukan oleh masyarakat untuk meningkatkan penerimaan terhadap bahan pangan. Penggunaan panas dalam pengolahan dapat menyebabkan beberapa perubahan terhadap bahan pangan baik secara fisik maupun kimia. Proses panas menyebabkan perubahan pada integritas struktural dan matriks seluler yang memberikan efek negatif dan positif pada kandungan fitokimia. Perlakuan panas pada bahan pangan biasanya memberikan efek destruktif pada senyawa flavonoid dan fenolik karena keduanya merupakan komponen yang tidak stabil (Saika dan Mahanta 2013). Beberapa penelitian menunjukkan bahan pangan yang diberikan perlakuan panas mengalami penurunan kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan secara signifikan yang disebabkan oleh dua faktor utama yaitu pelepasan komponen total fenol dan degradasi atau pembentukan menjadi komponen baru (Xu dan Chang 2008, Padda dan Picha 2008). Pengaruh perebusan terhadap beberapa bahan pangan ditunjukkan oleh Tabel 1.

Efek negatif proses panas pada kandungan total fenol tidak selalu terjadi pada bahan pangan. Beberapa bahan pangan mengalami peningkatan kandungan total fenol setelah mengalami proses panas. Beberapa kultivar umbi manis mengalami peningkatan total fenol dan aktivitas antioksidan setelah diolah dengan rumah tangga salah satunya perebusan (Bellail *et al.* 2012). Antioksidan dapat mengurangi stress oksidatif yang timbul pada penderita diabetes. Stress oksidatif pada penderita diabetes timbul karena adanya perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid yang akan meningkatkan pembentukan ROS (*Radical Oxygen Scavenging*) dari reaksi glikasi dan

oksidasi lipid sehingga menurunkan pertahanan antioksidan. Stress oksidatif ini akan mengakibatkan berbagai kerusakan oksidatif berupa komplikasi diabetes dan memperparah kondisi penderita (Widowati, 2008). Sementara menurut Chumyam *et al.* (2013), peningkatan total fenol dan aktivitas antioksidan pada terong ungu yang telah mengalami perebusan, pengukusan selama 5-15 menit disebabkan rusaknya membran sel sehingga senyawa fenol dan antioksidan lebih mudah terekstrak.

Tabel 1. Pengaruh Perebusan Terhadap Aktivitas Antioksidan beberapa bahan pangan

| No | Sampel | Jenis ekstrak | Keterangan | Kondisi perebusan | Referensi |
|----|--------------|----------------|---|--|-------------------------------|
| 1 | Kunyit | Air dan etanol | Total aktivitass antioksidan cenderung meningkat | | |
| 2 | Labu | Etanol | Aktivitas antioksidan meningkat dari 81.1% menjadi 94.6% | Suhu air mendidih selama 2, 4, 6 menit | Azizah <i>et al.</i> (2009) |
| 3 | Kembang kol | Aseton 80% | Aktivitas antioksidan meningkat dari 7.30% menjadi 11.00% | Suhu air mendidih selama 9 menit | Saika & Mahantana (2013) |
| 4 | Buncis | Aseton 80% | Aktivitas antioksidan meningkat 7.35% menjadi 8.51% | Suhu air mendidih selama 6 menit | |
| 5 | Kubis | Aseton | Aktivitas antioksidan menurun 2.37% | 100° C selama 14-17 menit. | Bellail <i>et al.</i> (2012) |
| 6 | Jagung beku | Metanol 85% | Aktivitas antioksidan menurun 73%-33.5% | | Song <i>et al.</i> (2013) |
| 7 | Bawang putih | Aseton 80% | Aktivitas antioksidan menurun 9.8% | Suhu 100° C selama 10 menit | Gorinstein <i>et al.</i> 2008 |
| 8 | Labu | Metanol 80% | Aktivitas antioksidan meningkat | Suhu 100° C selama 5 menit | Trukmen <i>et al.</i> (2005) |
| 9 | Terong ungu | Metanol 80% | Aktivitas antioksidan meningkat | Suhu air mendidih selama 5-15 menit | Chumya <i>et al.</i> (2013) |
| 10 | Kurma gurun | Air | Aktivitas antioksidan menurun 49.1% - 31.3% | Suhu perebusan selama 10 menit | Amadou <i>et al.</i> (2012) |

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada tempat yang berbeda, preparasi sampel dilakukan dilaboratorium kimia Universitas Semarang, uji skrining dan uji kandungan total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dilakukan di laboratorium Chemix Pratama Bantul. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Oktober sampai Desember 2016.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi dan analisis ekstrak biji melinjo antara lain seperangkat alat gelas , rotary evaporator, vortex mixer vm-300, spektrofometer UV-Vis, oven , penggiling disk mill model FFD, Neraca analitik schout pro DHAUS max 400g dan mikropipet 20-200 μ l dan 100-1000 μ l.

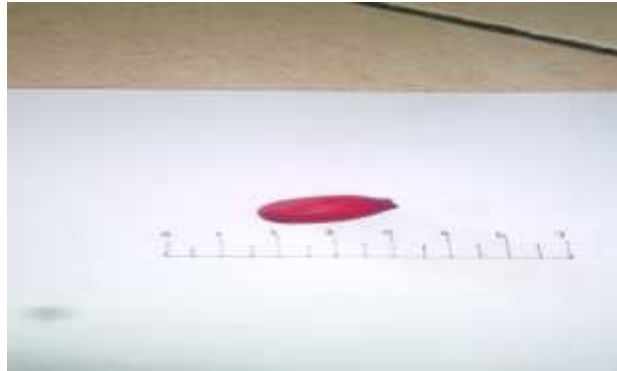
Bahan yang digunakan adalah biji melinjo varietas ketan berumur (2-3 bulan) didapatkan dari perkebunan melinjo daerah Kabupaten Sleman. Etanol (Brotaco Chemika), kloroform (Aldrich), Ammonia, Asam sulfat, (H₂SO₄), pereaksi mayer, pereaksi Dragendroft, FeCl₃, Air, kertas saring, Asam klorida, Asam asetat atau cuka, glasia, dan larutan DPPH.

C. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dua tahap yaitu skrining fitokimia biji melinjo mentah (*Gnetum gnemon* L) untuk mengetahui kandungan senyawa metabolik

pada biji melinjo dan pengujian total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan biji melinjo yang sudah diberi perlakuan lama perebusan yang berbeda.

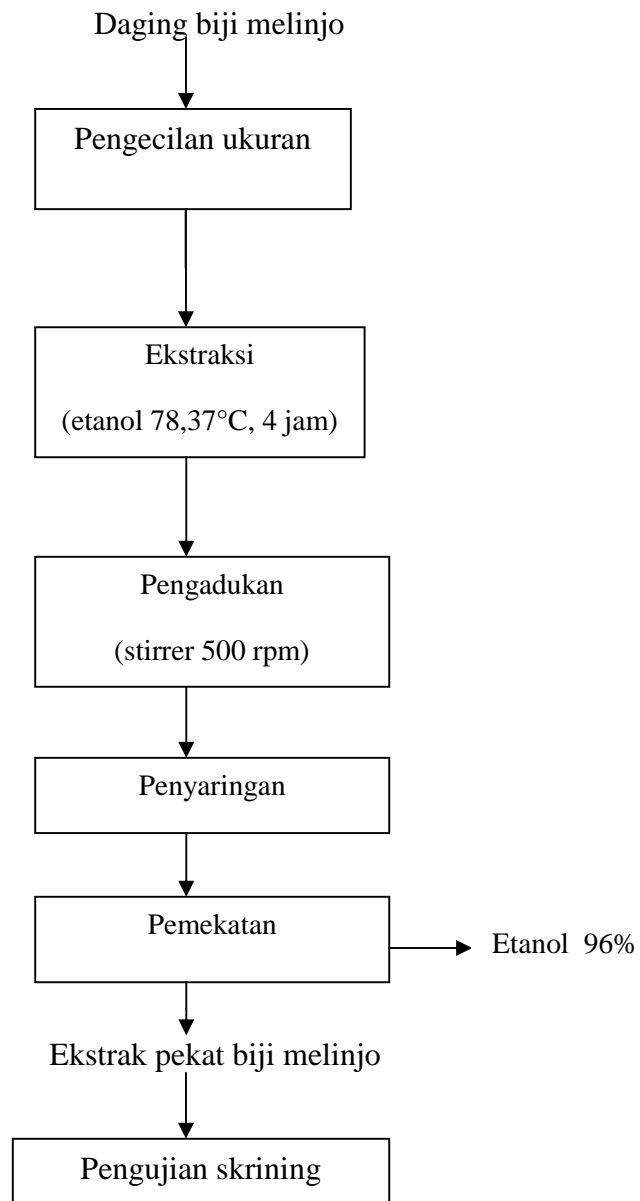
Perebusan biji melinjo melinjo varietas *Brunonianum* menggunakan water bad pada penelitian ini ditunjukkan pada diagram alir Gambar 3.



Gambar 1. Biji Melinjo Varietas *Brunonianum* (Barua *et al*, 2015)

Pengujian tahap pertama : biji melinjo dipotong dan dibuang kulitnya , kemudian dilakukan pengecilan ukuran pada biji melinjo dengan cara diblender hingga menjadi bubur, bubur biji melinjo diekstrak menggunakan etanol 96% dan dimaserasi selama 4 jam pada suhu kamar, kemudian dihaluskan dengan menggunakan stirer dengan kecepatan 500 rpm, selanjutnya ekstrak disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada titik didih etanol 78,37°C. Ekstrak pekat biji melinjo yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia yang meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin dan steroid atau triterpenoid menggunakan uji fitokimia (Harborne, 1996).

Berikut adalah skema penelitian skrining fitokimia biji melinjo (*Gnetum gnemon L*) tahap pertama :

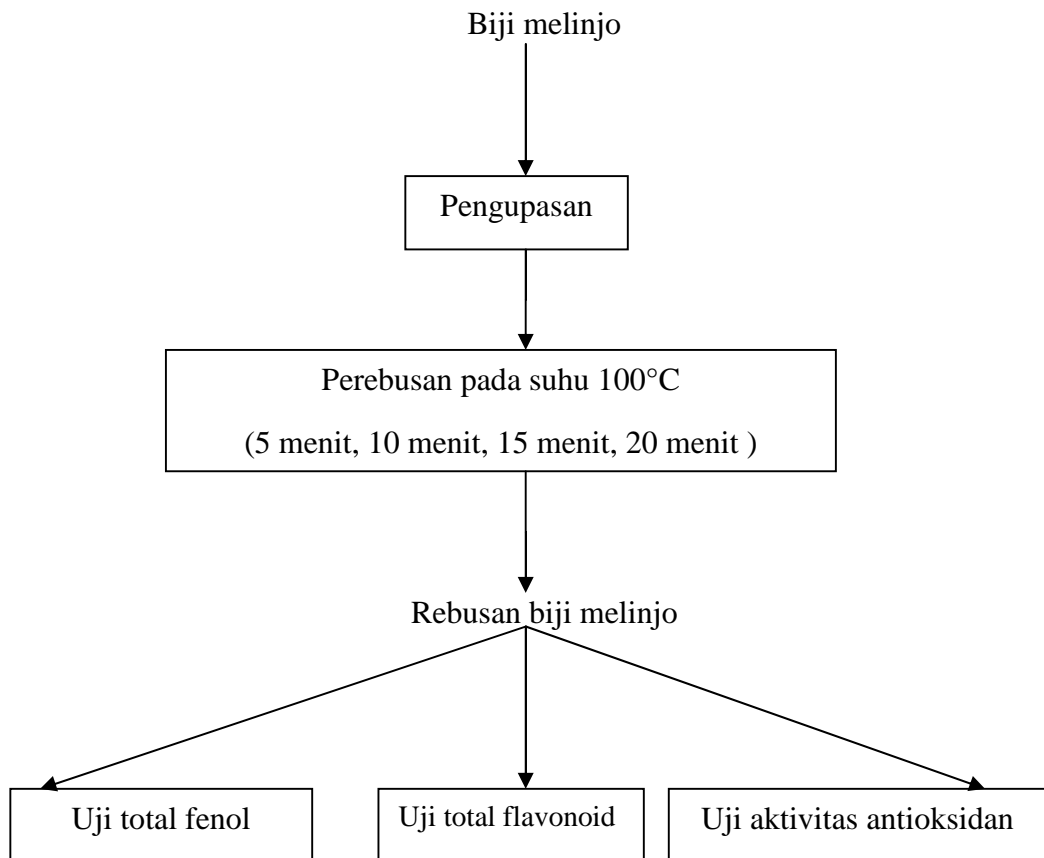


Gambar 2. Diagram alir Skrining Fitokimia Biji Melinjo (Harbone, 1996)

Pengujian tahap kedua : Biji melinjo dikupas kulit luarnya yang berwarna merah dengan menggunakan pisau. Kemudian biji melinjo direbus pada suhu air mendidih ($\pm 100^{\circ}\text{C}$) selama 0 menit/tanpa perebusan, 5 menit, 10 menit, 15

menit, 20 menit. Selanjutnya masing-masing perlakuan dilakukan pengujian total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan.

Secara skematis penelitian tahap 2 ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Perlakuan Biji Melinjo

D. Prosedur analisis

1. Uji Fitokimia (Harborne, 1996)

a. Pengujian Alkaloid

Pengujian fitokimia menggunakan sampel sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml amonia kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 3 sampai 5 tetes H_2SO_4 pekat lalu dikocok hingga

terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian di tambah pereaksi mayer dan dragendroff masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi mayer memberikan endapan warna putih, dan pereaksi Dragendroff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

b. Pengujian Total Fenolik

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%, Ekstrak positif mengandung fenol menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat (Harborne, 1987).

c. Pengujian Flavonoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring, filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan 0,05 mg serbuk mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harborne, 1987).

d. Pengujian Saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 ml air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1N, bila busa yang terbentuk tetap stabil \pm 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin busa tidak hilang (Depkes RI, 1989).

e. Pengujian Steroid atau Triterpenoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan 2 tetes H_2SO_4 , larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit, steroid memberikan warna biru atau hijau,

sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

2. Uji Kandungan Total Fenol

Metode yang digunakan mengacu pada Yangthong *et al.* (2009), Sharma *et al.* (2011) dan Santoso *et al.* (2012) dengan menggunakan reagen folin-Ciocalteau. Ekstrak emping melinjo berat 5 mg dilarutkan dalam 2 ml etanol 96%. Kemudian larutan ditambahkan 5 ml aquades, kemudian ditambahkan 1 ml Na₂CO₃ 5%. Larutan dihomogenkan lalu diinkubasi dalam kondisi gelap selama satu jam. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 725 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan.

Asam galat digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 0 ppm, 5 ppm, 15 ppm dan 20 ppm. Kurva kalibrasi asam galat digunakan untuk menentukan kadar senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak) dengan rumus perhitungan :

$$C = C1 \times \frac{V}{M}$$

Keterangan :

C : Total fenol (mg GAE/g ekstrak)

M : Berat ekstrak (g)

C1 : Konsentrasi asam galat (mg/l)

V : Volume ekstrak (l)

3. Uji Kandungan Flavonoid

Untuk menguji flavonoid menggunakan metode yang mengacu pada metode Chang *et al.* (2002), Hasan *et al.* (2013) dan Nugroho *et al.* (2013) dengan menggunakan pereaksi AlCl_3 . Sebanyak 0,5 ml ekstrak biji melinjo dengan konsentrasi 1000 ppm di pipet kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1,5ml metanol, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml CH_3COOK 1M dan 2,8 ml aquades. Larutan di homogenkan dan di inkubasi selama 30 menit absorbansi larutan di ukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan.

Kuersetin digunakan sebagai standart dengan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Kurva kalibrasi kuersetin digunakan untuk menentukan kadar senyawa total flavonoid yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg Equivalen Quersetin/gram ekstrak (mg QE/g) dengan rumus perhitungan :

$$C = C1 \times \frac{V}{M} \times FP$$

Keterangan :

C : Total flavonoid (mg QE/g ekstrak)

M : Berat ekstrak (g)

C1 : Konsentrasi kuersetin(mg/l)

FP: Faktor pengenceran

V : Volume ekstrak (l)

4. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji melinjo ini menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) seperti yang dilakukan oleh Molyneux (2004) dan Vijaya Bakar dan Shyamala (2011). Pengukuran antioksidan dengan DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak banyak membutuhkan reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran menggunakan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009).

Konsentrasi ekstrak sampel biji melinjo yang digunakan adalah 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm. Masing - masing konsentrasi tersebut dipipet sebanyak 3ml dan dicampur dengan menggunakan 1 ml larutan DPPH 100 μ M. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang maksimum (517 nm). Pada tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. BHT (Butylated Hydroxy Toluene) digunakan sebagai pembanding dengan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm. Kemampuan untuk meredam radikal bebas DPPH (inhibisi) dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{\left(1 - \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}}\right) \times fp \times 100\%}{\text{berat sampel}}$$

Keterangan :
A sampel = nilai absorbansi pada DPPH sampel
A blanko = nilai absorbansi pada DPPH tanpa sampel
fp = faktor pengenceran

E. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuannya adalah sebagai berikut:

A1= Perebusan biji melinjo selama 0 menit

A2= Perebusan biji melinjo selama 5 menit

A3= Perebusan biji melinjo selama 10 menit

A4= Perebusan biji melinjo selama 15 menit

A5= Perebusan biji melinjo selama 20 menit

Analisa statistik dilakukan dengan ANOVA, bila terjadi perbedaan antar perlakuan akan dilakukan dengan uji DMRT pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan masing –masing taraf perlakuan.

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain :

Total fenol, total flavonoid, Penentuan aktivitas antioksidan

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Skrining Fitokima Biji Melinjo

Skrining fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui kandungan kimia. Tabel 2 adalah hasil skrining fitokimia pada biji melinjo.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia biji melinjo

| Nama sampel | Identitas dan keadaan sampel | Parameter | Hasil | Teknik analisis |
|-----------------------------|------------------------------|---------------|------------|-------------------|
| | | Fitokikimia : | | |
| | | Alkaloid | Wagner | Negatif |
| | | | Mayer | Negatif |
| | | | Dragendrof | Negatif |
| Biji melinjo varietas ketan | Ekstrak | Steroid | Positif | Visualisasi warna |
| | | Flavonoid | Positif | |
| | | Tanin | Positif | |
| | | Saponin | Positif | |
| | | Triterpenoid | Negatif | |
| | | Quinon | Negatif | |

Berdasarkan data skrining fitokimia biji melinjo varietas ketan di tabel 2 menunjukkan bahwa biji melinjo mengandung senyawa metabolit sekunder steroid, flavonoid, tanin dan saponin. Senyawa metabolit inilah yang diperkirakan mempunyai aktivitas antioksidan. Ini sesuai dengan (Anonim^b) yang menyatakan bahwa senyawa dalam biji melinjo adalah saponin, flavonoid, dan polifenol (antioksidan kuat), dan vitamin A, vitamin B dan vitamin C. Senyawa kimia yang bermanfaat dari tumbuhan adalah hasil dari metabolit sekunder yang berupa alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, dan

fenolik. Senyawa ini diantaranya berfungsi sebagai pelindung terhadap serangan atau gangguan yang ada disekitar, dan sebagai antibiotik dan juga sebagai antioksidan (Atmoko dan Ma'ruf, 2009).

B. Total Fenol

Hasil analisis kandungan total fenol menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) Hasil tersebut disajikan dalam tabel 3 berikut.

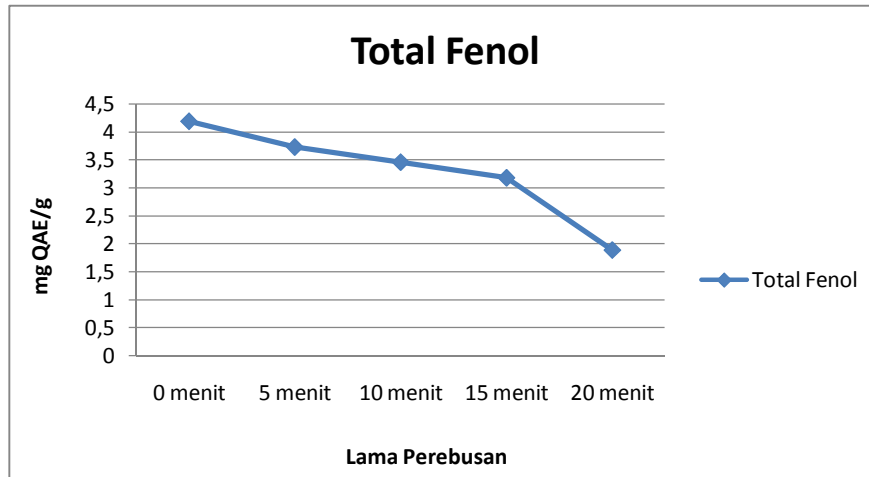
Tabel 3. Kandungan Total Fenol Biji melinjo

| No | Lama perebusan | Total fenol (mg GAE/gram) |
|----|----------------|------------------------------|
| 1 | A1 (0 menit) | 4,1941 ^e |
| 2 | A2 (5 menit) | 3,7306 ^d |
| 3 | A3 (10 menit) | 3,4657 ^c |
| 4 | A4 (15 menit) | 3,1851 ^b |
| 5 | A5 (20 menit) | 1,8964 ^a |

Keterangan : Angka yang diikuti superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Tabel 3 menunjukkan hasil rata-rata kandungan total fenol pada biji melinjo yang direbus, dapat dilihat bahwa dalam biji melinjo memiliki jumlah total fenol sebesar 1,89 - 4,19 mg GAE/gram sampel. Dapat dilihat bahwa total fenol melinjo tanpa perebusan memiliki total fenol paling tinggi yaitu 4,1941 mg GAE/gram dibandingkan biji melinjo yang dilakukan perebusan, sedangkan biji melinjo yang direbus selama 5 menit memiliki total fenol paling tinggi yaitu 3,7306 mg GAE/gram dan biji melinjo yang direbus selama 20 menit memiliki total fenol paling rendah yaitu 1,8964 mg GAE/gram sampel. Menurut Winarno (1991), bahwa tingginya suhu pemasakan akan mempercepat terjadinya perubahan warna, tekstur dan cita rasa sayuran yang di hasilkan, sayuran yang di masak akan mengalami

perubahan warna menjadi kecoklatan akibat reaksi nonenzimatis Maillard antara gula dengan protein. Grafik total fenol biji melinjo yang telah diberi perlakuan lama perebusan dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik rerata kandungan total fenol Biji Melinjo varietas ketan

Grafik rerata kandungan total fenol tersebut menunjukkan bahwa perebusan biji melinjo kandungan total fenol yang ada didalamnya mengalami penurunan signifikan. Biji melinjo tanpa perebusan dengan perebusan melinjo selama 5 menit mengalami penurunan total fenol beda nyata, dibandingkan total fenol pada perebusan 5, 10, 15, 20 menit. Hal ini menunjukkan bahwa perebusan dapat merusak kandungan total fenol dalam biji melinjo. Penurunan total fenol setelah perebusan diduga disebabkan karena larutnya fenol didalam air perebusan, sehingga kehilangan fenol pada perebusan (Aysiah, 2014). Hal ini juga didukung oleh Lund (1977) menyatakan bahwa selama perebusan sayuran berhubungan langsung dengan panas yang dihasilkan oleh air mendidih, sehingga dinding sel dan membran plasma cepat mengalami

kerusakan. Air perebusan masuk kedalam dinding sel dan vakuola yang kemudian melarutkan senyawa fenol ke dalam cairan pengolahan. Efek negatif proses panas pada kandungan total fenol tidak selalu terjadi pada semua bahan pangan. Beberapa bahan pangan mengalami peningkatan kandungan total fenol setelah mengalami proses panas. Beberapa kultivar umbi manis mengalami peningkatan total fenol dan aktivitas antioksidan setelah diolah dengan metode rumah tangga salah satunya perebusan (Bellail *et al.* 2012). Peningkatan kandungan total fenol terlihat pada tomat, *kharua* brinjal, knol khol, dan wortel yang mengalami proses pemanasan dengan cara pengukusan, perebusan, dan *microwave* (Saika dan Mahanta 2013). Perebusan yang paling baik dilakukan adalah perebusan selama 5 menit. Dibandingkan dengan lama perebusan yang lain, perebusan selama 5 menit adalah perebusan yang mengalami penurunan total fenol paling rendah adalah $\Delta = 0,4635$ dari kandungan total fenol melinjo tanpa perebusan. Sedangkan untuk total fenol yang menggunakan waktu 20 menit adalah $\Delta = 2,2977$. Menurut Yulia (2007) pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel, sehingga diduga bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi.

C. Total Flavonoid

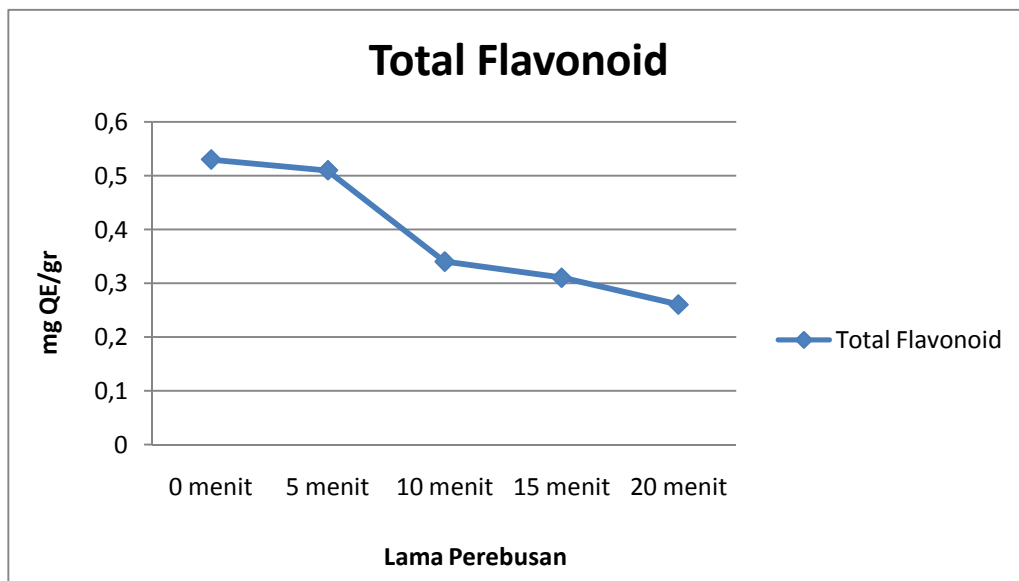
Hasil analisis total flavonoid menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) hasil tersebut disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Kandungan total flavonoid Biji Melinjo

| No | Lama perebusan | Kandungan total flavonoid (mg QE/gram) |
|----|----------------|---|
| 1 | A1 (0 menit) | 0,5382 ^e |
| 2 | A2 (5 menit) | 0,5142 ^d |
| 3 | A3 (10 menit) | 0,3431 ^c |
| 4 | A4 (15 menit) | 0,3144 ^b |
| 5 | A5 (20 menit) | 0,2653 ^a |

Keterangan : Angka yang diikuti superskrip berbeda beda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Kandungan total flavonoid pada biji melinjo dengan varietas ketan tanpa perebusan sampai perebusan 20 menit yaitu berkisar 0,5382 mg QE/gram sampai 0,268 mg QE/gram. dikarenakan menggunakan suhu stabil dan tidak adanya media pelarut seperti air, faktor pertama yang menyebabkan larutnya flavonoid adalah jumlah air yang digunakan untuk memasak dibandingkan dengan faktor lainnya seperti waktu, suhu memasak. Berbagai penelitian menunjukkan flavonoid yang dikenal sebagai antioksidan ini ternyata sangat efektif untuk mencegah kerusakan sel, penyakit jantung pengatur tubuh, pengatur fotosintesis, anti mikroba, anti virus, dapat juga merupakan komponen abnormal yang dibentuk sebagai tanggapan terhadap infeksi atau luka, selain itu bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida sehingga melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (kanker), dan sebagai komponen aktif tumbuhan yang berfungsi untuk mengatasi gangguan fungsi hati (Kuncari,2011)



Gambar 5. Grafik rerata total flavonoid biji melinjo

Grafik diatas menunjukkan kadar total flavonoid biji melinjo. Hal ini berbeda nyata ($p < 0,05$) karena perebusan pada suhu 100° C dengan lama waktu yang berbeda belum mampu untuk mendegradasi flavonoid. Menurut (Aoyama, 2007) mengatakan penurunan total flavonoid dapat diakibatkan oleh senyawa quersetin dan kaempfenol yang bersifat tidak stabil terhadap panas, sedangkan dalam penelitian ini total flavonoid semua perlakuan adalah berbeda nyata.

Dapat disimpulkan dari hal tersebut bahwa semakin lama biji melinjo direbus, memiliki pengaruh terhadap kandungan total flavonoid yang ada di dalamnya. Pokomy,*et al*, (2001) mengatakan flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal. Flavonoid memiliki efek antioksidan dan mampu meredam radikal bebas. Aktivitas Antioksidan senyawa flavonoid dilakukan dengan kemampuan flavonoid dalam mendonasikan atom hidrogen (Patil dan Jadhav, 2013). Hal ini juga didukung

oleh penelitian tentang total flavonoid pada daun pepaya dengan varietas Hongkong Addai *et al.* (2013) yang menyatakan tentang pengaruh perebusan terhadap daun pepaya akan mengalami penurunan kandungan senyawa flavonoidnya. Senyawa flavonoid yang merupakan golongan dari polifenol tidak stabil terhadap perubahan pengaruh oksidasi, dan perubahan kimia, sehingga apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun atau bahkan hilang (Handayani dan Sulistyio 2008). Berbagai penelitian menunjukkan flavonoid yang dikenal sebagai antioksidan ini ternyata sangat efektif untuk mencegah kerusakan sel, penyakit jantung, pengatur tubuh, pengatur fotosintesis, anti mikroba, anti virus, dapat juga merupakan komponen abnormal yang dibentuk sebagai tanggapan terhadap infeksi atau luka, selain itu bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida sehingga melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (kanker), dan sebagai komponen aktif tumbuhan yang berfungsi untuk mengatasi gangguan fungsi hati (Kuncari, 2011).

D. Aktivitas Antioksidan

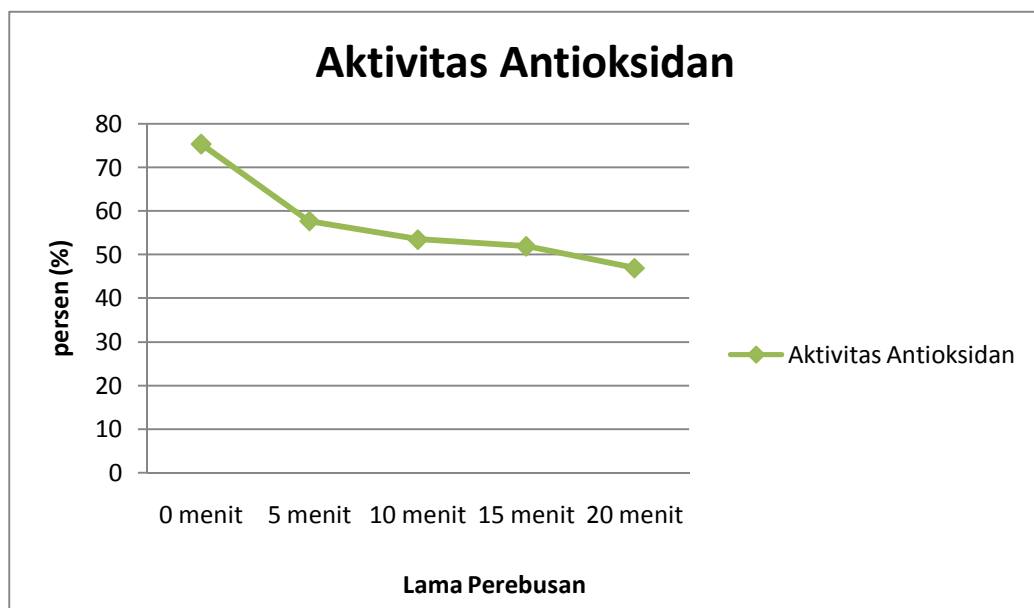
Hasil analisis Aktivitas Antioksidan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hasil tersebut disajikan dalam tabel 5 berikut.

Tabel 5. Kandungan Antioksidan biji melinjo

| No | Lama perebusan | Aktivitas Antioksidan (%) |
|----|----------------|---------------------------|
| 1 | A1 (0 menit) | 75,3846 ^c |
| 2 | A2 (5 menit) | 57,6932 ^d |
| 3 | A3 (10 menit) | 53,4615 ^c |
| 4 | A4 (15 menit) | 51,9230 ^b |
| 5 | A5 (20 menit) | 46,9230 ^a |

Keterangan: Angka yang diikuti superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 05$).

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa kandungan antioksidan dalam biji melinjo yang telah diberi perlakuan perebusan yaitu sebesar 75% - 46% kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada biji melinjo tanpa perebusan yaitu 75,3846 %, sedangkan untuk biji melinjo dengan kandungan antioksidannya yang paling rendah adalah biji melinjo yang direbus selama 20 menit yaitu sebesar 46,923 %. Menurut Winarno (1991), bahwa tingginya suhu pemasakan akan mempercepat terjadinya perubahan warna, tekstur dan cita rasa sayuran yang di hasilkan, sayuran yang di masak akan mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan akibat reaksi nonenzimatis Maillard antara gula dengan protein.



Gambar 6. Grafik Rerata Aktivitas Antioksidan Biji Melinjo varietas ketan

Grafik diatas menunjukkan bahwa semakin lama perebusan biji melinjo maka kandungan antioksidan yang ada didalamnya akan semakin turun yaitu

75% (0 menit), 57% (T=5 menit, t=100°C), 53% (T=10 menit, t=100°C), 51% (T=15 menit, t=100°C), dan 46% (T=20 menit, t=100°C). Antioksidan yang tertinggi dengan perlakuan perebusan dengan waktu 0 menit, dikarenakan tidak adanya media yang melarutkan secara langsung. Penurunan aktivitas antioksidan ini sesuai hasil penelitian pada perebusan bawang putih dengan suhu 100 °C selama 10-60 menit (Gorinstein *et al.* 2008). Hal ini sesuai dengan penelitian Saika dan Mahanta, (2013) aktivitas antioksidan pada sayuran kubis dengan perebusan selama 5 menit dengan suhu didih 100° C mengalami penurunan aktivitas antioksidan. Dengan demikian perebusan biji melinjo dalam waktu yang lama tidak disarankan untuk pengolahan biji melinjo karena akan mengurangi kandungan antioksidan yang ada dalam biji melinjo tersebut. Alkond *et al.*, (2007) mengatakan bahwa kadar total fenol dan flavonoid ekstrak semakin tinggi, maka kemampuan menangkap radikal bebas juga semakin tinggi. Artinya semakin rendah total fenol dan flavonoid pada biji melinjo yang dilakukan perebusan menggunakan waktu yang berbeda. Metode perebusan dapat mempengaruhi tekstur, nilai nutrisi dan kapasitas antioksidan dari sayur-sayuran dan memungkinkan berpengaruh negatif terhadap parameter mutu dari sayur-sayuran, tetapi dalam beberapa percobaan, aktivitas antioksidan menjadi meningkat setelah perlakuan panas (Pilar *et al.*, 2011).

E. Korelasi total fenol, dan flavonoid, terhadap aktivitas antioksidan biji melinjo

1. Korelasi total fenol dengan aktivitas antioksidan

Berdasarkan hasil uji korelasi pada pearson correlation antara total fenol dengan aktivitas antioksidan ataupun sebaliknya menghasilkan korelasi sebesar (r) sebesar (0,811). Pada baris sig (2 tailed) menunjukkan angka 0,000 yang menunjukkan signifikan korelasi antara total fenol dan aktivitas antioksidan ataupun sebaliknya.

Koefisien determinasi perlu dihitung untuk menafsirkan pearson correlation (r) dengan cara mengkuadratkan nilai r tersebut kemudian dikalikan 100% koefisien determinan dari korelasi tersebut adalah 65%.

Dari penjelasan tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa korelasi (r) antara total fenol dan aktivitas antioksidan tidak kuat dan memiliki hubungan yang tidak positif yaitu 0,811, akan tetapi korelasinya tersebut signifikan karena nilai signifikannya kurang dari $<0,05$. Penafsiran koefisien determinasinya adalah sebesar 65% varian total fenol dapat dijelaskan oleh antioksidan tidak sejenis.

2. Korelasi total flavonoid dengan aktivitas antioksidan

Pada baris pearson correlation antara total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ataupun sebaliknya menghasilkan korelasi sebesar (r = 0,974) . pada baris sig. 2 tailed menunjukkan angka 0,000 yang menunjukkan signifikan korelasi antara total flavonoid, dan aktivitas antioksidan maupun sebaliknya.

Koefisien determinan perlu dihitung untuk menafsirkan pearson correlation (r) dengan cara mengkuadratkan nilai r tersebut kemudian dikalikan 100% koefisien determinasi dari korelasi tersebut adalahh 94%. Dari penjelasan diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa korelasi r antara total flavonoid dan aktivitas antioksidan sangat kuat 0,974 mendekati 1 dan korelasinya signifikan karena nilai signifikannya kurang dari <0,05. Penafsiran koefisien determinasi adalah sebesar 94% varian total flavonoid dapat dijelaskan oleh aktivitas antioksidan sejenis. Korelasi antara total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5. Korelasi Total fenol, Total flavonoid terhadap Aktivitas antioksidan

| Aktivitas Antioksidan | Total fenol | Total flavonoid |
|-----------------------|-------------|-----------------|
| Korelasi | 0,811* | 0,974* |
| Presentase % | 65% | 94% |

*. Correlation is significant at the 0,05 level (2-tailed).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa biji melinjo varietas ketan mengandung metabolit sekunder steroid, flavonoid, dan saponin yang artinya pada biji melinjo terdapat senyawa kimia sebagai antioksidan yang sangat bermanfaat bagi manusia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji melinjo tanpa perebusan akan menghasilkan total fenol, flavonoid dan aktivitas antioksidan Semakin tinggi. kandungan total fenol 3,7389 mg GAE/g sampel, kandungan Total flavonoid 0,4204 mg QE/g sampel, dan Aktivitas Antioksidan 57,6932 %. Sedangkan perebusan selama 20 menit menghasilkan total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan semakin rendah. Kandungan Total Fenol 1.8964 mg GAE/gr sampel, kandungan total flavonoid 0.2653 mg QE/gr, dan Aktivitas Antioksidan 46.9230%.

B. Saran

Biji melinjo memiliki nilai nutrisi, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang nutrisi dan juga mengenai rasa pahit yang terdapat dalam biji melinjo akibat perebusan.

DAFTAR PUSTAKA

- Addai ZR, Abdullah A, Muthalib SA. 2013. Effect of Extraction Solven on the Phenolic conten and Antioxidant Properties of two Pepaya cultivars. *J Med Plant Research*. 7(47):3353-3359.
- Alkond, R., K. Guclu, B.Demirata, M. Ozyurek, S. E. Celik, Bektasoglu, K. L. Berker and D. Ozyurt. 2011. *Comparative Evaluation of Various Total Antioksidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with the CUUPRAC Assay*. *Mollecules*, 12:1496-1547.
- Anonim^a,___Klasifikasi biji melinjo, <http://www.materipertanian.com/klasifikasi-dan-morfologi-melinjo>. (diakses tanggal 22 Desember 2016).
- Anonim^b,___Kandungan Senyawa Biji Melinjo, <http://www.tipscaramanfaat.com/manfaat-melinjo-bagi-kesehatan-866.html> (diakses tanggal 22 Desember 2016)
- Anonim^c,___Skринing Fitokimia. (online) <http://ilmu-kefarmasian.blogspot.co.id/2013/02/skrining-fitokimia.html> (Diakses pada tanggal 22 Desember 2016).
- Aoyama, S dan Y Yamamoto. 2007.'''Antioksidant Activity and Flavonoid Content of Wels onion (*Allium fistulosum*) and the Effect of Thermal Treatment.''' *Journal of food Science and Technology Research* 13 (1):67-72.
- Apak, R., K. Guclu, B.Demirata,, M. Ozyurek, S. E. Celik, B. Bektasoglu, K. I. Beker and D. Ozyurt. 2007. *Compzrztive Evaluation Of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay*. *Molecules*, 12: 1496-1547.
- Atmoko, T. Dan A, Ma'ruf. 2009, Uji Toksistas dan Skринing Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orang utan Terhadap Larva *Artemia Salina L*. *Jurnal Penelitian dan konservasi alam*. 6(1):37-45.
- Aysiah, Y., Rasdiansyah, Muahaimin. 2014. Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Beberapa Jenis Sayuran. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darusalam. Banda Aceh.
- Barua, C. dan Haloi P. 2015. *Gnetum gnemon* Linn. : A Comprehensive Review on its Biological, Pharmacological and Pharmacognostical Potentials. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 7(3) : 531-539

- Bellail AA, Shaltout OE, Youssef MM, El Gamal AMA. 2012. Effect of Home Cooking Methods of Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars grown in Egypt. *Food & Nut. Sci.* 3:490-499.
- Bhat, S, V.,B, A. Nagasampagi and S, Meenakshi, 2009. Natural Product : *Chemistry and Application*, Narosa Publishing House, New Delhi India.
- Bhat dan Nabilah. 2014. Evaluating Belinjau (*Gnetum gnemon* L.) Seed Flour Quality as a Base for Development of Novel Food Products and Food Formulations. *Food Chemistry* 156: 42-49.
- Chang, C.C, M. H. Yang, H. M. Wen and J. C. Chem, 2002. *Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods*. *Journal of food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
- Chew, KK, Ng SY, Thoo YY, Khoo MZ, Wan Aida WM, dan Ho CW. 2011. *Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Centella asiatica Extracts*. *International Food Research Journal* 18: 571-578.
- Chumyam A, Wangchai K, Jungklang J, Faiyue B, Saengnil K. 2013. Effects of Heat Treatment on Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Four Cultivars of Purple Skin Eggplant. *Sci. Asia.* 39:246-251.
- Fransworth, N. R., 1996. *Biological and Phytochemical Screening of Plant*. *J. Pharm. Sei.* Vol.55.
- Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiensik J, Najman K, Drzewiecki J, Cvikrova M, Martincova O, Katrich E, Trakhtenberg S. 2008. Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activity in garlic and white and red onions after treatment protocols. *J. Agric. Food Chem.* vol 56:4418-4426.
- Handayani R, Sulisty J. 2008. Sintesis senyawa Flavonoid- -glikosida secara reaksi transglikosilasi Enzimatik dan Aktivasnya sebagai Antioksidan. *J Biodiversitas.* 9(1):1-4.
- Harborne, J. B. 1987. Metode fitokimia : *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Insitut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih padmawanita dan Iwang soedira). Penerbit ITB Bandung.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia edisi kedua*. ITB. Bandung.
- Haryoto, 1998, *Membuat Emping Mlinjo*, Kanisius, Yogyakarta.

- Hasan, S. M., A. A. Al Aqil and M. Attimarad. 2013. *Determination of Crude Saponin and Total Flavonoids Content in Guar Meal*. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 1 (2) : 24-28.
- Hatta Sunanto. 2001. *Budidaya Melinjo dan Usaha Produksi Emping*. Edisi ke-3. Kanisius. Yogyakarta.
- Heo, S. J., S. H. Cha., K. W. Lee., S. K. Cho. And YJ. Jeon. 2005. *Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta From Jeju Island*. *Algae*, 20 (3) : 251-260.
- Juniarti, D. Osmel dan Yuhernita. 2009. *Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan dari ekstrak daun saga (Abrus Precatorius l)*. *Makara saains*, 13 (1) : 50-54.
- Kato E, Tokunaga Y, dan Sakarn F, 2009, *Stilbenoids isolated from the seeds of Melinjo (Gnetum gnemon L.) and their biological activity*, *J Food Chem*, 57(6), 2544-2549.
- [Kemenkes RI] *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*. 2011. *Suplemen II : Farmakope Herbal Indonesia*.
- Kuncari, E.S., 2011. *Perbandingan Kandungan Kimia Jengiri dan Riang-riang Dari suku Theacea Yang Tumbuh di Kalimantan Timur*. *Bidang Botani LIPI Hayati*, 55-58.
- Lund, D.B. 1977. *Effect of Heating Proccesing on Nutrients*, The AVI publ. Co. Ine, Wessport, connecticut.
- Molyneuk, P. 2004. *The Use of Stable Free Radikal diphenyl plecryl-hydrazyl (DPPH) for itimating Antioksidant Activity*, *Songklanakarinn J. Science Technology*, 26 (2) :211-219.
- Mulyati, N.D.1994. *mempelajari Pengaruh Metode Pemasakan Terhadap Stabilitas Karoten Pada Sayuran hijau*. *Skripsi Jurusan Gizi Masyarakat dan Sumber Daya Keluarga, Institut Pertanian Bogor, Bogor*.
- Nugroho, A. E., A. Malik and S. Pramono, 2013. *Total Phenol and Flavonoid Content, and in vitro Anthypertension Activity of Purivied Exstrak of Indonesion Chasew of leaves (Anacardium Occidentale L.)*. *international Food Research Journal*, 20 (1): 299-219.
- Padda MS, Picha DH. 2008. *Phenolic composition and antioxidant capacity of different heat-processed forms of sweetpotato cv. 'Beauregard'*. *IJFST*.43:1404-1409.
- Patil, A, B. Dan Jadhav, A.F. 2013. *International Jurnal of Pharmaccutial and Biological Sciences Research Development*. *International Standart Serial Number*, 1(2):7-20.

- Pilar dan Sitanggang. 2011. *Antimicrobial Activity of Melinjo Seed and Peel Extract (Gnetum gnemon) Against Selected Pathogenic Bacteria*. Microbiology Indonesia. Vol 5: 103-112.
- Pokomy, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., 2001. *Antioxidant In Food*, CRC press. Boca Raton Boston, New York.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity Medallion Laboratories : Analithycal Progress*. A Publication of Medallion labs: 1-4.
- Prasetyo S. 2015. The pre-chromatography of crude oleoresin *Phaleria Macrocarpa* fruits extracts by using 70%-v/v ethanol. Di dalam : Prasetyo S, Arfianto W, Hudaya T, editor. *Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*[Internet].[2015 Maret 18]. Yogyakarta (ID): FTI UPN "Veteran" Yogyakarta. Hlm 1-8; [diunduh 2016 Desember 28].
- Saika S, Mahanta CL. 2013. Effect of Steaming, Boiling, and Microwave Cooking on The Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Properties of Differen Vegetables of Acid, India. *IJFANS* 2(3):47-53.
- Santoso, J., S. Anwariyah, R.O. Rumiatin, A.P. Putri,N. Ukhty and Yoshie- stark . 2012. *Phenol content Antioxidant Activity and Fiber Profile of four Tropical seograsses from Indonesia*. Jurnal of Coastal Development, 15 (2): 189-196
- Sharma, G. N., S. K. Dubey, N. Santi and J. Sanadaya. 2011. *Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Contant in Aegle marmelos Seeds*. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 3 (2) : 27-29
- Sirait, M. 2007. *Penurunan Fitokimia dalam Farmasi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Subekti, 1998. Pengaruh Cara Pemasakan Terhadap Kandungan Antioksidan Beberapa macam sayuran serta daya serap dan Resistensinya pada tikus percobaan Tesis. Program pasca sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sunanto H. 2001. *Budidaya melinjo dan usaha produksi emping*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Tamat, S, R, T., Wikanta dan L,S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumpun laut Hijau *Ulva Reticulata Forsskal*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5(1): 31-36.

- Tani H, Hikami S, Iizuna S, Yoshimatsu M, Asama T, Ota H, Kimura Y, Tatefuji T, Hashimoto K, dan Higaki K. 2014. *Pharmacokinetics and Safety of Resveratrol Derivatives in Humans after Oral Administration of Melinjo (Gnetum gnemon L.) Seed Extract Powder*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 62: 1999-2007
- Turkmen, N., Sari, F. And Velioglu, Y.S. (2005). *The effect cooking of methods on total phenolicss and antioxidant activity of selected green vegetables*. Fd Chem. 93:713-718.
- Tjitrosoepomo, Gembong, 2004. Toksonomi Tumbuhan (*Spermatophyta*), Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Vadlapudi, V., D. S. V. G. K. Kaladhar, M. J. Paul, S. V. N. S. Kumar and M. Behara. 2012. Antioxidant Activities of Marine Algae : A Review. International Jurnal of Resent Scientific Research, 3 (7) : 574-580.
- Vijayabakar, P. and V. Shiyamala.2011. *Antibakterial Aktivities of Brown marine Algae (sargaessum wightii and turbinaria ornata) from the Gulf of mannar Blogsphere Reserve*. Advances in biological Research, 5 (2) :99-102.
- Widowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *JKM* 7(2):1-11.
- Williams, M,C. 1979. Food Fundamentals, Jhon Wiley and sons, New York, Toronto.
- Winarno, F.G. 1991. Drai Gizi Taoge sampai Noda Bitot. Puspangtepa Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisus, Yogyakarta.
- Xu B, Chang SKC, 2008. Effect of soaking, boiling, steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chem*,110:1-13.
- Yangthong, M., N, Hutadilok-Towadana, and W. Promkunthong, 2009. *Antioxidant antivities of four edible seaweeds from the Southerm Coast of thailand plant food Human Nutrion*, 64:218-223.
- Yulia, O. 2007. Pengujian kapasitas Antioksidan Ekstrak polar, nonpolar, fraksi protein, dan non protein Kacang Komak (*Lablab purpureus* (L) swet). Departemen Ilmu Dan Teknologi pangan. Institut Pertanian bogor.
- Zou Y., Y. Lu dan D. Wei. 2004. *Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extract of Hypericum perforatum L. In Vitro*. J. Agric. Food Chemistry 52:5032-5039.

Lampiran 1. Perhitungan Total Fenol

| PERLAKUAN | FENOL |
|-----------|--------|
| 1 | 4,1941 |
| 1 | 4,1844 |
| 1 | 4,1892 |
| 2 | 3,7306 |
| 2 | 3,7389 |
| 2 | 3,7352 |
| 3 | 3,4657 |
| 3 | 3,4753 |
| 3 | 3,4657 |
| 4 | 3,1851 |
| 4 | 3,1755 |
| 4 | 3,1851 |
| 5 | 1,8964 |
| 5 | 1,8867 |
| 5 | 1,8915 |

Descriptives

Total phenol

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| T_1 | 3 | 4,189233 | ,0048501 | ,0028002 | 4,177185 | 4,201282 | 4,1844 | 4,1941 |
| T_2 | 3 | 3,734900 | ,0041581 | ,0024007 | 3,724571 | 3,745229 | 3,7306 | 3,7389 |
| T_3 | 3 | 3,468900 | ,0055426 | ,0032000 | 3,455132 | 3,482668 | 3,4657 | 3,4753 |
| T_4 | 3 | 3,181900 | ,0055426 | ,0032000 | 3,168132 | 3,195668 | 3,1755 | 3,1851 |
| T_5 | 3 | 1,891533 | ,0048501 | ,0028002 | 1,879485 | 1,903582 | 1,8867 | 1,8964 |
| Total | 15 | 3,293293 | ,8025832 | ,2072261 | 2,848838 | 3,737749 | 1,8867 | 4,1941 |

Test of Homogeneity of Variances

phenol

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,231 | 4 | 10 | ,915 |

ANOVA

phenol

| | Sum of Squares | Df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-----------|------|
| Between Groups | 9,018 | 4 | 2,254 | 89620,226 | ,000 |
| Within Groups | ,000 | 10 | ,000 | | |
| Total | 9,018 | 14 | | | |

Phenol

Duncan^a

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|-----------|---|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| T_5 | 3 | 1,891533 | | | | |
| T_4 | 3 | | 3,181900 | | | |
| T_3 | 3 | | | 3,468900 | | |
| T_2 | 3 | | | | 3,734900 | |
| T_1 | 3 | | | | | 4,189233 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 2. Perhitungan Total Flavonoid

| PERLAKUAN | FLAVONOID |
|-----------|-----------|
| 1 | 0,53 |
| 1 | 0,5273 |
| 1 | 0,5382 |
| 2 | 0,4152 |
| 2 | 0,4204 |
| 2 | 0,4178 |
| 3 | 0,3431 |
| 3 | 0,3485 |
| 3 | 0,3512 |
| 4 | 0,3144 |
| 4 | 0,309 |
| 4 | 0,3226 |
| 5 | 0,268 |
| 5 | 0,2653 |
| 5 | 0,2598 |

Descriptives

Total flavonoid

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | T_1 | 3 | | |
| T_2 | 3 | ,417800 | ,0026000 | ,0015011 | ,411341 | ,424259 | ,4152 | ,4204 |
| T_3 | 3 | ,347600 | ,0041243 | ,0023812 | ,337355 | ,357845 | ,3431 | ,3512 |
| T_4 | 3 | ,315333 | ,0068479 | ,0039536 | ,298322 | ,332344 | ,3090 | ,3226 |
| T_5 | 3 | ,264367 | ,0041789 | ,0024127 | ,253986 | ,274748 | ,2598 | ,2680 |
| Total | 15 | ,375387 | ,0960565 | ,0248017 | ,322192 | ,428581 | ,2598 | ,5382 |

Test of Homogeneity of Variances

flavonoid

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,838 | 4 | 10 | ,531 |

ANOVA

flavonoid

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|----------|------|
| Between Groups | ,129 | 4 | ,032 | 1339,169 | ,000 |
| Within Groups | ,000 | 10 | ,000 | | |
| Total | ,129 | 14 | | | |

Flavonoid

Duncan^a

| perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|-----------|---|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| T_5 | 3 | ,264367 | | | | |
| T_4 | 3 | | ,315333 | | | |
| T_3 | 3 | | | ,347600 | | |
| T_2 | 3 | | | | ,417800 | |
| T_1 | 3 | | | | | ,531833 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 3. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

| PERLAKUAN | ANTIOKSIDAN |
|-----------|-------------|
| 1 | 75,1923 |
| 1 | 75,3846 |
| 1 | 75,1923 |
| 2 | 57,6932 |
| 2 | 57,1153 |
| 2 | 57,1153 |
| 3 | 53,0769 |
| 3 | 53,4615 |
| 3 | 53,4615 |
| 4 | 51,7307 |
| 4 | 51,923 |
| 4 | 51,5384 |
| 5 | 46,923 |
| 5 | 46,5384 |
| 5 | 46,7432 |

Descriptives

antioksidan

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-----|---|---------------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| T_1 | 3 | 75,2564 00 | ,1110245 | ,0641000 | 74,980600 | 75,532200 | 75,1923 | 75,3846 |
| T_2 | 3 | 57,3079 33 | ,3336507 | ,1926333 | 56,479099 | 58,136768 | 57,1153 | 57,6932 |
| T_3 | 3 | 53,3333 00 | ,2220489 | ,1282000 | 52,781700 | 53,884900 | 53,0769 | 53,4615 |
| T_4 | 3 | 51,7307 00 | ,1923000 | ,1110245 | 51,253000 | 52,208400 | 51,5384 | 51,9230 |
| T_5 | 3 | 46,7348 67 | ,1924354 | ,1111026 | 46,256831 | 47,212903 | 46,5384 | 46,9230 |

Test of Homogeneity of Variances

antioksidan

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,467 | 4 | 10 | ,283 |

ANOVA

antioksidan

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|----------|------|
| Between Groups | 1439,679 | 4 | 359,920 | 7286,840 | ,000 |
| Within Groups | ,494 | 10 | ,049 | | |
| Total | 1440,173 | 14 | | | |

Antioksidan

Duncan^a

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|-----------|---|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| T_5 | 3 | 46,734867 | | | | |
| T_4 | 3 | | 51,730700 | | | |
| T_3 | 3 | | | 53,333300 | | |
| T_2 | 3 | | | | 57,307933 | |
| T_1 | 3 | | | | | 75,256400 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



Lampiran 4. Korelasi antara Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan

Correlations




| | | phenol | antioksidan | flavonoid |
|-------------|---------------------|--------|-------------|-----------|
| Phenol | Pearson Correlation | 1 | ,811** | ,879** |
| | Sig. (2-tailed) | | ,000 | ,000 |
| | N | 15 | 15 | 15 |
| Antioksidan | Pearson Correlation | ,811** | 1 | ,974** |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | | ,000 |
| | N | 15 | 15 | 15 |
| Flavonoid | Pearson Correlation | ,879** | ,974** | 1 |
| | Sig. (2-tailed) | ,000 | ,000 | |
| | N | 15 | 15 | 15 |




** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Lampiran 5. Gambar prosedur penelitian

| NO | Proses Pembuatan | Gambar |
|-----------|-------------------------|--|
| 1 | Pengupasan kulit luar |  |
| 2 | Perebusan |  |

Lampiran 6. Proses Pengujian Biji Melinjo

| NO | Proses Pengujian | Gambar |
|----|----------------------------------|--|
| 1 | Penimbangan |  |
| 2 | Penyaringan ekstrak biji melinjo |  |
| 3 | Bahan kimia |  |

| | | |
|---|-----------------------|--|
| 4 | Larutan DPPH |  |
| 5 | Pengujian Total Fenol |  |
| 6 | Pengujian Flavonoid |  |

| | | |
|---|------------------------------------|---|
| 7 | Pengujian Aktivitas Antioksidan |  |
| 8 | Pengukuran spektrofotometer |  |