

Jurnal Pharmascience, Vol. 10, No. 1, Februari 2023, hal: 69-81

ISSN-Print. 2355 – 5386

ISSN-Online. 2460-9560

<https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>

Research Article

## Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH

Baiq Ridho Amalia, Handa Muliasari\*, Agriana Rosmalina Hidayati

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Nusa

Tenggara Barat, Indonesia

Email: handamuliasari@gmail.com

### ABSTRAK

Senyawa antioksidan mampu meredam senyawa radikal bebas sehingga menjadi substansi yang tidak berbahaya. Sumber antioksidan dibagi dalam dua kategori, antioksidan sintesis dan alami. Antioksidan alami dapat diperoleh dari bahan alam, salah satunya kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang dihasilkan ekstrak tunggal kulit buah pisang kepok (KPK) dan kulit naga merah (KNM) serta aktivitas antioksidan kombinasi keduanya. Kombinasi ekstrak KPK dan KNM dibuat dengan rasio (1:1); (1:2); dan (2:1). Ekstrak KPK dan KNM mengandung senyawa flavonoid yang berperan dalam aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak tunggal KPK dan KNM adalah  $79,34 \pm 1,139$  ppm dan  $79,96 \pm 0,899$  ppm. Nilai  $IC_{50}$  Kombinasi ekstrak KPK dan KNM dengan variasi (1:1); (1:2); dan (2:1) adalah  $19,50 \pm 2,552$  ppm;  $58,38 \pm 2,338$  ppm; dan  $18,76 \pm 1,605$  ppm. Uji *one way* ANOVA menunjukkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak tunggal dan kombinasinya berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Kombinasi ekstrak KPK dan KNM menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.

**Kata Kunci:** Sonikasi, KLT, Flavonoid, Kombinasi Ekstrak, DPPH

### ABSTRACT

*Antioxidant compounds can reduce free radical compounds and become harmless substances. Antioxidants are divided into two, which are synthetic and natural antioxidants. Natural antioxidants can be obtained from natural ingredients, such as the peel of kepok banana (*Musa paradisiaca* L.) and the peel of the red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus**

(Weber) Britton & Rose). The goals of this study are to determine the antioxidant activity of extract kepok banana peel (KPK), red dragon fruit peel (KNM) and extract combination of both. The combination of KPK and KNM extracts was made in a ratio of (1:1); (1:2); and (2:1). KPK and KNM extracts contain flavonoid compounds which are responsible for the antioxidant activity produced. The antioxidant test was carried out using the DPPH method. The  $IC_{50}$  values of the single extracts of KPK and KNM were  $79.34 \pm 1.139$  ppm and  $79.96 \pm 0.899$  ppm.  $IC_{50}$  value combination of KPK and KNM extracts with variation (1:1); (1:2); and (2:1) are  $19.50 \pm 2.552$  ppm;  $58.38 \pm 2.338$  ppm; and  $18.76 \pm 1.605$  ppm. One way ANOVA test showed that the  $IC_{50}$  values of single extracts and their combinations were significantly different ( $p < 0.05$ ). The combination of KPK and KNM extracts had stronger antioxidant activity than the single extracts.

**Keywords:** Sonication, TLC, Flavonoids, Extract Combination, DPPH

## I. PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam senyawa radikal bebas. Paparan radikal bebas pada tubuh dapat memicu munculnya berbagai masalah kesehatan yang membahayakan. Mekanisme kerja dari senyawa antioksidan adalah dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal yang tidak stabil, sehingga menjadi netral dan tidak mengganggu metabolisme tubuh (Rahmi, 2017). Senyawa antioksidan dapat dihasilkan secara alami dari tanaman maupun secara sintesis. Sumber antioksidan alami telah banyak ditemukan pada buah-buahan (Perangin-angin *et al.*, 2019).

Buah tropis seperti pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tumbuh subur di Indonesia yang beriklim tropis. Berdasarkan data BPS, ekspor produk buah naga Indonesia terus meningkat selama periode 2015-2019 sebesar 7,51%. Untuk buah pisang, menurut data BPS provinsi

Nusa Tenggara Barat dari 2015-2019 nilai ekspor buah pisang mengalami peningkatan mencapai 9,97%. Data ekspor yang terus meningkat menunjukkan ketersediaan buah pisang kepok dan naga merah yang melimpah. Kulit pisang kepok (KPK) dan kulit naga merah (KNM) memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami (Zhang *et al.*, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa KPK mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Jenis flavonoid yang banyak terkandung di dalam kulit pisang kepok adalah katekin, gallokatekin dan epikatekin (Cahyani, 2019). KPK dengan tingkat kematangan sangat matang memiliki  $IC_{50}$  sebesar 68,74 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat (Saputri *et al.*, 2020). Kandungan metabolit sekunder KNM yang memiliki efek sebagai antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid yang banyak

ditemukan pada kulit buah naga merah adalah senyawa flavanon (Nuari, 2017). Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak KNM adalah sebesar 76,19 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat (Martati, 2016).

Ekstrak KPK dan KNM dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alternatif. Penelitian terkait antioksidan alternatif perlu dilakukan untuk menjadi alternatif penggunaan antioksidan sintetis. Penelitian terhadap hewan uji menunjukkan antioksidan sintetis seperti BHA, BHT dan TBHQ yang sering ditambahkan dalam produk makanan, dapat memicu timbulnya karsinogenesis dan kerusakan hati apabila digunakan dalam jangka waktu yang panjang (Lourenco *et al.*, 2019).

Berdasarkan paparan studi literatur tersebut perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh kombinasi KPK dan KNM. Penggunaan kombinasi ekstrak tanaman mampu memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode tersebut dipilih karena terbukti akurat, reliabel, sederhana, cepat, praktis, peka dan membutuhkan sampel yang sedikit (Sanchez, 2002). Senyawa antioksidan yang memiliki atom hidrogen mampu berikatan dengan elektron bebas yang ada

pada senyawa DPPH, sehingga menjadi senyawa non-radikal yang ditandai dengan berubahnya warna ungu larutan menjadi kuning. Parameter uji yang diamati adalah nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (Setiawan, 2018).

## II. METODE PENELITIAN

### A. Bahan dan Alat

Bahan yang diperlukan adalah aquades, etanol 70%, etanol p.a (*Merck*<sup>®</sup>), kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.), kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), reagen DPPH (*Smart-Lab*<sup>®</sup>), asam klorida (HCl) 2N (*Merck*<sup>®</sup>), serbuk magnesium (*Merck*<sup>®</sup>), silika gel 60 GF<sub>254</sub> (*Smart-Lab*<sup>®</sup>), AlCl<sub>3</sub> 10% (*Merck*<sup>®</sup>), kuersetin (*Sigma*<sup>®</sup>), alumunium foil, masker, sarung tangan, tisu, kertas saring.

Alat yang dibutuhkan adalah alat-alat gelas, cawan petri (*Normax*<sup>®</sup>), blender (*Philips*<sup>®</sup>), *Accupate analog hotplate stirrer* (*SH-2 Magnetic Stirrer*<sup>®</sup>), *rotary evaporator* dan *chiller* (*Heidolph*<sup>®</sup> and *Huber*<sup>®</sup> Minichiller 300), oven (*Memmert*<sup>®</sup>), sonikator (*Elmasonic*<sup>®</sup>), Spektrofotometer UV/Vis *Analytic Jena Specord 200 plus*<sup>®</sup>, termometer, timbangan analitik (*Ohaus*<sup>®</sup>), vortex (*Labnet International*<sup>®</sup>), wadah simplisia sampel, wadah ekstrak, *waterbath* (*Labtech*<sup>®</sup>), mikropipet (*Dragon Med*), pipet tetes

(OneMed<sup>®</sup>), pisau, *rubber bulb*, tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), pipa kapiler.

### B. Pembuatan simplisia

Sampel pisang kepek dan buah naga merah dipisahkan antara daging buah dan kulitnya. Bagian kulit dicuci sampai bersih dan dirajang agar ukurannya menjadi kecil dan tipis. Sampel KPK dan KNM dikeringkan dengan cara kering-angin selama 24 jam, kemudian pengeringan dilanjutkan dengan oven pada suhu 40<sup>0</sup>C selama 8 jam. Sampel diblender sampai halus dan disimpan pada wadah tertutup.

### C. Pembuatan Ekstrak

Sampel diekstraksi dengan metode sonikasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Masing-masing simplisia KPK dan KNM ditimbang sebanyak 100 gram. Kemudian, diberikan etanol 70% sebanyak 200 mL. Sampel disonikasi selama 30 menit dengan suhu 30<sup>0</sup>C. Dilakukan re-ekstraksi sebanyak 2 kali. Ekstrak cair dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Heidolp<sup>®</sup>) dan *waterbath* (Labtech<sup>®</sup>) pada suhu 40<sup>0</sup>C.

### D. Skrining Fitokimia Flavonoid

Uji tabung fitokimia flavonoid dilakukan dengan menimbang 1 gram ekstrak, dilarutkan dengan 5 mL etanol 70%, masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 0,5 mL HCl pekat dan 1 mg

serbuk magnesium (Mg). Selanjutnya, dipanaskan selama ±15 menit. Apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning atau merah maka positif mengandung flavonoid (Baharuddin, 2017).

### E. Identifikasi KLT Flavonoid

Identifikasi flavonoid ekstrak etanol dari kedua sampel dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> (4 x 10 cm) sebagai fase diam dan campuran kloroform:etil asetat:n-butanol (5:4:1) sebagai eluen. Senyawa standar kuersetin dijadikan sebagai pembanding. Ditimbang 10 mg sampel, larutkan dalam 1 mL etanol 70% lalu ditotolkan ekstrak pada plat. Setelah dielusi, diangkat plat KLT dan diangin-anginkan agar kering, kemudian diamati noda yang terbentuk dibawah sinar UV 254 dan 366 nm. Selanjutnya, disemprot plat KLT menggunakan AlCl<sub>3</sub> 10% dan dilihat kembali penampakan nodanya pada panjang gelombang 366 nm. Apabila dihasilkan noda dengan warna kuning atau hijau lembayung maka sampel positif mengandung flavonoid. Dihitung nilai R<sub>f</sub> (*Retardation factor*) untuk masing-masing senyawa metabolit sekunder dengan persamaan berikut (Kusnadi dan Devi, 2017).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat yang diteliti}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

## F. Pembuatan Larutan Stok DPPH dan Kuersetin

Larutan stok DPPH 0,4 mM dibuat dengan menimbang sebanyak 15,77 mg kristal DPPH (BM 394,33), dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a. Kemudian, diencerkan menjadi DPPH 0,1 mM sebanyak 100 mL. Pengerjaan dilakukan pada ruangan yang terlindung dari cahaya dan larutan dibuat untuk segera digunakan (Wimpy, 2017).

Dibuat larutan stok kuersetin dengan menimbang 10 mg baku kristal kuersetin dan dilarutkan pada labu ukur 100 mL dengan etanol p.a. Lalu, dibuat seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm sebanyak 10 mL. Volume dicukupkan sampai tanda batas dengan menggunakan etanol p.a lalu dihomogenkan (Suyatmi, 2019).

## G. Penentuan *Operating Time*

Dimasukkan 2 mL kuersetin 4 ppm ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,1 mM. Kemudian, larutan dikocok hingga homogen. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang 517 nm selama 60 menit. Menit yang menghasilkan absorbansi paling stabil ditetapkan sebagai *operating time* (Mulangri *et al.*, 2017).

## H. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 3 mL diinkubasi selama *operating time* yang didapatkan pada ruangan yang gelap. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (*Analytic Jena Specord 200 plus*<sup>®</sup>) pada rentang panjang gelombang 500-560 nm. Absorbansi sampel diukur sampai didapatkan panjang gelombang maksimum, yaitu Ketika diperoleh absorbansi tertinggi (Molyneux, 2004).

## I. Pengukuran Absorbansi DPPH

Dimasukkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2 mL etanol p.a. Kemudian, larutan dihomogenkan dengan cara divortex selama 30 detik. Larutan diinkubasi pada kondisi terlindung dari cahaya selama *operating time*. Absorbansi DPPH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis (*Analytic Jena Specord 200 plus*<sup>®</sup>) pada panjang gelombang maksimum.

## J. Pengukuran Absorbansi Kuersetin

Pengukuran absorbansi kuersetin dilakukan untuk membandingkan nilai IC<sub>50</sub> senyawa standar kuersetin dengan sampel ekstrak KPK dan KNM. Masing-masing seri konsentrasi larutan kuersetin yang telah dibuat dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah ditutupi aluminium foil. Setiap

tabung reaksi ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,1 mM. Larutan divortex selama 30 detik agar homogen dan diinkubasi pada kondisi terlindung dari cahaya selama OT dan absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (Wulandari, 2015).

## **K. Pengukuran Absorbansi Ekstrak**

### **Tunggal KPK dan KNM**

Masing-masing sebanyak 50 mg ekstrak KPK dan KNM dilarutkan dengan 50 mL etanol 70% sebagai larutan induk. Diencerkan larutan induk untuk memperoleh seri konsentrasi 20, 40, 60, dan 80 ppm sebanyak 10 mL. Aktivitas antioksidan diukur dengan sebanyak 2 mL larutan sampel ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM.

## **L. Pengukuran Absorbansi Kombinasi**

### **Ekstrak KPK dan KNM**

#### **1. Kombinasi ekstrak perbandingan (1:1)**

Untuk rasio (1:1), dipipet larutan induk KPK:KNM masing-masing sebanyak 0,25:0,25 mL; 0,5:0,5 mL; 0,75:0,75 mL; dan 1,0:1,0 mL untuk membuat seri konsentrasi 20, 40, 60, dan 80 ppm. Seri konsentrasi dibuat sebanyak 25 mL dengan etanol 70%.

#### **2. Kombinasi ekstrak perbandingan (1:2)**

Untuk rasio (1:2), dipipet larutan induk KPK:KNM masing-masing sebanyak 0,25:0,5 mL; 0,5:1,0 mL; 0,75:1,5 mL; dan 1,0:2,0 mL untuk membuat seri konsentrasi 30, 60, 90, dan 120 ppm. Seri konsentrasi dibuat sebanyak 25 mL dengan etanol 70%.

#### **3. Kombinasi ekstrak perbandingan (2:1)**

Untuk rasio (2:1), dipipet larutan induk KPK:KNM masing-masing sebanyak 0,5:0,25 mL; 1,0:0,5 mL; 1,5:0,75 mL; dan 2,0:1,0 mL untuk membuat seri konsentrasi 30, 60, 90, dan 120 ppm. Seri konsentrasi dibuat sebanyak 25 mL dengan etanol 70%.

Diukur aktivitas antioksidan dengan mengambil masing-masing 2 mL larutan sampel dan direaksikan dengan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM.

## **M. Analisis Data**

Persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan persamaan berikut (Widianingsih, 2016).

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A0: Absorbansi DPPH

A1: Absorbansi sampel

Dari persamaan grafik regresi linier antara persentase inhibisi dan konsentrasi akan diperoleh nilai IC<sub>50</sub> (Rahmi, 2017). Selanjutnya, dilakukan uji perbedaan antar nilai IC<sub>50</sub> ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak KPK dan KNM dengan uji *one-way*

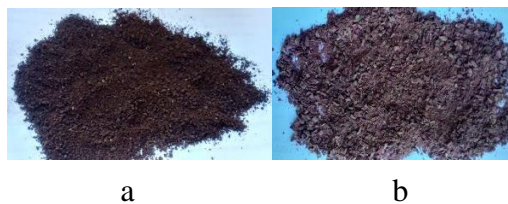
ANOVA pada *software* SPSS versi 26.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam paparan radikal bebas pada tubuh. Antioksidan akan merubah senyawa radikal bebas menjadi tidak reaktif. Senyawa radikal bebas yang bersifat sangat reaktif menyebabkan senyawa antioksidan lebih mudah bereaksi terhadap radikal bebas dibandingkan molekul lainnya di dalam tubuh (Rohman, 2013). Keberadaan radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai sel. Oleh karena itu, antioksidan dibutuhkan untuk mencegah efek samping dari paparan radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh secara alami, salah satunya melalui buah-buahan.

Pada penelitian ini, buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) didapatkan dari perkebunan pisang kepok di Desa Kembang Kuning, Kecamatan Labuhan Haji, Lombok Timur. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) didapatkan dari perkebunan buah naga merah di Desa Sapit, Kecamatan Suela, Lombok Timur. Sampel dipisahkan antara kulit dan daging buahnya. Berat basah KPK dan KNM adalah 2 kg. Air mengalir digunakan untuk mencuci sampel sampai bersih. Pencucian yang dilakukan sebanyak tiga kali dapat menghilangkan mikroba sampai tersisa hanya 42% dari

jumlah mikroba awal. Sampel dikeringkan dengan dua metode, yaitu diangin-anginkan dan pemanasan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 8 jam. Hal ini dilakukan untuk memastikan tidak terjadi *face hardening*, yaitu kondisi yang menyebabkan hanya bagian luar simplisia yang kering, sedangkan bagian dalam simplisia masih basah. Hal ini dapat menyebabkan simplisia mudah rusak bahkan membusuk (Departemen Kesehatan RI, 2017). Didapatkan serbuk simplisia KPK sebanyak 312 gram dan KNM sebanyak 286 gram (Gambar 1).



**Gambar 1.** Simplisia ekstrak KPK (a) dan KNM (b).

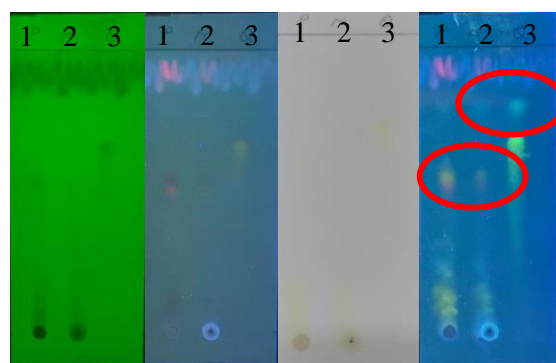
Ekstraksi KPK dan KNM dilakukan dengan menggunakan metode sonikasi. Pada proses ekstraksi digunakan pelarut etanol 70% karena merupakan pelarut universal, artinya bisa digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit yang bersifat polar sampai non-polar. Ekstrak cair dipanaskan menggunakan *rotary evaporator* (Heidolph®) pada suhu 40°C agar menjadi ekstrak pekat. Suhu tersebut dipilih agar senyawa-senyawa yang bersifat termolabil tidak terdegradasi (Yuliantari, 2017). Dari proses ekstraksi didapatkan

ekstrak KPK sebanyak 25,14 gram dan ekstrak KNM sebanyak 10,489 gram.

Skrining fitokimia digunakan untuk mendapatkan gambaran terkait senyawa metabolit yang terkandung di dalam ekstrak KPK dan ekstrak KNM. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan metode uji tabung dan KLT. Prinsip dari uji tabung adalah adanya perubahan warna yang terjadi ketika sampel diberikan pereaksi tertentu. Dari hasil skrining ekstrak KPK dan KNM diketahui mengandung senyawa flavonoid karena terjadi perubahan warna larutan sampel menjadi merah. Selanjutnya, berdasarkan identifikasi KLT dengan melihat bercak warna yang muncul, diduga senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak KPK adalah katekin, sedangkan pada ekstrak KNM adalah flavanon. Identifikasi senyawa tersebut dilakukan berdasarkan tabel Geissman (1962), yaitu senyawa katekin akan menimbulkan bercak warna kuning dan senyawa flavanon akan menghasilkan bercak berwarna biru pucat ketika disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  10% dan diamati di bawah sinar UV 366 nm.

Identifikasi KLT senyawa flavonoid ekstrak KPK, KNM, dan kuersetin dapat dilihat pada Gambar 2. Silika gel  $\text{GF}_{254}$  yang bersifat polar digunakan sebagai fase diam. Silika gel  $\text{GF}_{254}$  adalah plat yang dapat berpendar apabila diamati pada panjang gelombang

254 nm (Husna, 2020). Campuran larutan Kloroform: Etil Asetat: n-Butanol (5:4:1) digunakan sebagai fase gerak. Dari noda yang terbentuk akan dilakukan perhitungan nilai Rf. Apabila dua senyawa memiliki nilai Rf yang sama atau hampir sama maka dapat dikatakan bahwa karakteristik dari senyawa tersebut sama atau mirip.



**Gambar 2.** Profil KLT flavonoid dari ekstrak KPK (1), KNM (2) dan kuersetin (3) dengan fase gerak kloroform:EA:n-butanol (5:4:1, v/v) pada lampu UV 254 nm (a), lampu UV 366 nm (b), lampu putih setelah disemprot  $\text{AlCl}_3$  10% (c), dan lampu UV 366 nm setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  10% (d)

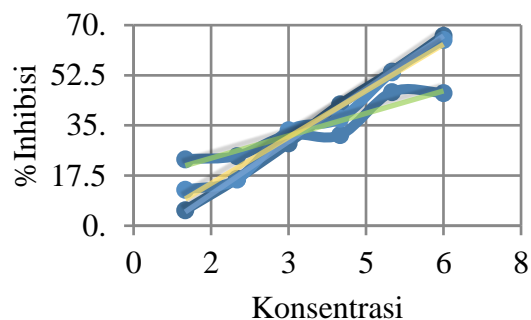
Hasil uji KLT senyawa pembanding kuersetin menunjukkan adanya penampakan spot berwarna hijau-kuning lembayung dengan nilai Rf sebesar 0,8125. Berdasarkan penelitian Mustapa (2019), range nilai Rf dari senyawa kuersetin adalah 0,69 – 0,81. Hasil identifikasi flavonoid ekstrak KPK didapatkan noda yang terbentuk berwarna kuning-oranye. Dari perhitungan nilai Rf, didapatkan nilai Rf untuk flavonoid ekstrak kulit pisang



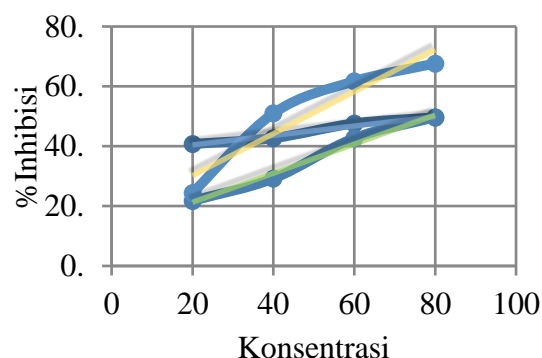
kepok adalah 0,5625. Nilai Rf flavonoid kulit pisang kepok berbeda dengan standar kuersetin sehingga diduga bukan termasuk ke dalam golongan senyawa kuersetin. Bercak noda yang dihasilkan oleh ekstrak KNM memberikan warna biru lemah dan posisinya sejajar dengan kuersetin. Nilai Rf dari bercak noda ekstrak kulit buah naga merah adalah 0,8125. Nilai Rf tersebut sama dengan nilai Rf standar kuersetin. Diduga pada ekstrak KNM mengandung senyawa flavonoid yang karakteristiknya mirip atau sama dengan kuersetin.

Penentuan *operating time* (OT) digunakan untuk mengetahui waktu ketika reaksi antara DPPH dengan larutan uji berjalan secara maksimal. Penentuan panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengetahui daerah serapan dan panjang gelombang maksimum dimana larutan DPPH memberikan serapan yang maksimum. Pada penelitian ini, *operating time* DPPH yang didapatkan adalah 30 menit dan panjang gelombang maksimum DPPH yang didapatkan adalah 517 nm. Umumnya OT DPPH berada diantara 15-30 menit dan panjang gelombang maksimum DPPH adalah  $517 \pm 2$  nm (Molyneux, 2004). Absorbansi larutan DPPH 0,1 mM yang diperoleh adalah 0,6173. Absorbansi DPPH 0,01 mM digunakan sebagai absorbansi kontrol, digunakan untuk menghitung persentase inhibisi. Persentase

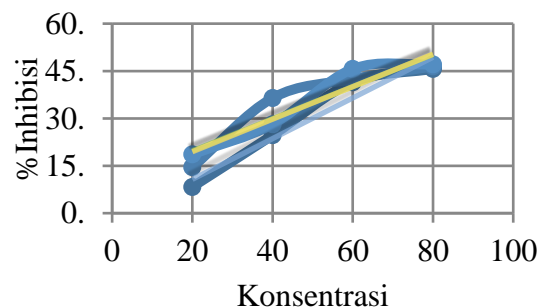
inhibisi digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$ . Grafik regresi linear antara konsentrasi dan persentase inhibisi dari masing-masing sampel uji dapat dilihat pada Gambar 3-8. Kemudian, nilai  $IC_{50}$  atau aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel I.



**Gambar 3.** Grafik aktivitas antioksidan kuersetin



**Gambar 4.** Grafik aktivitas antioksidan ekstrak KPK

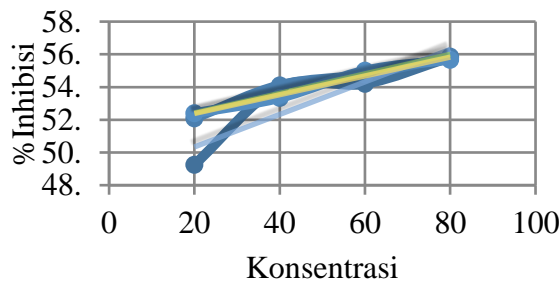


**Gambar 5.** Grafik aktivitas antioksidan ekstrak KNM

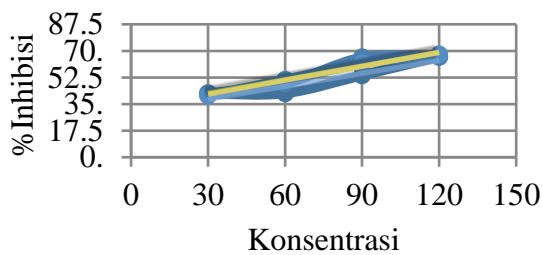
**Tabel I.** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak KPK, KNM dan kombinasi

| Sampel        | IC <sub>50</sub> (ppm) |       |       | Rata-rata (ppm)          |
|---------------|------------------------|-------|-------|--------------------------|
|               | I                      | II    | III   |                          |
| Kuersetin     | 4,68                   | 6,56  | 4,77  | 5,34±1,06 <sup>a</sup>   |
| KPK           | 80,58                  | 79,10 | 78,32 | 79,34±1,139 <sup>b</sup> |
| KNM           | 80,99                  | 79,56 | 79,33 | 79,96±0,899 <sup>b</sup> |
| KPK:KNM (1:1) | 16,60                  | 20,52 | 21,39 | 19,50±2,552 <sup>c</sup> |
| KPK:KNM (1:2) | 60,94                  | 56,36 | 57,83 | 58,38±2,338 <sup>d</sup> |
| KPK:KNM (2:1) | 17,47                  | 18,26 | 20,56 | 18,76±1,605 <sup>c</sup> |

Keterangan: indeks huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), sedangkan indeks huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ )



**Gambar 6.** Grafik aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak (1:1)

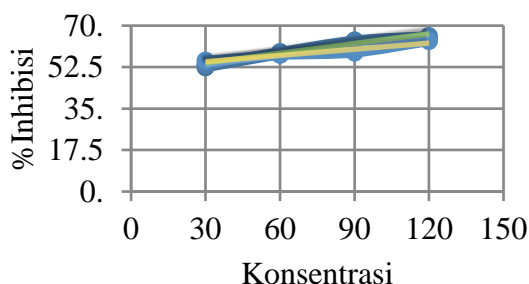


**Gambar 7.** Grafik aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak (1:2)

Kuersetin termasuk dalam golongan flavonoid, yaitu golongan flavonol yang bersifat polar dan menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Oleh karena itu, senyawa kuersetin biasanya digunakan sebagai senyawa standar untuk uji aktivitas

antioksidan senyawa golongan flavonoid. Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa nilai IC<sub>50</sub> kuersetin adalah  $5,34 \pm 1,06$  ppm yang masuk dalam golongan antioksidan yang sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm). Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak KPK adalah  $79,34 \pm 1,139$  ppm dan KNM adalah  $79,96 \pm 0,899$  yang tergolong dalam antioksidan kuat ( $50 < IC_{50} < 100$ ). Pada penelitian Saputri, *et al.* (2020), aktivitas antioksidan kulit pisang kepok adalah 68,74 ppm dan menurut penelitian Martati (2016), aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh kulit buah naga merah adalah 76,19 ppm. Adanya perbedaan antara nilai IC<sub>50</sub> pada penelitian sebelumnya dengan hasil yang diperoleh dapat disebabkan oleh berbagai faktor, misalnya perbedaan lingkungan tempat tumbuh yang dapat menyebabkan adanya perbedaan kandungan senyawa kimia pada

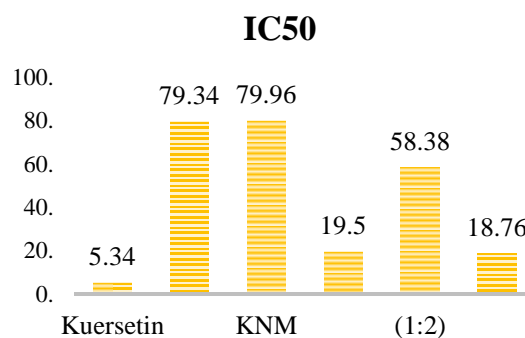
suatu tanaman. Perbedaan proses pembuatan ekstrak seperti metode ekstraksi, pH, temperatur dan waktu yang digunakan dapat menyebabkan kandungan senyawa biokimia pada sampel berbeda (Yateem, 2014). Pada Tabel 1. nilai  $IC_{50}$  kombinasi ekstrak KPK dan KNM yang dibuat dengan variasi (1:1); (1:2); dan (2:1) adalah  $19,50 \pm 2,552$  ppm;  $58,38 \pm 2,338$  ppm; dan  $18,76 \pm 1,605$  ppm. Nilai  $IC_{50}$  dari kombinasi (1:1) dan (2:1) masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat, sedangkan kombinasi (1:2) masuk dalam kategori antioksidan kuat.



**Gambar 8.** Grafik aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak (2:1)

Uji statistik SPSS menunjukkan data yang diperoleh pada penelitian ini terdistribusi secara normal dan homogen dengan  $p$  value lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Dengan demikian, dilakukan uji beda *one-way* ANOVA. Pada uji ANOVA, suatu data memiliki perbedaan yang bermakna apabila memiliki  $p$  value lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis menunjukkan  $p$  value sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), artinya ada perbedaan yang signifikan antara setiap

kelompok data. Uji *post hoc* Tukey dilakukan untuk mengetahui hubungan statistik dari setiap data. Diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai  $IC_{50}$  ekstrak tunggal KPK dan KNM ( $p > 0,05$ ). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak tunggal dan kombinasinya didapatkan hasil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Oleh karena itu, berdasarkan nilai  $IC_{50}$  sampel diketahui bahwa ekstrak kombinasi menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.



**Gambar 9.** Grafik nilai  $IC_{50}$  sampel uji dan hubungan statistiknya. indeks huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), sedangkan indeks huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ )

#### IV. KESIMPULAN

Ekstrak KPK dan KNM mengandung senyawa metabolit flavonoid yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidannya. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak tunggal KPK dan KNM adalah  $79,34 \pm 1,139$  ppm dan  $79,96 \pm 0,899$  ppm yang

masuk dalam kategori antioksidan kuat. Nilai IC<sub>50</sub> kombinasi ekstrak KPK dan KNM dengan variasi (1:1); (1:2); dan (2:1) adalah  $19,50 \pm 2,552$  ppm;  $58,38 \pm 2,338$  ppm; dan  $18,76 \pm 1,605$  ppm. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak tunggal dan kombinasinya berbeda signifikan ( $p < 0.05$ ). Kombinasi ekstrak menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Kombinasi (1:1) dan (2:1) merupakan kombinasi ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang paling baik.

#### KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Baharuddin, M. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2), 1-6.
- Cahyani, S., Tamrin., dan Hermanto, H. (2019). Pengaruh Lama dan Suhu Pengeringan Terhadap Karakteristik Organoleptik, Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimia Tepung Kulit Pisang Ambon (*Musa acuminata* Colla). *J Sains dan Teknologi Pangan*, 4(1), 2003-2006.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Geissman, T. A. (1962). *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: The Macmillan Company.
- Husna, F., dan Soraya, R. M. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16-25.
- Islamiyati, R., dan Endra, P. (2020). Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 169-174.
- Kusnadi, K., dan Egie, T. D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(1), 59.
- Lourenco, S. C., Margarida, M. M., dan Vitor, D. A. (2019). Antioxidant of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Application. *Molecules*, 24: 4132. Doi: 10.3390/molecules24224132.
- Martati, T., Devina, S. G. (2016). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Samarinda: *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*, 430-439.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenyl picryl hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology*, 26(2), 211-219.
- Mulangsri, D.A.K., Aqnes., Budiarti., dan Endah, N.S. (2017). Aktivitas Antioksidan Fraksi Dietileter Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 4(1), 83-93.
- Mustapa, M. A., Taupik, M., dan Ramadhan, A. (2019). Analisis Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis dalam Kulit Buah Salak (*Salacca zalaccz* V.). *Journal Syifa Scinces and Clinical Reseach*, 1, 21-27.

- Nuari, S., Syariful, A., dan Akhmad, K. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika*, 2(2), 118-125.
- Perangin-angin, Y., Yayuk, P., Yenni, A., Murni, S. R., dan Nurhayati. (2019). Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder yang Dihasilkan Tanaman pada Cekaman Biotik. *Agriland*, 7(1), 39-47.
- Putri, A. A. S., dan Hidajati, N. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *Unesa Journal of Chemistry*, 4(1), 1-6.
- Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1), 34-38.
- Rohman, A. (2013). *Analisis Komponen Makanan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Saputri, A. P., Andria, A., dan Fatmaria. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) Dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonate) Pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran*, 8(1), 973-980.
- Sanchez., Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological Systems. *Food Sci. Technol. Int*, 8(3), 121-137.
- Setiawan, F., Oeke, Y., dan Ade, K. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82.
- Suyatmi., Chairul, S., dan Djihan, R.P. (2019). Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) dari Daun Rambai (*Baccaurea motleyana* Mull. Arg). *Jurnal Atomik*, 4(2), 96-99.
- Tandi, J., Bella, M., Anita, P., dan Agustinus, W. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 6(1), 74-80.
- Widianingsih, M. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton&Rose) Hasil Maserasi dan Dipekatkan dengan Kering Angin. *Jurnal Wiyata*, 3(2), 148.
- Wimpy., dan Tri, H. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) dan Ekstrak Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrilhidrazil). *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 1(1), 37-38.
- Wulandari, P.H., dan Yumita, A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan DPPH dan Aktivitas Terhadap Artemia Salena Leach Ekstrak Etanol 96% Daun Seledri (*Apium graveolens* L.). *Sainstech Farma*, 8(2), 6-13.
- Yateem, H., Afaneh, I., dan Al-Rimawi, F. (2014). Optimum Condition for Oleuropein Extraction from Olive Leave. *Int J Appl*, 4(5), 153-157.
- Yuliantari, N.W.A., Widarta, I.W.R., dan Permana, I.D.G.M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35-42.
- Zhang, Y. J., Gan, R. Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.N., dan Xu, D. P. (2015). Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules*, 20(12), 21138–21156.