
Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode FRAP dan Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Air Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Kiki M.Yuliawati, Yani Lukmayani, Vinda Maharani Patricia

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Ranggagading No.8, Bandung, Indonesia

Email: yinda.maharani@unisba.ac.id

Received: 15 Juli 2022; Revised: 15 Agustus 2022 ; Accepted: 18 Agustus 2022 ; Available online: 31 Agustus 2022

ABSTRACT

Red dragon fruit peel is a waste that is rarely used. It contains many secondary metabolites with various pharmacological activities, including antioxidant activity. This study aims to determine antioxidant activity using the FRAP method accompanied by the determination of total phenol compounds in the water extract of the red dragon fruit peels. Antioxidant activity was conducted by the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method and the determination of total phenolic compounds in red dragon fruit peel extracted by maceration and Ultrasonic-assisted Extraction (UAE) methods using water solvent pH 4.5. Determination of total phenolic compounds was done by using the Follin Ciocalteu method. The results showed that the antioxidant activity of macerated extract and UAE were equivalent to 30.40 and 15.72 mg Trolox/g samples, respectively. Meanwhile, total phenolic compounds were equivalent to 7.72 and 7.25 mg GAE/g samples.

Key words : phenolic compound content, red dragon fruit peel, ultrasonic assisted extraction

ABSTRAK

Kulit buah naga merah merupakan limbah yang jarang dimanfaatkan. Padahal, di dalamnya mengandung banyak kandungan senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas farmakologi beragam, antara lain antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP disertai dengan penentuan kadar fenol total pada ekstrak air kulit buah naga merah. Penelitian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) serta penentuan kadar senyawa fenol pada kulit buah naga merah yang diekstraksi dengan metode maserasi dan *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut air pH 4,5. Penentuan kadar senyawa fenol menggunakan metode Follin Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak maserasi dan UAE berturut-turut setara dengan 30,40 dan 15,72 mg Trolox/g sampel. Sedangkan kadar senyawa fenol setara dengan 7,72 dan 7,25 mg GAE/g sampel.

Kata kunci : ekstraksi berbantu ultrasonik, kadar senyawa fenol, kulit buah naga merah

PENDAHULUAN

Kulit buah naga merupakan hasil samping yang dapat menjadi limbah yang mengganggu kesehatan lingkungan. Meskipun dianggap sebagai limbah, kulit buah naga mengandung senyawa-senyawa fitokimia berupa betasianin, flavonoid, fenol, terpenoid, vitamin C, vitamin E, vitamin A, tiamin, niasin dan *pyridoxine*, *cobalamin*, karoten dan *phytoalbumin*. Dengan berbagai kandungan senyawanya tersebut, maka kulit buah naga memiliki potensi untuk dapat digunakan dalam berbagai aktivitas farmakologi. Aktivitas tersebut antara lain sebagai anti inflamasi dan antidiabetes dengan efek supresi pada penyakit kardiovaskular dan juga berpotensi mencegah kanker (1). Selain itu, kulit buah naga berpotensi sebagai sumber antioksidan (2) dan antibakteri (3)

Antioksidan dapat didefinisikan sebagai senyawa yang berada dalam kadar rendah yang mampu menghambat proses oksidasi pada senyawa lain (4). Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan untuk mencegah kondisi stres oksidatif sehingga terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, akibatnya radikal bebas mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Pada dasarnya, tubuh manusia dapat menetralsir radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Mekanisme pertahanan tubuh dari radikal bebas adalah berupa antioksidan di tingkat sel, membran, dan ekstra sel yang disebut dengan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar (5).

Golongan senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan alami yang terdapat di dalam tumbuhan, berasal dari jalur biosintesis asam sikimat dengan prekursor berupa fenilalanin atau tirosin. Gugus hidroksil pada cincin benzena berperan dalam aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa ini. Aktivitas antioksidan golongan senyawa fenolik mendapat perhatian dalam penelitian pada berbagai tanaman yang biasa dikonsumsi, seperti sayuran, buah-buahan, sereal, biji buah beri, dan lain - lain (4).

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) memiliki beberapa kelebihan, antara lain pereaksinya mudah disiapkan, cukup sederhana, cepat, dan tidak memerlukan peralatan khusus (6). Tujuan penelitian ini untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP disertai dengan penentuan kadar fenol total pada ekstrak air kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan grinder, corong kaca, erlenmeyer, hotplate stirrer Thermo Scientific Cimarec, kertas whatsmann No.01, neraca digital Ohaus Px224e, micropipette, mortar dan stamper, maserator, rotary vacuum evaporator Stuart RE300, BUCHI Rotavapor R-300 Rotary Evaporator dengan Controller dan Pompa V-300, spatula, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1800, *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) BRANSON 2800, vial gelap, vortex dan alat standar laboratorium lainnya.

Bahan

Bahan yang digunakan sampel kulit buah naga, aquadest p.a., asam galat, etanol 96% p.a., methanol p.a., Natrium Karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, Trolox, buffer asetat, 2,4,6-tripyridilstriazine (TPTZ), dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Penyiapan Bahan

Tahapan awal dalam penelitian adalah pembuatan simplisia kulit buah naga merah. Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan kulit buah naga merah, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, pembuatan serbuk dan penyimpanan serbuk kering simplisia kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua metode berbeda yaitu metode maserasi dan metode ultrasonik (*Ultrasound-Assisted Extraction/UAE*) menggunakan pelarut air yang ditambahkan asam sitrat hingga pH 4,5. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:2,5. Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan selama 3x24 jam, sedangkan ekstraksi dengan metode

UAE dilakukan pada frekuensi 45 rpm selama 60 menit. Terhadap ekstrak cair dilakukan pemekatan menggunakan rotary vacuum evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Dalam pengujian ini dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan Trolox sebagai senyawa pembanding, dengan panjang gelombang maksimal 595 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan melakukan plot hasil pengujian antioksidan dengan metode FRAP pada konsentrasi larutan standar 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Untuk pengujian sampel, sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sebanyak 3 mL pereaksi FRAP ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, semua larutan uji dibaca serapannya pada λ maksimal 595 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Pereaksi FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 mL bufer asetat, 2,5 mL larutan 2,4,6-tripyridilstriazine (TPTZ) dan 2,5 larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, lalu ditambahkan akuades hingga tepat 100 mL dalam labu takar.

Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar fenol total dengan metode Follin Ciocalteu dilakukan dengan menggunakan asam galat (GAE) sebagai standar. Larutan standar asam galat dibuat dalam seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm dalam metanol. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 0,25 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL pereaksi Follin-Ciocalteu 10%, dicampur dengan menggunakan vortex selama lebih kurang 1 menit dan dibiarkan 5 menit, ditambahkan 2,0 mL larutan Na_2CO_3 1 M dan kocok selama 15 menit hingga homogen. Selanjutnya didiamkan selama 30 menit pada suhu ruangan, diukur absorbansi pada λ maksimal 746 nm (7).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Bahan

Bahan yang digunakan berupa kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) terlebih dahulu dideterminasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung dengan nomor surat 929/IT1.C11.2/TA.00/2022. Selanjutnya kulit buah naga dicuci menggunakan air mengalir, dirajang agar proses pengeringan homogen lalu dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan kurang lebih selama 5 hari. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan untuk meminimalisir kerusakan senyawa akibat terekspos suhu tinggi. Dari proses pembuatan simplisia diperoleh sebanyak 700 gram simplisia kulit buah naga yang berwarna merah seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Simplisia Kulit Buah Naga Merah

Ekstraksi

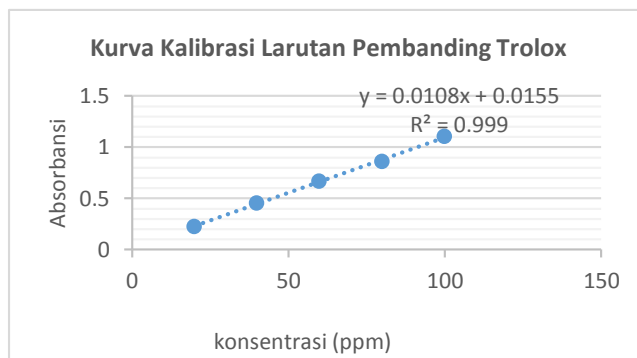
Ekstraksi dengan metode maserasi dibuat dengan menambahkan 250 mL pelarut air pH 4,5 ke dalam maserator berisi 100 gram simplisia, diaduk secara periodik, kemudian disimpan selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan penggantian pelarut untuk menghindari kejenuhan pelarut sehingga penarikan senyawa lebih optimal. Sedangkan ekstraksi dengan metode UAE dibuat dengan menambahkan pelarut air pH 4,5 ke dalam 100 gram simplisia. Alat ultrasonik dioperasikan pada frekuensi 45 rpm selama 60 menit.

Dari hasil pemekatan ekstrak diketahui kedua metode menghasilkan nilai rendemen yang berbeda yaitu sebesar 30,01% dan 63,42% untuk ekstrak maserasi dan ekstrak UAE. Dengan demikian metode

UAE menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi dengan bantuan ultrasonik dapat meningkatkan perolehan rendemen. Pada kondisi yang optimal, ekstraksi berbantu ultrasonik mampu meningkatkan rendemen, efektivitas antioksidan dan mengurangi waktu ekstraksi kulit buah naga (8).

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP, terhadap larutan standar Trolox diperoleh persamaan regresi linier sebagai berikut: $y = 0.0108x + 0.0155$ dengan nilai $R^2 = 0,99$, pada λ maksimal 595 nm, seperti terlihat pada Gambar 2. Setelah dilakukan plot konsentrasi sampel terhadap persamaan regresi linier ini, diperoleh aktivitas antioksidan pada kedua ekstrak seperti yang terlihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Pembanding Trolox

Tabel 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Naga dengan Metode FRAP

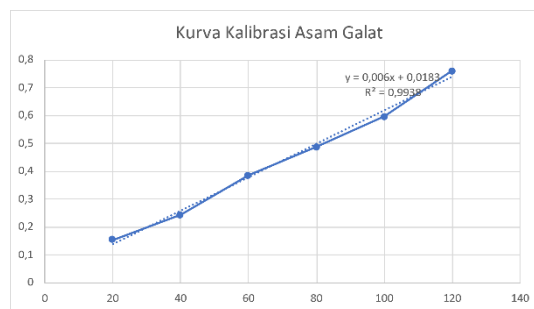
Rata-rata Aktivitas Antioksidan (mg Trolox/g)	
Maserasi	UAE
30,40	15,72

Dari hasil pengujian, diketahui bahwa ekstrak yang dihasilkan melalui metode maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dengan nilai ekivalensi 30,40 mg Trolox/g sampel dibandingkan ekstrak yang dihasilkan melalui metode UAE dengan nilai ekivalensi 15,72 mg Trolox/g sampel.

Dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)* terjadi transfer elektron dari antioksidan, dalam hal ini ekstrak kulit buah naga ke senyawa kompleks Fe^{3+} -TPTZ. Senyawa Fe^{3+} -TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel. Dengan kondisi ini, ion Fe^{3+} akan mengalami reduksi menjadi ion Fe^{2+} yang ditandai dengan terbentuknya warna biru pada larutan. Pengujian dilakukan pada kondisi asam yaitu pH 3,6 untuk menjaga kelarutan ion besi. Aktivitas antioksidan dengan metode FRAP diperoleh dengan membandingkan perubahan serapan larutan sampel dengan larutan perbandingan yang mengandung ion Fe^{2+} dengan konsentrasi yang diketahui pada λ 593 nm (6)

Penetapan Kadar Fenol Total

Pengukuran kadar fenol total dilakukan menggunakan metode *Folin-ciocalteu* dengan senyawa perbandingan asam galat. Pengukuran terhadap senyawa perbandingan asam galat menghasilkan regresi linier dengan persamaan $y = 0,006x + 0,0183$ dengan nilai $R^2 = 0,99$, seperti yang terlihat pada Gambar 3 dengan hasil pengukuran rata-rata kadar fenol seperti yang terlihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Tabel 2. Pengukuran Kadar Fenol Ekstrak Kulit Buah Naga

Rata-rata Kadar Senyawa Fenol Total (mgGAE/g)	
Maserasi	UAE
7,72	7,25

Dari hasil pengukuran diketahui bahwa kadar senyawa fenol di dalam ekstrak maserasi maupun UAE berturut-turut adalah 7,72 dan 7,25 mgGAE/g. Jika dilihat dari nilai tersebut kedua metode menghasilkan kadar fenol yang kurang lebih setara. Dalam penelitian ini, kadar senyawa fenol dalam ekstrak UAE justru lebih rendah dibandingkan pada ekstrak maserasi. Hal ini diduga dikarenakan adanya kenaikan suhu pada sistem ekstraksi menggunakan UAE akibat adanya gesekan yang terjadi secara terus menerus. Diketahui bahwa beberapa senyawa fenol tidak stabil terhadap pemanasan. Sebagai contoh, menurut Ibrahim et al., diketahui bahwa suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang lama serta melampaui batas waktu optimum dapat menyebabkan hilangnya senyawa-senyawa pada larutan karena penguapan, selain itu komponen bioaktif seperti flavonoid tidak tahan terhadap suhu tinggi diatas 50°C, sehingga mengalami perubahan struktur serta menghasilkan aktivitas ekstrak yang rendah (9). Hal serupa juga dikemukakan oleh Dzah, et.al yang menyebutkan bahwa suhu ekstraksi di atas 50°C akan bersifat degradatif pada senyawa polifenol. Selain itu, dinyatakan juga bahwa frekuensi ultrasonik yang dapat meningkatkan kadar fenol secara efektif berada di bawah 40 kHz. Jika melebihi nilai tersebut, maka menghasilkan radikal hidroksil bebas yang dapat mendegradasi polifenol, terutama dengan adanya kandungan air yang tinggi (10).

Dengan demikian, dalam penelitian ini, rendemen lebih tinggi yang dihasilkan pada ekstrak yang dihasilkan melalui metode UAE tidak berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan dan kadar senyawa fenol.

KESIMPULAN

Dari hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak yang dihasilkan melalui metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan dan kadar senyawa fenol yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak yang dihasilkan melalui metode UAE.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat (LPPM) Universitas Islam Bandung yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini melalui hibah dengan No. Kontrak: 067/B.04/LPPM/XII/2021.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013. Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. *Agro Food Industry Hi Tech*. Vol. 24 (3). 56-58.
2. Haveni, D., Mastura, M., Sari, R.P. 2019. Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) sebagai Antioksidan dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. Vol. 2 (2), 30 – 36.
3. Suhartati, R., Roziqin, D.A. 2017. Aktivitas Antibakteri Esktrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Vol. 17 (2), 513-518.
4. Zeb, A. 2020. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem*. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>.
5. Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol. 3 (2). 59-68.
6. Prastiwi R, Elya B, Hanafi M, Desmiaty Y, Sauriasari R. 2020. The Antioxidant Activity of *Sterculia stipulata* Korth Woods and Leaves by FRAP Method. *Pharmacog J*. Vol. 12 (2). 236-9.
7. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi S.F., Hamidinia A., & Bekhradnia A.R. 2008. Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoids content of *Parrotia persica* Mey. *Pharmacology Online*, 2, 560-567.
8. Sholiha, M., Ahmad, U., Budiasastra, I.W. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis, *Jurnal Keteknikan Pertanian*, Vol 5 (2), 161-168.
9. Ibrahim, A.M., Yunita, H.S. Feronika. 2015. Pengaruh Suhu Dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Kimia Dan Fisik Pada Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah Dengan Kombinasi Penambahan Madu Sebagai Pemanis. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol. 3 (2), 530-541.
10. Dzah, C.S., Duana, Y., Zhanga, H., Wena, C., Zhanga, J., Chenc, G., Maa, H. 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35