

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1. Latar Belakang

Indonesia menghadapi tantangan kesehatan lingkungan yang signifikan akibat kombinasi paparan sinar ultraviolet dan polusi udara. Sebagai negara yang terletak di garis khatulistiwa, Indonesia memiliki paparan sinar matahari sepanjang tahun yang memicu peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuh (Fadilah Mumtazah et al. 2020); (Marbun et al. 2023). Kondisi ini diperparah oleh tingginya tingkat polusi udara, dengan data IQAir (2024) menunjukkan kualitas udara Indonesia berada pada level "Tidak Sehat bagi Kelompok Sensitif" dengan indeks kualitas udara (AQI) sebesar 105. Kombinasi faktor lingkungan ini menjadikan masyarakat Indonesia sangat rentan terhadap stres oksidatif yang dapat memicu berbagai penyakit degeneratif.

Radikal bebas menyerang komponen sel vital seperti DNA, protein, dan lipid, menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi molekul melalui proses stres oksidatif (Eiz 2022). Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang terjadi ketika jumlah radikal bebas berlebih (Sies 2020). Stres oksidatif yang berkepanjangan memicu respons inflamasi kronis yang menjadi penyebab berkembangnya berbagai penyakit. Untuk melawan kerusakan akibat stres oksidatif, tubuh memerlukan antioksidan sebagai substansi pelindung yang menghambat proses oksidasi dan akumulasi radikal bebas (Safriani et al. 2021).

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Fungsi utama antioksidan adalah mencegah stres oksidatif yang dapat memicu berbagai penyakit kronis (Gulcin, 2020). Stres oksidatif yang tidak terkendali dapat menyebabkan inflamasi (peradangan), yaitu respons tubuh terhadap kerusakan sel yang bila berlangsung terus-menerus akan berkontribusi pada perkembangan penyakit degeneratif (Abdulkhaleq et al. 2018). Oleh karena itu, antioksidan berperan krusial dalam melindungi sel dari kerusakan serta mencegah inflamasi dan penyakit terkait stres oksidatif. Masyarakat dapat memperoleh antioksidan dari sumber sintetis maupun alami, dengan tren pemanfaatan bahan alami yang terus meningkat.

Penggunaan obat herbal di Indonesia cukup tinggi, yaitu sebanyak 20,99% penduduk memanfaatkan obat tradisional karena dianggap alami, aman, dan memiliki efek samping yang rendah (BPS, 2014). Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan dua tanaman yang banyak digunakan masyarakat. Meskipun demikian, terdapat permasalahan serius terkait keamanan penggunaannya. Penelitian Hafizh et al. (2021) menunjukkan bahwa sekitar 45% pengguna mengonsumsi obat herbal yang tidak terdaftar di BPOM RI, dan 13,2% di antaranya mengalami efek interaksi negatif ketika mengombinasikan obat herbal dengan obat konvensional. Kondisi ini menunjukkan perlunya validasi ilmiah yang menyeluruh terhadap keamanan dan efektivitas tanaman obat yang telah digunakan secara tradisional, terutama sebagai agen antioksidan dan antiinflamasi.

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah tanaman dengan daya adaptasi tinggi yang dapat tumbuh subur di berbagai kondisi lingkungan ekstrem (Arlianti et al., 2025). Kelimpahan ini belum diimbangi dengan pemanfaatan optimal karena potensi bioaktivitasnya yang masih terbatas. Keterbatasan tersebut ditandai dengan nilai IC_{50} DPPH yang tinggi (9,86 mg/mL) dan kandungan fenolik total yang rendah pada ekstrak etil asetat (Wang et al. 2022). Mengkudu kaya nutrisi dan senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik, asam heksanoat, dan stigmasterol telah dimanfaatkan untuk mengobati penyakit seperti asma, diabetes, dan hipertensi (Jahurul et al. 2021). Berdasarkan penelitian sebelumnya penggunaan tunggal kurang efektif, maka pengembangan strategi kombinasi dengan tanaman lain diperlukan untuk meningkatkan efektivitas dan nilai manfaat dari Mengkudu.

Mengatasi keterbatasan mengkudu dengan kombinasi dengan tanaman lain. Kunyit (*Curcuma longa* L.), tanaman rempah asli Asia Tenggara yang telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Kunyit mengandung senyawa kurkuminoid sebagai komponen bioaktif utamanya, dengan kandungan kurkumin yang dapat mencapai 76,82% dalam ekstrak kurkuminoid mentah, meskipun kandungannya dalam rimpang segar umumnya sekitar 5%. Variasi kadar kurkumin antara 3,72% hingga 6,9% dapat terjadi tergantung pada metode ekstraksi yang digunakan, serta dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan dan pengolahan tanaman (El-Saadony et al. 2025).

Kurkumin telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), dan glutathione peroxidase (GPx) (Uzunhisarcikli and Aslanturk 2019). Selain itu, kurkumin menunjukkan efek antiinflamasi melalui penghambatan jalur NF- κ B dan penurunan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 (Boudou et al. 2024; Iweala et al. 2023). Penelitian menunjukkan ekstrak etanol kunyit memiliki total kapasitas antioksidan sebesar $36,55 \pm 0,01$ μ g GAE/g berat kering dengan IC_{50} DPPH $0,77 \pm 0,04$ mg/mL dan aktivitas antiinflamasi dengan penghambatan denaturasi protein hingga $90,51 \pm 0,29\%$ pada konsentrasi 5.000 μ g/mL (Boudou et al. 2024).

Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak menggunakan dua metode yaitu: metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) (in vitro) dan pengukuran kadar MDA (Malondialdehyde) (in vivo). Metode ABTS dipilih karena dapat mengukur kemampuan ekstrak dalam menangkap radikal bebas, radikal ABTS^{••} yang berwarna biru-hijau akan memudar ketika bereaksi dengan antioksidan, dan semakin pudar warnanya menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Cano et al. 2023). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 734 nm, dan penelitian (Dongmo Nguepi et al. 2024) membuktikan efektivitas metode ini dengan menunjukkan aktivitas antioksidan kunyit pada nilai IC_{50} $6,42 \pm 2,23$ mg/mL. Pengukuran kadar Malondialdehida (MDA) dilakukan untuk memastikan bahwa aktivitas antioksidan yang terbukti in vitro juga efektif in vivo (dalam tubuh makhluk hidup). MDA sendiri merupakan penanda stres oksidatif, senyawa berbahaya yang terbentuk dari peroksidasi lipid akibat serangan radikal bebas (Ayala et al. 2014).

Kedua metode ini mengukur proses yang sama namun di tahap yang berbeda, dimana pada uji ABTS, antioksidan seperti senyawa fenolik bekerja dengan cara memberikan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas ABTS^{••} melalui

mekanisme SET (transfer elektron tunggal) atau HAT (transfer atom hidrogen), sehingga radikal tersebut menjadi stabil dan tidak reaktif lagi (Apak et al. 2016). Mekanisme yang sama terjadi dalam tubuh ketika mengalami stres oksidatif, dimana radikal bebas seperti radikal peroksil ($\text{ROO}\cdot$) menyerang lemak dalam membran sel dan memicu reaksi berantai peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA sebagai produk akhir, sehingga antioksidan yang efektif akan menangkap radikal peroksil dengan cara yang sama seperti menangkap radikal $\text{ABTS}\cdot+$ —yaitu dengan memberikan elektron atau atom hidrogen untuk menghentikan reaksi berantai sebelum terbentuk MDA (Tumilaar et al. 2023). Aktivitas antioksidan ekstrak yang terukur pada uji ABTS mengindikasikan kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas melalui mekanisme transfer elektron atau atom hidrogen. Aktivitas ini relevan secara biologis karena ekstrak juga dapat menangkap radikal peroksil ($\text{ROO}\cdot$) dalam sistem seluler, sehingga menghambat peroksidasi lipid dan menurunkan kadar MDA *in vivo*. Hasil uji *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak memiliki potensi antioksidan yang kuat dan mencegah kerusakan oksidatif pada tingkat seluler.

Potensi antioksidan yang mampu mencegah kerusakan oksidatif pada tingkat seluler memiliki keterkaitan langsung dengan efek antiinflamasi, karena stres oksidatif menjadi pemicu utama respons inflamasi. Peradangan adalah reaksi pelindung tubuh terhadap kerusakan jaringan atau infeksi mikroorganisme yang ditandai dengan lima tanda utama: *kalor* (panas), *rubor* (kemerahan), *tumor* (pembengkakan), *dolor* (nyeri), dan *functio laesa* (penurunan fungsi) (Chen et al. 2018). Proses peradangan dipicu oleh pelepasan mediator kimia seperti prostaglandin dan bradikinin yang menyebabkan pelebaran pembuluh darah dan peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah (Biswas 2016). Stres oksidatif tidak hanya memicu respons peradangan, tetapi juga dapat menyebabkan denaturasi protein yang menghasilkan autoantigen pemicu peradangan lebih lanjut (Birben et al. 2012). Oleh karena itu, terdapat hubungan sebab-akibat antara aktivitas antioksidan dan efek antiinflamasi. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan kuat cenderung menunjukkan efek antiinflamasi, karena kemampuannya dalam mencegah kerusakan oksidatif dan denaturasi protein.

Aktivitas antiinflamasi kombinasi ekstrak dianalisis menggunakan metode inhibisi denaturasi protein secara *in vitro* dan metode *Carrageenan Induced Paw Edema* secara *in vivo*. Kombinasi kedua metode memberikan gambaran yang lengkap. Metode pertama menguraikan proses antiinflamasi di tingkat molekuler (*in vitro*), dan metode kedua mengkonfirmasi dampaknya di organisme hidup (*in vivo*). Metode inhibisi denaturasi protein (*in vitro*) menunjukkan kemampuan ekstrak untuk mencegah denaturasi *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang diinduksi oleh panas (Devi et al. 2023; Hamoudi et al. 2021).

Metode *Carrageenan Induced Paw Edema* (*in vivo*) mengukur kemampuan senyawa uji dalam menghambat edema akut pada kaki hewan uji yang diinduksi karagenan (Silva da Rosa et al. 2022). Injeksi karagenan menyebabkan respons inflamasi bifasik yang ditandai dengan peningkatan kadar $\text{TNF-}\alpha$ (tumor necrosis factor-alpha), $\text{IL-1}\beta$ (interleukin-1 beta), NO (*nitric oxide*), dan PGE_2 (prostaglandin E2), serta ekspresi protein iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dan COX-2 (*cyclooxygenase-2*) pada jaringan kaki yang mengalami inflamasi. Fase pertama (0-1 jam) ditandai oleh pelepasan histamin dan serotonin, sedangkan fase kedua (2-4 jam) melibatkan pelepasan prostaglandin dan enzim lisosom yang sensitif terhadap obat antiinflamasi klinis.

Penelitian (Ullah et al. 2014) menunjukkan bahwa ekstrak *C. zedoaria* menghambat edema karagenan hingga 94,67% pada dosis 500 mg/kg BW pada jam ke-3, menunjukkan efektivitas dalam fase inflamasi yang dimediasi prostaglandin.

Jus *Morinda citrifolia* tahitian dalam penelitian Su et al. (2001) yang dikutip oleh (Abou Assi et al. 2017) diberikan kepada hewan sebelum atau setelah induksi. Efektivitas senyawa diukur berdasarkan kemampuannya dalam menghambat peningkatan volume kaki tikus yang diinduksi karagenan. Keterkaitan antara metode denaturasi protein *in vitro* dan edema kaki *in vivo* terletak pada validasi data. Hasil penghambatan denaturasi protein yang baik *in vitro* harus dikonfirmasi dengan kemampuannya dalam mencegah atau mengurangi pembengkakan (*edema*) pada sistem biologis yang lebih kompleks (*in vivo*). Data yang diperoleh dari kedua metode ini saling melengkapi; data *in vitro* menunjukkan mekanisme kerja pada tingkat seluler, sedangkan data *in vivo* membuktikan efikasi senyawa dalam mengatasi gejala inflamasi secara keseluruhan pada organisme hidup.

Para peneliti telah melakukan studi komprehensif tentang kunyit dan mengkudu secara terpisah untuk mengetahui sifat antioksidan dan antiinflamasi. Namun, penelitian yang membahas kombinasi kedua tanaman ini belum pernah. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mendeskripsikan, dan mengevaluasi bioaktivitas kombinasi ekstrak kunyit dan mengkudu, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan wawasan ilmiah tentang efikasi terapi kombinasi kunyit dan mengkudu sebagai pengobatan alami. Penelitian ini diharapkan dapat memajukan perkembangan terapi herbal di Indonesia.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang di bahas pada hasil penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh variasi kombinasi sampel dan jenis pelarut (n-heksan, etil asetat, dan metanol) terhadap rendemen, kandungan fitokimia, dan aktivitas antioksidan?
2. Bagaimana karakteristik struktural senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit berdasarkan analisis spektroskopi (FT-IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR) dan sifat fisika (titik leleh)?
3. Bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan (ABTS) dan antiinflamasi (denaturasi protein) secara *in vitro* antara ekstrak kombinasi mengkudu kunyit dengan ekstrak tunggalnya?
4. Bagaimana perbandingan efektivitas ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit dengan ekstrak tunggalnya dalam menghambat edema dan menekan stres oksidatif (kadar MDA) secara *in vivo*?

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian pada hasil penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh variasi jenis pelarut (n-heksan, etil asetat, dan metanol) terhadap rendemen, kandungan fitokimia, dan aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasi mengkudu-kunyit.
2. Mengidentifikasi karakteristik struktural senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit berdasarkan analisis spektroskopi (FT-IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR) dan sifat fisika (titik leleh).

3. Membandingkan aktivitas antioksidan (ABTS) dan antiinflamasi (denaturasi protein) secara in vitro antara ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit dengan ekstrak tunggalnya.
4. Mengevaluasi efektivitas ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit dengan ekstrak tunggalnya dalam menghambat edema dan menekan stres oksidatif (kadar MDA) secara in vivo.

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Memberikan kontribusi ilmiah tentang potensi kombinasi mengkudu dan kunyit sebagai antioksidan dan antiinflamasi serta memperkaya data karakteristik senyawa bioaktif dari kombinasi tanaman obat tradisional Indonesia.
2. Menyediakan informasi tentang pelarut optimal untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari kombinasi mengkudu-kunyit yang dapat digunakan sebagai acuan dalam standarisasi ekstraksi tanaman obat.
3. Memberikan data dasar untuk pengembangan produk fitofarmaka terstandar dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi sebagai alternatif bahan baku obat alami untuk penanganan kondisi inflamasi dan stres oksidatif.
4. Meningkatkan pemanfaatan tanaman obat lokal Indonesia secara ilmiah dan terstandar serta mendorong pengembangan industri obat herbal berbasis riset yang dapat memberikan landasan ilmiah untuk penggunaan kombinasi mengkudu-kunyit dalam pengobatan tradisional.

1.5. Hipotesis Penelitian

1. Variasi jenis pelarut (n-heksan, etil asetat, dan metanol) berpengaruh signifikan terhadap rendemen, kandungan fitokimia, dan aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasi mengkudu-kunyit.
2. Senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit memiliki karakteristik struktural spesifik yang dapat diidentifikasi melalui analisis spektroskopi (FT-IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR) dan sifat fisika (titik leleh).
3. Ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit memiliki aktivitas antioksidan (ABTS) dan antiinflamasi (denaturasi protein) secara in vitro yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.
4. Ekstrak kombinasi mengkudu-kunyit lebih efektif dalam menghambat edema dan menekan stres oksidatif (kadar MDA) secara in vivo dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.

1.6. Landasan Teori

1. Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.)

Mengkudu atau pace (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang dalam beberapa tahun terakhir banyak peminatnya. Mengkudu merupakan tanaman tropis dan liar yang dapat tumbuh di tepi pantai hingga ketinggian 1500 m dpl (di atas permukaan laut), baik di lahan subur maupun marginal. Penyebarannya cukup luas, meliputi seluruh kepulauan Pasifik Selatan, Malaysia, Indonesia, Taiwan, Filipina, Vietnam, India, Afrika, dan Hindia Barat (Ali et al. 2016). Secara morfologi, mengkudu tergolong sebagai tumbuhan tingkat tinggi (Kormophyta) yang berbentuk pohon dengan

tinggi 3 hingga 10 meter, memiliki daun lebar berbentuk elips (5-17 cm x 10-40 cm), serta bunga majemuk berwarna putih yang berbentuk tabung kecil (Chan et al. 2006).

Buah mengkudu kaya akan senyawa fitokimia, meliputi flavonoid, iridoid, dan asam fenolat (Abou Assi et al. 2017). Metabolit sekunder utama dalam buah mengkudu berupa senyawa fenolik, asam organik, dan alkaloid. Golongan senyawa fenolik tersebut mencakup antrakuinon (seperti damnacanthal, morindone, dan morindin), aucubin, asperuloside, dan scopoletin (Heinicke, 1985). Asam kaproat dan asam kaprilat merupakan asam organik utama yang terkandung dalam tanaman ini (Dittmar, 1993), sedangkan xeronine merupakan alkaloid utama yang telah diidentifikasi (Heinicke, 1985).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Arniyanti et al. (2023) menunjukkan bahwa buah mengkudu dapat digunakan sebagai antidiabetes dan antihipertensi. Xeronin, salah satu antioksidan yang terkandung dalam buah mengkudu, berfungsi sebagai antidiabetes dan antihipertensi dengan cara bekerja sama dengan insulin untuk menurunkan kadar gula darah tubuh secara signifikan. Kandungan senyawa bioaktif yang beragam menjadikan mengkudu sebagai tanaman yang memiliki potensi besar dalam pengembangan produk kesehatan berbasis bahan alami.

2. Kunyit (*Curcuma Longa* L)

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan anggota keluarga Zingiberaceae yang merupakan tanaman herba abadi tumbuh hingga 2 m tanpa batang dan rimpang, tetapi dengan tunas berdaun tegak yang memiliki hingga dua belas helai daun. Daunnya tumbuh setinggi satu m dan berbentuk lonjong atau lanset, berwarna hijau tua di bagian atas dan hijau pucat di bagian bawah, dengan sarung dan tangkai daun memiliki panjang yang mirip dengan bilahnya. *Curcuma longa* mempunyai bunga yang steril, berwarna kuning pucat dan kemerahan, sedangkan daun bunganya berwarna hijau dengan warna keunguan (Fuloria et al. 2022). Tanaman ini terutama dibudidayakan untuk diambil rimpangnya yang tumbuh di bawah tanah, yang ditandai dengan kulit beruas-ruas yang kasar dengan panjang mencapai 2,5–7,0 cm dan diameter 2,5 cm (Prasad and Bharat, 2011). Kunyit ditanam di daerah tropis dan subtropis pada suhu sekitar 20 dan 30 °C dengan curah hujan yang cukup (Ayati et al. 2019).

Kunyit memiliki kandungan senyawa bioaktif yang sangat beragam dengan lebih dari 300 komponen aktif biologis seperti polifenol, seskuiterpen, diterpen, triterpenoid, sterol, dan alkaloid. Penelitian yang dilakukan oleh Cahya and Prabowo (2019) menunjukkan bahwa kumarin, antosianin, dan gula pereduksi juga terdeteksi dalam ekstrak etanol dari rimpang kunyit. Kunyit kaya akan kurkuminoid, terutama kurkumin, yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Jiang et al. 2023). Empat kurkuminoid utama adalah kurkumin (77%), desmethoxycurcumin (17%), bis-desmethoxycurcumin (3%), dan cyclocurcumin sebagai konstituen kecil (Bhat et al. 2019). Ekstrak etanol memiliki sifat antioksidan yang lebih besar karena aktivitas penangkapan radikal bebas yang sangat baik yang dikaitkan dengan tingkat tinggi polifenol dan flavonoid (Cahya and Prabowo, 2019).

Penelitian menunjukkan bahwa *C. longa* dan senyawa bioaktifnya memiliki banyak aktivitas farmakologis seperti antioksidan (Uzunhisarcikli and Aslanturk, 2019), hepatoprotektif (Lee et al. 2017), anti osteoarthritis (Nicoliche et al. 2020), antiinflamasi

(Kinney et al. 2015), antidiabetes (Essa et al. 2019), dan antidiare (Kinney et al. 2015). Kandungan kurkumin yang tinggi menjadikan kunyit sebagai salah satu tanaman dengan potensi antioksidan yang sangat baik, sehingga banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional maupun sebagai bahan baku produk kesehatan modern.

3. Kombinasi Tanaman Obat

Kombinasi tanaman obat merupakan praktik yang tersebar luas dalam pengobatan tradisional di berbagai budaya dan wilayah. Umumnya dipercaya bahwa penggunaan beberapa tanaman secara bersamaan dapat meningkatkan efek farmakologis, sehingga menghasilkan manfaat terapeutik yang lebih baik dibandingkan pemberian tanaman tunggal. Sebagai contoh, sekitar 70% produk herbal dalam studi di Meksiko merupakan kombinasi dari setidaknya 3–4 spesies tanaman yang berbeda (Alonso-Castro et al. 2019). Demikian pula di Jamaika, 42% pengguna tanaman obat melaporkan menggunakan campuran dua atau lebih tanaman, dengan tonik akar terkadang mengandung rata-rata 13 tanaman (Picking et al. 2015). Di India, komunitas Nicobarese dan Kani juga menekankan pentingnya campuran tanaman dengan keyakinan bahwa satu tanaman mungkin tidak cukup untuk penyembuhan sempurna, sedangkan kombinasi meningkatkan kualitas dan kemanjuran obat (Chander et al. 2014).

Alasan utama mengombinasikan tanaman adalah untuk mencapai efek terapeutik yang sinergis atau aditif, pengurangan dosis dan toksisitas, serta untuk meminimalkan atau menunda resistensi obat (Carmona and Pereira 2022). Campuran tanaman sering diresepkan karena pasien mengalami kondisi dengan gejala yang beragam, sehingga tanaman dikombinasikan untuk memastikan semua gejala teratasi, dan terkadang campuran yang berbeda digunakan untuk aplikasi oral dan topikal secara bersamaan (Che et al. 2024). Campuran tanaman sering diresepkan karena pasien mengalami kondisi dengan berbagai gejala, sehingga tanaman dikombinasikan untuk memastikan semua gejala tertangani, dan terkadang campuran yang berbeda digunakan untuk aplikasi oral dan topikal secara bersamaan (Che et al. 2024). Kombinasi tanaman obat sering digunakan untuk mengatasi masalah gastrointestinal dan pernapasan (Van Vuuren, Motilhatlego, and Netshia 2022), penyakit kulit (Alamgeer et al. 2018), malaria ((Afolayan et al. 2016), serta kondisi kronis seperti diabetes, masalah jantung, dan nyeri rematik (Bibak et al. 2024).

Indonesia, jamu biasanya terdiri dari bahan tanaman obat tunggal atau campuran, kadang-kadang termasuk mineral atau bagian hewan (Pradipta et al. 2023). Lebih dari 1300 spesies tanaman obat dikenal sebagai jamu di Indonesia. Persiapan jamu dapat melibatkan berbagai metode, seperti dekoksi (perebusan), penghancuran, atau pemerasan bahan herbal dalam air (Elfahmi et al. 2014). Meskipun kombinasi tanaman dapat menghasilkan efek sinergis yang meningkatkan efektivitas, beberapa kombinasi dapat menghasilkan antagonisme yang mengurangi manfaat terapeutik (Shaik et al. 2023). Oleh karena itu, evaluasi keamanan kombinasi sangat penting karena beberapa tanaman obat dapat menyebabkan reaksi toksik, mutagenik, atau alergi (Malada, Mogashoa, and Masoko 2022).

4. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Metode ekstraksi memiliki peran penting dalam memaksimalkan potensi senyawa bioaktif dari bahan alam seperti mengkudu dan kunyit. Pada penelitian Nitteranon et al.

(2011), Metode ekstraksi buah mengkudu dipreparasi menjadi puree yang dikeringbekukan (freeze-dried) kemudian dihaluskan. Ekstraksi bertingkat (sequential extraction) dilakukan dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda secara berurutan: etil asetat (EtOAc), etanol (EtOH), dan akuades, untuk memaksimalkan hasil senyawa bioaktif. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kasar EtOAc dengan rendemen sekitar 2% (b/b).

Pengujian aktivitas biologis menunjukkan bahwa ekstrak EtOAc memiliki potensi bioaktivitas lebih dari sepuluh kali lipat dibandingkan ekstrak EtOH maupun ekstrak air. Ekstrak EtOAc menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui inhibisi produksi nitrit oksida (NO) serta kemampuan induksi enzim quinone reductase (QR) yang signifikan. Wan Osman et al, (2019) melaporkan bahwa ekstrak daun *Morinda citrifolia* yang diperoleh melalui pengeringan, penggilingan, dan ekstraksi menggunakan etanol-air (50:50, v/v) mengandung senyawa bioaktif utama berupa epicatechin dan scopoletin. Ekstrak tersebut terbukti efektif dalam mereduksi inflamasi, meningkatkan ekspresi biomarker regenerasi tulang, serta memberikan efek kondroprotektif dengan memperbaiki struktur kartilago artikular.

Penelitian Akter et al. (2019), melakukan ekstraksi kunyit menggunakan metanol yang menghasilkan ekstrak dengan kapasitas antioksidan bervariasi. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, khususnya setelah pemurnian lanjutan melalui kromatografi kolom silika gel. Proses pemurnian ini krusial untuk memperoleh ekstrak dengan kemurnian tinggi yang memenuhi standar aplikasi medis dan farmasi. Studi sebelumnya mengindikasikan bahwa kombinasi dua atau lebih ekstrak dapat menghasilkan efek sinergis, di mana aktivitas bioaktif campuran ekstrak melebihi penjumlahan aktivitas masing-masing ekstrak tunggal (Vaou et al., 2022). Peningkatan bioaktivitas dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain: (1) peningkatan bioavailabilitas, yaitu kemampuan senyawa tertentu untuk meningkatkan laju dan derajat absorpsi senyawa lain ke dalam sirkulasi sistemik; dan (2) efek multi-target, yaitu kemampuan kombinasi senyawa untuk berinteraksi simultan dengan berbagai jalur atau target biologis yang berbeda.

5. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang dalam konsentrasi rendah dapat memperlambat atau menghambat oksidasi substrat. Senyawa antioksidan memiliki beberapa mekanisme kerja antara lain penambahan elektron (oksidasi), reduksi, dan chelating (Gulcin, 2020). Antioksidan memiliki fungsi utama yaitu untuk mencegah terjadinya oksidasi, sehingga dapat memperlambat masa pembusukan dalam industri makanan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel, sehingga memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif (Tumilaar et al. 2023).

Antioksidan tersebar luas di alam, dengan sumber terkaya berupa makanan nabati seperti buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, sereal, polong-polongan, rempah-rempah, dan minuman seperti teh dan kopi. Organisme laut, produk hewani, jamur, dan bahkan produk sampingan industri makanan juga berkontribusi pada keanekaragaman sumber antioksidan. Potensi antioksidan dari sumber-sumber ini terutama disebabkan oleh kandungan vitamin, polifenol, flavonoid, karotenoid, dan

fitokimia lainnya, dengan senyawa fenolik memainkan peran yang sangat signifikan (Ahmadi et al. 2023; Amarowicz & Pegg, 2019). Antioksidan alami memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif dengan cara menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Sumber alami antioksidan sangat beragam, termasuk buah-buahan, sayuran, rempah-rempah, dan biji-bijian. Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dan Kunyit (*Curcuma longa* L) telah dikenal dalam pengobatan tradisional dan kini menjadi subjek penelitian ilmiah karena kandungan antioksidan mereka.

a. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro dengan Metode ABTS

Metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) merupakan metode spektrofotometri yang banyak digunakan untuk mengukur kapasitas penangkapan radikal bebas dari antioksidan baik pada sampel hidrofilik maupun lipofilik (Öztürk et al. 2026). Prinsip metode ini didasarkan pada reaksi molekul ABTS dengan oksidan seperti kalium persulfat untuk membentuk kation radikal stabil (ABTS^{•+}) yang memiliki warna biru-hijau dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 734 nm (Sánchez-García et al. 2025).

Keberadaan antioksidan dalam sistem ABTS menyebabkan reduksi radikal ABTS^{•+} yang mengakibatkan penurunan absorbansi secara proporsional dengan kapasitas antioksidan sampel. Mekanisme kerja antioksidan dalam metode ABTS melibatkan transfer elektron tunggal (SET) atau transfer atom hidrogen (HAT), di mana senyawa fenolik memberikan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas ABTS^{•+} sehingga radikal tersebut menjadi stabil dan tidak reaktif lagi (Apak et al., 2016). Penurunan intensitas warna biru-hijau yang terukur sebagai penurunan absorbansi mengindikasikan aktivitas antioksidan yang kuat, semakin pudar warnanya menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Cano et al. 2023).

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Secara In Vivo dengan Metode TBARS

Metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) digunakan secara umum untuk mengukur penghambatan oksidasi lipid oleh antioksidan, secara khusus dengan mengkuantifikasi produk sekunder dari peroksidasi lipid seperti malondialdehid (MDA) (Capuano, 2024). Malondialdehid merupakan penanda stres oksidatif, yaitu senyawa berbahaya yang terbentuk dari peroksidasi lipid akibat serangan radikal bebas (Ayala et al. 2014). Pengukuran kadar MDA berperan sebagai penanda spesifik untuk mengukur jumlah peroksidasi lipid, yang merupakan dampak langsung dari stres oksidatif di dalam tubuh (Mulianto, 2020).

Prinsip metode TBARS didasarkan pada mekanisme di mana radikal bebas seperti radikal peroksil (ROO[•]) menyerang lemak dalam membran sel dan memicu reaksi berantai peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA sebagai produk akhir. Antioksidan yang efektif akan menangkap radikal peroksil dengan cara memberikan elektron atau atom hidrogen untuk menghentikan reaksi berantai sebelum terbentuk MDA (Tumilaar et al. 2023). Kerusakan oksidatif dapat merusak membran sel yang kaya akan asam lemak tak jenuh, sehingga kadar MDA yang terukur menjadi indikator stabilitas membran sel tersebut. Kadar MDA yang rendah membuktikan efektivitas ekstrak dalam melindungi membran sel dari radikal bebas (Cordiano et al. 2023). Metode ini sangat relevan dalam sistem makanan seperti susu, di mana digunakan untuk menilai tingkat peroksidasi lipid dan efektivitas antioksidan dalam mencegah kerusakan oksidatif (Hasan et al. 2025).

6. Antiinflamasi

Inflamasi adalah respons biologis kompleks dari jaringan tubuh terhadap rangsangan berbahaya, seperti patogen, sel yang rusak, atau iritan. Ini adalah mekanisme perlindungan yang bertujuan untuk menghilangkan penyebab cedera sel, membersihkan sel-sel yang rusak, dan memulai perbaikan jaringan, sehingga memulihkan homeostasis jaringan dan fungsi normal (Zhao et al. 2021). Proses ini juga dapat memicu imunitas adaptif sebagai respons spesifik terhadap antigen tertentu.

Sistem kekebalan tubuh yang mengatur proses inflamasi terdiri dari dua komponen utama, yaitu imunitas bawaan (*innate*) dan imunitas adaptif (*adaptive*) (Chen et al. 2018). Sistem pertahanan tubuh ini melindungi diri dari benda asing seperti mikroorganisme, toksin, atau sel abnormal yang dapat menyebabkan penyakit atau gangguan. Inflamasi, oksidasi, dan imunitas merupakan tiga proses yang saling terkait dalam sistem kekebalan tubuh tersebut. Mekanisme inflamasi melibatkan berbagai zat kimia yang dilepaskan oleh sel yang rusak atau terinfeksi, atau protein plasma yang bereaksi terhadap rangsangan. Zat kimia yang dilepaskan tersebut disebut mediator inflamasi yang memicu reaksi vaskular dan seluler yang khas pada inflamasi. Mediator inflamasi ini akan memicu vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler, dan perekrutan leukosit yang akan bersirkulasi ke tempat agen penyebab inflamasi. Mediator inflamasi kemudian juga mengaktifkan leukosit untuk menghancurkan dan menghilangkan agen penyebab inflamasi (Abdulkhaleq et al. 2018).

Reaksi vaskular yang terjadi meliputi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskular yang menyebabkan edema. Reaksi seluler meliputi perekrutan dan aktivasi leukosit yang bertugas mengeliminasi mikroba dan jaringan mati (Meka et al. 2018). Kedua reaksi ini bekerja secara sinergis untuk mengatasi agen penyebab inflamasi. Mediator inflamasi berasal dari dua sumber utama, yaitu sel jaringan dan protein plasma. Sel jaringan seperti makrofag, sel dendritik, dan sel mast menghasilkan mediator seperti histamin, 5-hidroksitriptamin (5HT), sitokin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin (Kim et al. 2025). Protein plasma seperti sistem komplemen, sistem kinin, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolitik juga menghasilkan mediator yang berpengaruh pada proses inflamasi. Proses perbaikan jaringan dimulai setelah fase akut inflamasi selesai.

Proses ini melibatkan sitokin dan faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi dan diferensiasi fibroblas, sel-sel endotel, dan sel-sel epitel. Fibroblas bertanggung jawab untuk menghasilkan protein matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, dan fibronectin yang membentuk jaringan ikat baru (Ramalho et al. 2025). Sel-sel endotel dan epitel membentuk lapisan baru yang menutupi luka dan mengembalikan integritas jaringan.

Aktivitas antiinflamasi dari senyawa alami dapat diukur dengan berbagai metode dan parameter, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Metode *in vitro* menggunakan sel, jaringan, atau organ yang dikultur dalam kondisi laboratorium untuk meniru proses inflamasi yang terjadi dalam tubuh. Metode *in vivo* menggunakan hewan coba seperti tikus, mencit, atau kelinci untuk menunjukkan efek farmakologis dan toksikologis dari senyawa alami.

Uji denaturasi protein albumin serum sapi (BSA) merupakan salah satu metode *in vitro* yang digunakan untuk skrining awal aktivitas antiinflamasi. Uji ini menilai kemampuan senyawa untuk menghambat denaturasi protein yang merupakan penanda

aktivitas antiinflamasi. Senyawa yang secara signifikan menghambat denaturasi BSA dianggap sebagai agen antiinflamasi potensial dan sering dipilih untuk pengujian *in vivo* lebih lanjut (Maryam et al. 2019)

Model edema kaki yang diinduksi karagenan merupakan metode *in vivo* yang banyak digunakan untuk mengevaluasi efikasi antiinflamasi agen baru. Metode ini dicirikan dengan respons inflamasi bifasik, yaitu fase awal yang dimediasi oleh histamin, serotonin, dan bradikinin, serta fase lanjut yang dimediasi oleh prostaglandin, sitokin, dan infiltrasi leukosit (Mehallah et al. 2024). Derajat pembengkakan kaki diukur pada berbagai titik waktu setelah injeksi karagenan untuk mengevaluasi kemampuan senyawa dalam mengurangi volume kaki dibandingkan kontrol. Penelitian yang dilakukan oleh Su et al. (2001) dalam Abou Assi et al. (2017) menunjukkan bahwa jus buah *Morinda citrifolia* Tahitian dapat mengurangi edema yang diinduksi karagenan pada tikus, menunjukkan efek antiinflamasi yang kuat. Efek ini sebanding dengan obat antiinflamasi non-steroid seperti asam asetilsalisilat, indometasin, dan selekoksib, tetapi tanpa efek samping yang signifikan. Hasil ini menunjukkan potensi jus buah *Morinda citrifolia* Tahitian sebagai alternatif alami untuk obat antiinflamasi non-steroid.

Korelasi antara uji *in vitro* dan *in vivo* telah ditunjukkan dalam beberapa penelitian. Senyawa yang menunjukkan penghambatan signifikan terhadap denaturasi BSA secara *in vitro* sering menunjukkan efek antiinflamasi yang nyata secara *in vivo*, sebagaimana dibuktikan oleh kinerjanya dalam model edema kaki yang diinduksi karagenan (Maryam et al. 2019). Hasil penelitian mendukung nilai prediktif uji *in vitro* untuk hasil *in vivo* dalam penemuan obat antiinflamasi. Menggunakan dua metode pengujian menjadi strategi standar dalam evaluasi aktivitas antiinflamasi.

Senyawa pertama kali diskriminasi menggunakan uji denaturasi BSA untuk potensi antiinflamasi, kemudian senyawa yang menunjukkan penghambatan signifikan diuji dalam model edema kaki yang diinduksi karagenan untuk mengkonfirmasi efikasi *in vivo* (Nguyen et al. 2020). Pendekatan bertahap ini memungkinkan identifikasi kandidat obat antiinflamasi yang lebih efisien dan ekonomis. Kedua metode pengujian ini terkait dengan penghambatan mediator inflamasi, di mana uji denaturasi BSA mencerminkan kemampuan senyawa untuk menstabilkan protein terhadap kerusakan inflamasi, sementara model karagenan memberikan bukti pengurangan pelepasan mediator dan infiltrasi leukosit secara *in vivo*.

BAB II

ANALISIS FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KOMBINASI MENGKUDU KUNYIT MENGGUNAKAN METODE MASERASI BERTINGKAT

ABSTRAK

Latar belakang. Kombinasi ekstrak mengkudu dan kunyit berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, namun diperlukan identifikasi kandungan fitokimia dan uji aktivitas untuk memastikan efektivitasnya. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan menganalisis profil fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi mengkudu kunyit (KMK) menggunakan berbagai pelarut serta menentukan ekstrak kombinasi terbaik untuk penelitian lanjutan. **Metode.** Ekstraksi dilakukan dengan maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Uji fitokimia meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode ABTS pada konsentrasi 25 ppm dan 60 ppm. **Hasil.** Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi (96,4% pada 60 ppm) dan mengandung seluruh senyawa bioaktif yang diuji. Rendemen ekstrak sebesar 4,6 gram. Ekstrak kombinasi 1:1 dengan pelarut etil asetat merupakan kombinasi potensial untuk pengembangan lebih lanjut sebagai agen terapeutik.

Kata kunci: mengkudu, kunyit, fitokimia dan antioksidan

2. 1. Pendahuluan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul, sehingga dapat mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, dan penuaan dini (Nespolo 2017). Penelitian mengenai sumber antioksidan alami menjadi sangat penting dalam upaya pencegahan penyakit dan peningkatan kesehatan masyarakat. Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan kunyit (*Curcuma longa*) adalah dua tanaman yang dikenal memiliki kandungan antioksidan tinggi.



Gambar 1. Buah Mengkudu
Sumber: (Chan et al. 2006)

Mengkudu mengandung senyawa seperti flavonoid, iridoid, dan asam fenolat (Abou Assi et al. 2017). Mengkudu atau pace (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu

tanaman obat yang dalam beberapa tahun terakhir banyak peminatnya. Mengkudu merupakan tanaman tropis dan liar, mengkudu dapat tumbuh di tepi pantai hingga ketinggian 1500 m dpl (di atas permukaan laut), baik di lahan subur maupun marginal. Penyebarannya cukup luas, meliputi seluruh kepulauan Pasifik Selatan, Malaysia, Indonesia, Taiwan, Filipina, Vietnam, India, Afrika, dan Hindia Barat (Ali dkk., 2016). Gambar 1 menunjukkan morfologi buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). Klasifikasi dari tanaman mengkudu menurut Conquist (1981) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Subdevisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rubiales
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Morinda</i>
Spesies	: <i>Morinda citrifolia</i> , L

Mengkudu tergolong sebagai tumbuhan tingkat tinggi (Kormophyta) yang berbentuk pohon dengan tinggi 3 hingga 10 meter. Ciri morfologisnya antara lain daun lebar berbentuk elips (5-17 cm x 10-40 cm), serta bunga majemuk berwarna putih yang berbentuk tabung kecil. Buahnya telah teridentifikasi kaya akan senyawa fitokimia, dengan metabolit sekunder utamanya berupa senyawa fenolik, asam organik, dan alkaloid. Golongan senyawa fenolik tersebut mencakup antrakuinon (seperti damnacanthal, morindone, dan morindin), aucubin, asperuloside, dan scopoletin (Heinicke, 1985).

Asam kaproat dan asam kaprilat merupakan asam organik utama yang terkandung dalam tanaman ini (Dittmar 1993). Selain itu, xeronine merupakan alkaloid utama yang telah diidentifikasi (Heinicke 1985). Penelitian telah dilakukan oleh (Arniyanti et al. 2023) menunjukkan bahwa buah mengkudu dapat digunakan sebagai antidiabetes dan antihipertensi. Xeronin, salah satu antioksidan yang terkandung dalam buah mengkudu, berfungsi sebagai antidiabetes dan antihipertensi. Xeronin bekerja sama dengan insulin untuk menurunkan kadar gula darah tubuh secara signifikan.

Curcuma longa mempunyai bunga yang steril, berwarna kuning pucat dan kemerahan, sedangkan daun bunganya berwarna hijau dengan warna keunguan (Fuloria et al. 2022). *Curcuma longa* memiliki rimpang yang tumbuh di bawah tanah. Tanaman ini terutama dibudidayakan untuk diambil rimpangnya, yang ditandai dengan kulit beruas-ruas yang kasar. Rimpangnya dapat tumbuh hingga panjang 2,5–7,0 cm dengan diameter 2,5 cm (Prasad and Bharat, 2011). Gambar 2 menunjukkan tanaman kunyit. Kunyit ditanam di daerah tropis dan subtropis pada suhu sekitar 20 dan 30 °C dengan curah hujan yang cukup (Ayati et al. 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh (Cahya and Prabowo 2019) kumarin, antosianin dan gula pereduksi juga terdeteksi dalam ekstrak etanol dari rimpang kunyit. Selanjutnya, ekstrak etanol memiliki sifat antioksidan yang lebih besar karena aktivitas penangkapan radikal bebas yang sangat baik yang dikaitkan dengan tingkat tinggi polifenol dan flavonoid.



Gambar 2. Tanaman kunyit
Sumber: (Google Image)

Curcuma longa merupakan anggota keluarga Zingiberaceae. Ini adalah tanaman herba abadi yang tumbuh hingga 2 m tanpa batang dan rimpang, tetapi dengan tunas berdaun tegak yang memiliki hingga dua belas helai daun. Daunnya tumbuh setinggi satu m dan berbentuk lonjong atau lanset, berwarna hijau tua di bagian atas dan hijau pucat di bagian bawah. Sarung dan tangkai daun memiliki panjang yang mirip dengan bilahnya. Klasifikasi dari tanaman kunyit sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Tracheophyta
Subdevisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i>
Spesies	: <i>Curcuma longa</i> L.

Empat kurkuminoid utama adalah kurkumin (77%), desmethoxycurcumin (17%), bis-desmethoxycurcumin (3%) dan cyclocurcumin (konstituen kecil)(Bhat et al. 2019). Data penelitian telah menunjukkan bahwa *C. longa* dan senyawa bioaktifnya memiliki banyak aktivitas farmakologis seperti antioksidan (Uzunhisarcikli and Aslanturk 2019), hepatoprotektif (Lee et al. 2017), anti osteoarthritis (Nicoliche et al. 2020), anti inflamasi (Kinney et al. 2015), antidiabetes (Essa et al. 2019), dan antidiare (Kinney et al. 2015). Penggunaan kunyit dalam pengobatan tradisional didukung oleh adanya lebih dari 300 komponen aktif biologis seperti polifenol, seskuiterpen, diterpen, triterpenoid, sterol, dan alkaloid. kunyit kaya akan kurkuminoid, terutama kurkumin, yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Jiang et al. 2023).

Metode ekstraksi memiliki peran penting dalam memaksimalkan potensi senyawa bioaktif dari bahan alam seperti mengkudu dan kunyit. Penelitian Nitteranon dkk., (2011) metode ekstraksi buah mengkudu melibatkan penggunaan *puree* yang dikering, bekukan dan dihaluskan. Ekstraksi dilakukan secara berurutan menggunakan etil asetat, etanol, dan air untuk memperkaya agen bioaktif. Proses ini menghasilkan ekstrak kasar etil asetat dengan *yield* sekitar 2%, yang menunjukkan potensi bioaktivitas lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol atau air.

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi mempengaruhi efisiensi ekstraksi dan aktivitas antioksidan dari senyawa yang dihasilkan. Pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi fitokimia ialah: air, etanol, dan metanol memiliki polaritas yang berbeda (Sarker,

Latif, and Gray 2006). Variasi pelarut ini dapat mempengaruhi jenis dan jumlah senyawa aktif yang diekstraksi, serta efektivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan (Lyvia Lovin 2019). Penelitian yang dilakukan Wan Osman dkk., (2019) menunjukkan bahwa daun *Morinda Citrifolia* diolah melalui pengeringan, penggilingan, dan ekstraksi dengan etanol akuatik 50% untuk memperoleh ekstrak yang mengandung epicatechin dan scopoletin. Penelitian yang dilakukan sebelumnya juga menunjukkan dua atau lebih ekstrak ini digabungkan, efek sinergis dapat dicapai. Aktivitas bioaktif dari campuran ekstrak melebihi total aktivitas dari masing ekstrak jika digunakan secara terpisah (Vaou et al. 2022).

Metode ABTS digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan, karena metode ini sensitif dan dapat memberikan hasil yang akurat dalam mengukur kemampuan ekstrak dalam menghambat radikal bebas (Ilyasov et al. 2020). Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak mengkudu dan kunyit yang diekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan produk antioksidan alami yang efektif dan berpotensi untuk diaplikasikan dalam bidang kesehatan dan industri farmasi.

2. 2. Metode Penelitian

2.2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Agustus 2024 sampai Januari 2025 di Laboratorium Kimia Organik dan Kimia Terpadu Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Pengambilan sampel penelitian mengkudu di Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan (5°05'58" S, 119°32'03" E) dan kunyit di Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan (5°21'46" S, 119°38'09" E). Sampel dihaluskan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Padang (PNUP).

2.2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *grinder*, saringan 80 mesh, timbangan analitik, gelas ukur, labu ukur, corong, kertas saring, erlenmeyer, *rotary evaporator*. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah n-heksana, etil asetat, dan metanol teknis. Pelarut teknis telah dimurnikan sebelum digunakan melalui proses distilasi. Asam Askorbat Merck untuk analisis, garam diammonium ABTS2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) Sigma Aldrich untuk analisis, Kalium Persulfat Merck untuk analisis, bubuk Mg, HCl, Kloroform untuk analisis, Reagen Lieberman Burchard, air suling, Reagen FeCl₃, dan Reagen Dragendorff.

2.2.3. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Simplisia Mengkudu dan Kunyit

Buah mengkudu dan kunyit dibersihkan menggunakan air mengalir. Setelah dibersihkan, mengkudu dan kunyit dipotong dengan ketebalan 2 cm. Buah mengkudu dan kunyit dikeringkan dibawah sinar matahari selama lima hari. Mengkudu dan kunyit kering kemudian dihaluskan dengan grinder. Untuk menghasilkan bubuk, hasil gilingan mengkudu disaring menggunakan saringan 40 mesh, sementara kunyit disaring dengan saringan 80 mesh. Dari proses ini, diperoleh simplisia mengkudu dan kunyit.

2. Ekstraksi Buah Mengkudu dan Kunyit

Simplisia kunyit dan mengkudu ditimbang dengan tiga variasi perbandingan berat, yaitu 1:1, 2:1, dan 1:2 (kunyit:mengkudu). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut, yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol secara berurutan. Pada setiap proses maserasi, perbandingan campuran simplisia dan pelarut ditetapkan pada 1:2 (b/v). Ekstrak cair yang dihasilkan dari setiap pelarut kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental n-heksana, ekstrak kental etil asetat, dan ekstrak kental metanol.

3. Uji Fitokimia (A.J. Harborne 1998)

a. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak ditambahkan ke dalam tabung reaksi bersama dengan etanol, 0,2 gram serbuk Mg, dan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif pada uji ini telah ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah tua.

b. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan memipet 1 mL ekstrak ke dalam tabung reaksi, lalu menambahkan 1 mL HCl 1 M dan 1 mL pereaksi Mayer. Perubahan warna diamati, dan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan coklat.

c. Uji Terpenoid dan Uji Steroid

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak, 1 mL kloroform, dan 1 mL asam asetat anhidrat ke dalam tabung reaksi, kemudian ditetesi dengan 1 mL H_2SO_4 pekat. Hasil positif untuk steroid dari perubahan warna larutan menjadi hijau kebiruan, sedangkan untuk terpenoid ditunjukkan larutan berwarna merah.

d. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak dan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif pada uji ini telah ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi hitam atau biru.

4. Pengujian Aktivitas Antioksidan

a. Uji aktivitas antioksidan secara in vitro metode ABTS (Sami et al. 2015)

1) Pembuatan Larutan ABTS

Ditimbang 7,1015 mg ABTS dan 3,500 mg $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, masing-masing dilarutkan dalam 5 mL aquadest lalu diinkubasi selama 12 jam. Kedua larutan dicampur dalam ruang gelap dan diencerkan dengan etanol p.a hingga 25 mL.

2) Pengujian aktivitas antioksidan sampel ekstrak buah mengkudu dan kunyit

Larutan konsentrasi 25 dan 60 ppm ekstrak setiap variasi kombinasi. Diambil sebanyak 4 mL ditambahkan 4 mL larutan ABTS dihomogenkan. Larutan ekstrak mengkudu dan kunyit dengan perbandingan 1:2, 1:1, dan 2:1. Sampel ekstrak di inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang kemudian di baca absorbansinya pada panjang gelombang 721 nm.

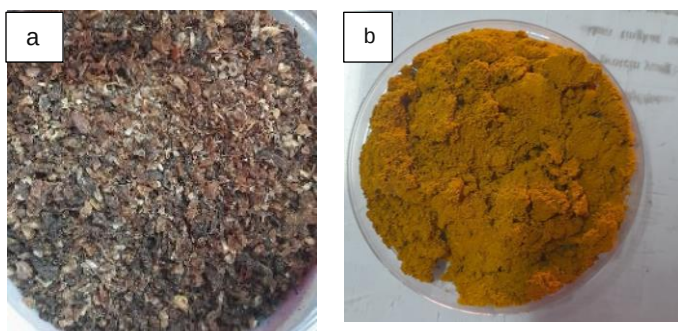
3) Perhitungan aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan besarnya serapan radikal ABTS oleh sampel melalui perhitungan persentase inhibisi dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Nilai serapan ABTS} - \text{Nilai serapan ekstrak}}{\text{Nilai serapan ABTS}} \times 100\% \quad (1)$$

2. 3. Hasil dan Pembahasan

2.3.1. Preparasi simplisia Mengkudu dan Kunyit



Gambar 3. (a) mengkudu (b) kunyit yang telah dihaluskan

Gambar 3 menunjukkan hasil dari preparasi simplisia kunyit dan mengkudu. Proses pengolahan bahan baku menunjukkan perbedaan karakteristik yang jelas antara buah mengkudu dan rimpang kunyit. Buah mengkudu segar sebanyak 5 kg mengalami penyusutan massa menjadi 1,1 kg setelah pengeringan selama lima hari. Penurunan berat yang signifikan ini terutama disebabkan oleh tingginya kandungan air buah mengkudu sebelum dikeringkan, mencapai sekitar 90% (Ni et al., 2025). Simplisia kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan saringan 40 mesh, menghasilkan 900 gram bubuk mengkudu. Kehilangan massa pada tahap ini terutama disebabkan oleh partikel serbuk yang tertahan dalam peralatan proses.

Hasil pengeringan dari 4 kg kunyit segar adalah 600 gram simplisia kering. Perbedaan hasil ini jika dibandingkan dengan buah mengkudu menunjukkan karakteristik jaringan yang berbeda antara buah dan rimpang. Penyebab utama massa simplisia kering kunyit yang lebih sedikit adalah struktur seratnya yang lebih padat dan kandungan air sebelum dikeringkan lebih rendah (Luviana et al., 2023). Setelah penghalusan dan pengayakan dengan saringan 80 mesh yang lebih halus, diperoleh 450 gram bubuk kunyit. Penggunaan saringan dengan ukuran mesh yang lebih kecil pada kunyit menyebabkan lebih banyak bahan yang tertinggal selama proses pengayakan, sehingga menghasilkan bubuk kunyit dengan massa yang lebih rendah dibandingkan dengan bubuk mengkudu.

2.3.2. Ekstraksi Mengkudu dan Kunyit

Ekstraksi simplisia kombinasi mengkudu dan kunyit (KMK) menghasilkan variasi berat ekstrak berdasarkan perbandingan berat bahan dan jenis pelarut. Hasil yang diperoleh (Tabel 1) pada perbandingan 1:1, metanol menghasilkan berat ekstrak tertinggi sebesar 13,68 gram, sementara n-heksan dan etil asetat mencapai 4,74 gram dan 4,67 gram. Ketika perbandingan diubah menjadi 2:1, peningkatan proporsi mengkudu secara

signifikan meningkatkan berat ekstrak, dengan metanol mencapai 24,76 gram. Pada perbandingan 1:2, etil asetat dan metanol tetap lebih tinggi meskipun proporsi kunyit lebih besar, dengan hasil masing-masing 9,44 gram dan 18,07 gram.

Tabel 1. Berat ekstrak dan rendemen hasil ekstraksi bertingkat kombinasi mengkudu dan kunyit

Sampel	Pelarut	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
KMK (1:1)	n-heksan	4,74	4,74
	Etil Asetat	4,67	4,67
	Metanol	13,68	13,68
KMK (2:1)	n-heksan	6,13	4,09
	Etil Asetat	6,68	4,45
	Metanol	24,76	16,51
KMK (1:2)	n-heksana	3,33	2,22
	Etil Asetat	9,44	6,29
	Metanol	18,07	12,05

Metanol memberikan rendemen tertinggi dibandingkan pelarut lain karena sifat polaritasnya yang lebih efektif dalam mengekstrak senyawa polar. Hasil ini diperkuat oleh (Katrolia et al. 2025) yang mendeskripsikan tingginya rendemen hidro-alkohol yang mencapai 23,06% untuk temulawak dan 21,08% untuk mengkudu, membuktikan efektivitas pelarut alkohol-air dalam mengekstrak senyawa bioaktif. Data ini menunjukkan bahwa baik jenis pelarut maupun perbandingan bahan mempengaruhi hasil ekstraksi secara signifikan.

2.3.3. Uji Fitokimia Esktrak Mengkudu dan Kunyit

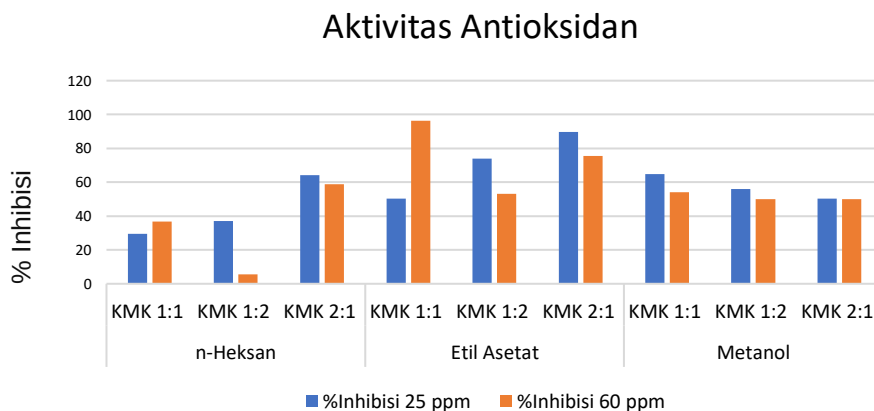
Hasil uji fitokimia pada ekstrak kombinasi mengkudu dan kunyit menggunakan berbagai pelarut dapat dilihat pada Tabel 2. Uji flavonoid menunjukkan hasil positif pada etil asetat dan metanol (semua perbandingan), ditandai perubahan warna menjadi merah tua, sedangkan n-heksan negatif. Alkaloid terdeteksi pada etil asetat dan metanol (rasio 1:1 dan 1:2) dengan endapan coklat, tetapi tidak pada rasio 2:1 (etil asetat) dan n-heksan. Terpenoid positif di etil asetat dan metanol (warna merah), namun negatif di n-heksan. Fenolik positif di etil asetat dan metanol (kombinasi 1:1 dan 2:1), kecuali kombinasi 1:2 (metanol). Hasil menunjukkan pelarut polar lebih efektif mengekstrak senyawa bioaktif.

Pelarut polar (etil asetat dan metanol) terbukti secara fitokimia lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dibandingkan dengan pelarut nonpolar (n-heksana). Hasil ekstraksi yang mengidentifikasi adanya senyawa-senyawa mengindikasikan bahwa jumlah senyawa yang terekstrak sangat dipengaruhi oleh variasi rasio kombinasinya. membuktikan bahwa komposisi bahan merupakan faktor penentu. Sehingga membuka peluang untuk mengeksplorasi lebih lanjut potensi aktivitas biologis dari ekstrak tersebut, termasuk sifat antioksidan, antimikroba, maupun antiinflamasi.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak mengkudu dan kunyit dengan berbagai pelarut

Ekstrak	Pelarut	Flavonoid	Alkaloid	Terpenoid	Fenolik
KMK (1:1)	nheksan	-	-	-	-
	Etil asetat	+	+	+	+
	Metanol	+	+	+	+
KMK (2:1)	nheksan	-	-	-	-
	Etil asetat	+	-	+	+
	Metanol	+	+	+	+
KMK (1:2)	nheksan	-	-	-	-
	Etil asetat	+	+	+	+
	Metanol	+	+	+	-

2.3.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Mengkudu dan Kunyit



Gambar 4. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak mengkudu dan kunyit dengan berbagai pelarut

Data pada Gambar 4 menunjukkan bahwa persentase penghambatan dipengaruhi oleh jenis pelarut dan konsentrasi ekstrak. Ekstrak 1:1 dengan etil asetat mencapai aktivitas tertinggi (50,34% pada 25 ppm dan 96,4% pada 60 ppm), mengindikasikan ekstraksi optimal senyawa antioksidan polar. Metanol juga menunjukkan aktivitas signifikan (50,14–64,75%), sedangkan n-heksan lebih rendah (5,58–64,25%). Perbedaan ini menjelaskan selektivitas pelarut, di mana pelarut polar (etil asetat dan metanol) lebih efektif mengekstrak senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid.

Ekstrak KMK (1:1) dengan pelarut etil asetat dilanjutkan sebagai sampel utama. Penelitian lanjutan berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dan fitokimia. Ekstrak tersebut menunjukkan persentase penghambatan tertinggi (96,4% pada 60 ppm) dalam uji ABTS. Analisis fitokimia mengungkapkan keberadaan senyawa bioaktif seperti alkaloid, fenolik, terpenoid, dan flavonoid dalam ekstrak. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi besar sebagai antioksidan dan antiinflamasi berdasarkan literatur ilmiah.

Berat ekstrak sebesar 4,6 gram mendukung kelayakan sampel untuk tahap penelitian berikutnya.

Penelitian dilanjutkan untuk menguji potensi ekstrak secara komprehensif. Uji ABTS dilanjutkan hingga diperoleh nilai IC₅₀ untuk menentukan konsentrasi efektif penghambatan radikal bebas. Penentuan kadar MDA secara in vivo untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak dalam melindungi sel dari stres oksidatif. Uji antiinflamasi dilakukan melalui dua pendekatan: metode denaturasi protein secara in vitro dan model edema kaki tikus secara in vivo. Peneliti juga mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa aktif untuk mengidentifikasi komponen utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis.

2.4 Kesimpulan

Ekstrak KMK (1:1) dengan pelarut etil asetat dipilih sebagai sampel utama untuk penelitian lanjutan karena memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (96.4% pada 60 ppm dalam uji ABTS) dan kandungan senyawa bioaktif yang lengkap, meliputi alkaloid, fenolik, terpenoid, dan flavonoid. Senyawa ini berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Didukung dengan berat ekstrak sebesar 4,6 gram cukup untuk tahap selanjutnya, ekstrak ini layak dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat bahan aktif farmakologis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou Assi, R., Darwis, Y., Abdulbaqi, I. M., Khan, A. A., Vuanghao, L., & Laghari, M. H. 2017. *Morinda citrifolia* (Noni): A Comprehensive Review on its Industrial Uses, Pharmacological Activities, and Clinical Trials. *Arabian Journal of Chemistry*: **10**(5): 691–707.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.018>
- A.J. Harborne. 1998. *Phytochemical Methods*. Harborne: **3**.
- Ali, M., Kenganora, M., & Manjula, S. N. 2016. Health Benefits of *Morinda Citrifolia* (Noni): A Review. *Pharmacognosy Journal*: **8**(4): 321–334.
<https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.4>
- Arniyanti, M., Syahidah, F., Abdila, A., Sabil, J. A., Saputri, V. Y., Hasanah, L. M., & Su'udi, M. 2023. The Uses Of Noni Fruit (*Morinda Citrifolia* L.) as Antidiabetic and Antihypertensives. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*: **6**(2): 2598–2095.
<https://journal.umbjm.ac.id/index.php/jcps/article/view/1548>
- Ayati, Z., Ramezani, M., Amiri, M. S., Moghadam, A. T., Rahimi, H., Abdollahzade, A., Sahebkar, A., & Emami, S. A. 2019. Ethnobotany, Phytochemistry and Traditional Uses of *Curcuma* spp. and Pharmacological Profile of Two Important Species (*C. longa* and *C. zedoaria*): A Review. *Current Pharmaceutical Design*: **25**(8): 871–935.
<https://doi.org/10.2174/1381612825666190402163940>
- Bhat, A., Mahalakshmi, A. M., Ray, B., Tuladhar, S., Hediya, T. A., Manthiannem, E., Padamati, J., Chandra, R., Chidambaram, S. B., & Sakharkar, M. K. 2019. Benefits of Curcumin in Brain Disorders. *BioFactors*: **45**(5): 666–689.
<https://doi.org/10.1002/biof.1533>
- Cahya, D., & Prabowo, H. 2019. Standarisasi Spesifik dan Non-Spesifik Simplisia dan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal Farmasi Udayana*: **8**(1): 29–35. <https://doi.org/10.24843/jfu.2019.v08.i01.p05>

- Dittmar, A. 1993. Morinda Citrifolia L. Use in Indigenous Samoan Medicine. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*: **1**(3): 77–92.
https://doi.org/10.1300/J044v01n03_08
- Essa, R., El Sadek, A. M., Baset, M. E., Rawash, M. A., Sami, D. G., Badawy, M. T., Mansour, M. E., Attia, H., Saadeldin, M. K., & Abdellatif, A. 2019. Effects of Turmeric (Curcuma longa) Extract in Streptozocin-Induced Diabetic Model. *Journal of Food Biochemistry*: **43**(9): 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12988>
- Fuloria, S., Mehta, J., Chandel, A., Sekar, M., Rani, N. N. I. M., Begum, M. Y., Subramaniam, V., Chidambaram, K., Thangavelu, L., Nordin, R., Wu, Y. S., Sathasivam, K. V., Lum, P. T., Meenakshi, D. U., Kumarasamy, V., Azad, A. K., & Fuloria, N. K. 2022. A Comprehensive Review on the Therapeutic Potential of Curcuma longa Linn in Relation to its Major Active Constituent Curcumin. *Frontiers in Pharmacology*: **13**: 1-27. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820806>
- Heinicke, R. M. 1985. The Pharmacologically Active Ingredient of Noni. *Excerpts from Pacific Tropical Botanical Garden Bulletin*: **15**(1): 1-3.
www.simplynaturalproducts.com
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., & Terekhov, R. P. 2020. ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*: **21**(3): 1-27.
<https://doi.org/10.3390/ijms21031131>
- Jiang, X. Y., Peng, X., Liu, C., Liu, J. H., Yang, Y., & Zhai, S. S. 2023. Curcumin Attenuates Liver Inflammation in Ducks Fed Corn Contaminated with Ochratoxin A Possibly By Regulating Intestinal Microbiota and Inhibiting Toll Like Receptor 4/Nuclear Factor Kappa-B Signaling Pathway. *Livestock Science*: **277**: 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105345>
- Katrolia, A., Vedpal, Shukla, V. K., Singh, R., Chandra, S., & Raman, R. 2025. In vitro Evaluation of Curcumin and Quercetin in Combination on Oxidative Stress. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*: **59**(1): 214–220.
<https://doi.org/10.5530/ijper.20254445>
- Kinney, S. R. M., Carlson, L., Ser-Dolansky, J., Thompson, C., Shah, S., Gambragh, A., Xing, W., Schneider, S. S., & Mathias, C. B. 2015. Curcumin Ingestion Inhibits Mastocytosis and Suppresses Intestinal Anaphylaxis in A Murine Model of Food Allergy. *PLoS ONE*: **10**(7): 1-20.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132467>
- Lee, H. Y., Kim, S. W., Lee, G. H., Choi, M. K., Chung, H. W., Lee, Y. C., Kim, H. R., Kwon, H. J., & Chae, H. J. (2017). Curcumin and Curcuma longa L. Extract Ameliorate Lipid Accumulation Through The Regulation of The Endoplasmic Reticulum Redox And ER Stress. *Scientific Reports*: **7**(1): 1-14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06872-y>
- Lyvia Lovin, N. E. L. I. *, E. F. S. L. 2019. Cardioprotective Effect of Ethanolic of Mengkudu (Morinda Citrifolia) on Rats Induced by Doxorubicin. *Journal of Inventions in Biomedical and Pharmaceutical Sciences*: **4**(4): 7–12.
<https://doi.org/10.26452/jibps.v4i4.1433>
- Nespolo, M. 2017. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Acta Crystallographica Section D, 384–385. <https://doi.org/10.1107/S2059798317004533>

- Nitteranon, V., Zhang, G., Darien, B. J., & Parkin, K. 2011. Isolation and Synergism of In Vitro Anti-Inflammatory and Quinone Reductase (QR) Inducing Agents from The Fruits of *Morinda Citrifolia* (Noni). *Food Research Internasional*: **44**(7): 2271–2277. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.009>
- Sami, F. J., Rahimah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica Oleracea* L. Var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) dan Metode Abts (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*: **2**(2): 107-110. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.179>
- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I. 2006. *Natural Products Isolation Second Edition* *Natural Products Isolation* Second Edition: **2**.
- Uzunhisarcikli, M., & Aslanturk, A. 2019. Hepatoprotective Effects of Curcumin and Taurine Against Bisphenol A-Induced Liver Injury in Rats. *Environmental Science and Pollution Research*: **26**(36): 37242–37253. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06615-8>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. 2022. Interactions between Medical Plant-Derived Bioactive Compounds: Focus on Antimicrobial Combination Effects. *Antibiotics*: **11**(8): 1-23. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081014>
- Wan Osman, W. N. F., Che Ahmad Tantowi, N. A., Lau, S. F., & Mohamed, S. 2019. Epicatechin and Scopoletin Rich *Morinda Citrifolia* (Noni) Leaf Extract Supplementation, Mitigated Osteoarthritis via Anti-Inflammatory, Anti-Oxidative, and Anti-Protease Pathways. *Journal of Food Biochemistry*: **43**(3): 1-12. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12755>