

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI KLOOROFORM-FRAKSI ETIL ASETAT-FRAKSI AIR KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazyl)

Yogyantara Abisatya Putra^{1*}, Muladi Putra Mahardika¹, Desy Ayu Irma Permatasari¹
¹Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa, Surakarta, Indonesia

*yogyantaraabisatya@gmail.com

Submitted: 28-09-2021

Revised: 30-09-21

Accepted: 30-09-21

ABSTRAK

Antosianin adalah suatu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonol, flavon-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanol adalah kelas tambahan flavonoid yang berada dalam oksidasi dari antosianin. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Kulit buah naga merah diketahui memiliki aktivitas antioksidan pada beberapa fraksi tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antioksidan dari fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air dari kulit buah naga merah menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil) dan untuk mengetahui berapakah nilai IC₅₀ konsentrasi pada aktivitas antioksidan fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air dari kulit buah naga merah.

Kulit Buah Naga Merah di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut kloroform dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dilakukan terhadap fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ pada fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut yaitu 81,639 ppm, 75,075 ppm, 73,464 ppm. Aktivitas antioksidan paling baik yaitu fraksi air.

Kata kunci : Buah Naga Merah, Antioksidan, Fraksinasi, Vitamin C, DPPH.

ABSTRACT

Anthocyanins are a class of flavonoid compounds that are widely divided into plant polyphenols. Flavonols, flavon-3-ols, flavones, flavanones, and flavanols are an additional class of flavonoids that are in the oxidation state of anthocyanins. Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) is one of the plants that has the potential as a source of natural antioxidants. Red dragon fruit peel is known to have antioxidant activity in certain fractions. This study aims to determine the antioxidant activity test of the chloroform fraction, ethyl acetate fraction and water fraction from red dragon fruit peel using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil) method and to find out what is the IC₅₀ value of the concentration on the antioxidant activity of the chloroform fraction. ethyl acetate fraction and water fraction from red dragon fruit peel.

The skin of the Red Dragon Fruit was extracted using the maceration method with 96% ethanol followed by fractionation using chloroform and ethyl acetate as solvents. The antioxidant activity test against DPPH radicals was carried out on the chloroform fraction, ethyl acetate fraction and water fraction.

The results of the antioxidant activity test were expressed by IC_{50} values for the chloroform, ethyl acetate, and water fractions, respectively, namely 81,639 ppm, 75,075 ppm, and 73.464 ppm. The best antioxidant activity is the water fraction.

Keywords : Red Dragon Fruit, Antioxidant, Fractionation, Vitamin C, DPPH.

PENDAHULUAN

Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan buah pendarang yang banyak digemari oleh masyarakat karena memiliki khasiat dan manfaat serta nilai gizi cukup tinggi. Buah naga merah merupakan tanaman musiman yang sebagian besar orang mengkonsumsi buahnya. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa 30-35% dari berat buah naga merupakan kulitnya yang dari sebagian besar masyarakat hanya dibuang sebagai sampah, padahal kulit buah naga merah juga mengandung antioksidan [1].

Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung zat warna alami antosianin cukup tinggi. Antosianin merupakan zat warna yang berperan memberikan warna merah berpotensi menjadi pewarna alami untuk pangan dan dapat dijadikan alternatif pengganti pewarna sintetis yang lebih aman bagi kesehatan [1] Kulit Buah naga merah memiliki potensi sebagai antioksidan yang lebih tinggi daripada dagingnya. Seperti dijelaskan dari hasil penelitian, aktivitas antioksidan antara daging buah naga merah dengan kulit buah naga merah menunjukkan hasil lebih tinggi pada kulit buah naga merah [3].

Antosianin adalah kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar dalam tanaman [2]. Ada beberapa buah-buahan dan sayuran serta bunga memperlihatkan warna-warna yang menarik yang mereka miliki termasuk komponen warna yang bersifat larut dalam air dan terdapat dalam cairan sel tumbuhan [3]. Antosianin adalah suatu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonol, flavon-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanol adalah kelas tambahan flavonoid yang berada dalam oksidasi dari antosianin. Larutan pada senyawa flavonoid adalah tak berwarna atau kuning pucat [4]. Antosianin stabil pada pH 3,5 dan suhu 50°C, mempunyai berat molekul 207,08 g/mol dan rumus molekul $C_{15}H_{11}O$ [5].

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada otak karena bahan kimia berbahaya yang mudah terserap oleh lemak, sedangkan sebagian besar struktur otak adalah lemak. Radikal bebas yang dapat membahayakan kesehatan dapat dilumpuhkan oleh antioksidan, sehingga antioksidan sangat dibutuhkan oleh tubuh. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan

bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit [6].

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas melalui penghambatan mekanisme oksidatif [9]. Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas lainnya. Akibat reaktivitas yang tinggi, radikal bebas dapat merusak berbagai sel makromolekul. Radikal bebas mampu merusak molekul dan menjadi penyebab dari berbagai penyakit degeneratif dan penyakit kronis [7].

Menurut penelitian yang dilakukan nurliyana, *et al* (2010), Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, antioksidan yang terkandung dalam Kulit Buah Naga Merah yaitu antosianin [8].

Menurut Ivanisova, dkk (2013) dalam Haveni, dkk (2019), senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenol bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi, sedangkan senyawa alkaloid bersifat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker [12].

Menurut Fajriani (2013) dalam Haveni, dkk (2019), kulit buah naga merah dapat digunakan untuk mengobati bengkak karena keracunan. Dari beberapa fakta dan sumber ilmiah yang disebutkan pada bagian ini, peneliti mencoba menarik ide untuk meneliti hubungan radikal bebas dengan aktivitas yang terkandung dalam ekstrak kulit buah naga merah melalui metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil*) [8]. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur efektifitas antioksidan secara cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal. DPPH telah digunakan secara luas untuk mengukur kemampuan suatu senyawa untuk menghambat radikal bebas atau sebagai pendonor hidrogen, dan juga untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dalam makanan. Kulit buah naga merah dapat bermanfaat dalam produksi pangan maupun industri seperti pewarna alami pada makanan dan minuman. Pada bidang farmakologi kulit buah naga juga dapat dijadikan sebagai antioksidan atau penangkal radikal bebas [8].

Menurut penelitian Wu, *et al* (2006) keunggulan dari kulit buah naga merah sebagai antioksidan disebabkan karena buah naga kaya akan senyawa polifenol. Selain itu, kulit buah naga juga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin yang diduga juga memiliki manfaat sebagai antioksidan [14]. Kandungan fitokimia dalam kulit buah naga merah juga tergantung varietas buah naga.

METODE PENELITIAN

Subjek penelitian ini adalah Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan pengambilan sampel di Tawangmangu, Karanganyar. Metode penelitian ini bersifat deskriptif eksperimen. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai variasi pelarut yaitu fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air dari kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya antioksidan kulit Buah Naga Merah dan nilai IC₅₀.

Alat dan bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain bejana maserasi, gelas ukur, timbangan analitik, corong pisah, ayakan nomor 60, oven, batang pengaduk, seperangkat alat rotary evaporator, labu Erlenmeyer, kain flanel, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, beaker glass, tabung reaksi, kertas saring, spektrofotometri UV-Vis.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), etanol 96%, kloroform, etil asetat, aqua destilata, etanol p.a, DPPH, air panas, magnesium, HCl, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, FeCl₃, asam asetat.

Prosedur kerja

a. Penyiapan Bahan

Pengumpulan Bahan

Sampel 20 kg kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dari Tawangmangu, Karanganyar.

Determinasi

Determinasi simplisia tanaman buah naga dilakukan uji determinasi di laboratorium farmasi, Universitas Ahmad Dahlan.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel buah naga dilakukan pada pagi hari (pukul 09:00-11:00), dengan cara dipetik satu persatu secara manual menggunakan tangan. Sampel buah naga dibersihkan dari kotoran yang melekat pada buah, dagingnya dipisahkan kulit, menggunakan air mengalir lalu kemudian dirajang 1 cm dan dijemur dibawah sinar matahari(apabila cuaca tidak memungkinkan/ kurang panas maka menggunakan almari pengering). Simplisia yang sudah kering dan dihaluskan menggunakan blender lalu diayak disimpan ditempat kering dan tertutup rapat.

b. Ekstraksi

Metode ini dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi, karena dilakukan dengan cara merendam

serbuk simplisia dalam cairan penyari menggunakan pelarut etanol 96%. Sampel kulit buah naga merah sebanyak 470 gram sampel kering dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:4 (b/v) ke dalam toples berisi kulit buah naga kering sampai semua bagian terendam sempurna. Di maserasi selama 3x24 jam kemudian disaring filtrat menggunakan kertas saring whattman no. 42. Dilakukan proses maserasi secara berulang hingga tiga kali atau sampai filtrat terlihat bening. Diupkan hasil maserasi menggunakan rotary evaporator hingga seluruh etanol menguap lalu dikeringkan lagi dengan waterbat dan diperoleh ekstrak kental kulit buah naga. Dilakukan analisis fitokimia serta uji antioksidan pada ekstrak kental yang diperoleh.

c. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak buah naga merah dengan menggunakan campuran dua pelarut yang mempunyai kepolaran berbeda secara partisi. Ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan berat 1,9 gram dilarutkan dengan air hangat sebanyak 50 mL, dan ditambahkan 50 mL, etanol 96% Sebanyak 100 mL kloroform ditambahkan kedalam corong pisah untuk melarutkan ekstrak yang terlarut, dikocok kuat hingga diperoleh lapisan kloroform dan lapisan air, kemudian kedua lapisan dipisahkan. Pada lapisan air, ditambahkan etil asetat, dikocok kuat hingga diperoleh lapisan etil asetat dan lapisan air, kemudian kedua lapisan dipisahkan. Proses tersebut dilakukan pengulangan

d. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Pengujian Makroskopik

Dilakukan pengujian secara organoleptik yang meliputi sifat zat secara umum terutama bentuk, warna, ukuran, dan bau.

Susut Pengeringan

Ditimbang 2 gram serbuk kulit buah naga merah dimasukan dalam alat moisture analyzer. Persyaratan kadar air tidak boleh lebih dari 10% (Anonim, 1978). Pengukuran susut kering pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat moisture analyzer dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit buah naga merah sebesar 8,9%.

Kadar Air

Dilakukan penetapan kadar air dengan alat moisture analyzer, ditimbang 2 gram serbuk kulit buah naga merah. Persyaratan kadar air tidak boleh lebih dari 10%. Pengukuran kadar air pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat moisture analyzer dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit buah naga merah sebesar 8,94%.

Kadar Abu Total

Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang terdapat dalam simplisia. Kadar abu total berkaitan dengan mineral senyawa anorganik. Pada pengujian kadar abu total diperoleh kadar abu total sebanyak $10,742 \pm 0,108$. Besarnya kadar abu

tersebut kemungkinan dikarenakan banyaknya mineral serta senyawa logam yang terkandung pada simplisia.

e. Penapisan Ekstrak

Alkaloid

Ditimbang 2 gram serbuk ekstrak kulit buah naga merah, kemudian digerus dengan 5 mL amonia. Kemudian ditambah 20 mL kloroform dan disaring. Filtrat ditambah HCl kemudian diambil lapisan bagian atas dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Ditetesi dengan Bouchardat LP pada tabung reaksi 1 dan akan terbentuk endapan berwarna coklat jika mengandung alkaloid. Kemudian pada tabung 2 ditetesi dengan Mayer LP dan akan membentuk endapan berwarna putih jika mengandung alkaloid.

Flavonoid

Ditimbang 2 gram serbuk ekstrak kulit buah naga merah ditambah 100 mL air panas dan dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Sebanyak 5 mL filtrat ditambah dengan serbuk Mg dan 2 mL larutan alkohol-HCl (1:1). Kemudian ditambahkan amil alkohol lalu dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Terbentuknya warna jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil yang positif.

Saponin

Ditimbang 2 gram ekstrak kulit buah naga merah kemudian ditambah 100 mL air panas dan didinginkan. Dimasukkan sebanyak 20 mL filtrat ke dalam tabung reaksi lalu dikocok kuat selama 10 menit, kemudian didiamkan dan ditambah HCl 2 N. Jika terbentuk buih dan buih tidak hilang setelah penambahan HCl, maka sampel mengandung saponin.

Tanin

Ditimbang 2 gram ekstrak kulit buah naga merah kemudian ditambah 100 mL air panas dan dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Disiapkan 2 tabung reaksi yang berisi masing-masing 5 mL filtrat kemudian tabung 1 ditambah FeCl₃ 1% (positif ditunjukkan dengan warna hijau violet kehitaman). Tabung 2 ditambah gelatin (positif ditunjukkan adanya endapan putih). Tabung 3 digunakan untuk membedakan tanin galat dan katekol dengan cara ditambahkan filtrat dengan formaldehid 3% : HCl (2:1), kemudian dipanaskan. Kemudian ditambahkan Stease akan terbentuk endapan merah muda menunjukkan senyawa tanin katekol. Kemudian dipisahkan filtrat dengan disaring dan dijenuhkan dengan Na-asetat dan ditambah FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna biru tinta atau hitam menunjukkan adanya senyawa tanin galat.

Steroid/ Triterpenoid

Ditimbang 2 gram ekstrak kulit buah naga merah kemudian dimaserasi menggunakan 20 mL eter selama 2 jam, kemudian disaring. Kemudian diuapkan filtrat hingga diperoleh residu yang kemudian

ditetesi dengan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Terbentuknya warna hijau atau merah menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau triterpenoid.

f. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pembuatan Larutan Stok DPPH 50 ppm

Ditimbang sebanyak 5 mg DPPH kemudian dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a pada labu ukur.

Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 1000 ppm

Ditimbang 50 mg vitamin C kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol p.a pada labu ukur

Pembuatan Larutan Stok Buah Naga 1000 ppm

Ditimbang 50 mg ekstrak etanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol p.a pada labu ukur.

Pengukuran Serapan Blangko

Diambil sebanyak 3 mL larutan stok DPPH, kemudian dilakukan scanning panjang gelombang dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 400-800 nm, selanjutnya serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh.

Pengukuran Aktivitas Pengikatan DPPH dengan Vitamin C

Pengukuran dilakukan dengan dipipet masing-masing 20 µL, 30 µL, 40 µL, 50 µL, dan 60 µL dari larutan stok vitamin C kemudian dicukupkan masing-masing hingga volume 10 mL labu ukur dengan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm. Dari larutan tersebut kemudian diambil 1 mL larutan dan ditambah 2 mL larutan stok DPPH. Larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit dan kemudian diukur serapan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimal 516 nm.

Pengukuran Aktivitas Pengikatan DPPH dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Pengukuran dilakukan dengan dipipet masing-masing 20 µL, 40 µL, 60 µL, 80 µL, 100 µL, dan 120 µL dari larutan stok ekstrak dan dicukupkan masing-masing hingga volume 10 mL labu ukur menggunakan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 6 ppm. Dari larutan tersebut kemudian diambil 1 mL larutan dan ditambah 2 mL larutan stok DPPH. Larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit dan diukur serapan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimal 516 nm.

g. Analisis Data

Data hasil pembandingan uji antioksidan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dibuat fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air dibuat dengan konsentrasi melalui uji karakteristik meliputi pengujian mikroskopik, susut pengeringan, kadar abu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Sampel uji buah naga merah yang digunakan terlebih dahulu telah dilakukan uji determinasi di Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan. Hasil dari determinasi yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar Buah Naga Merah.

2. Preparasi Sampel Kulit Buah Naga Merah

Selama proses pengeringan terdapat perubahan warna, tekstur dan berat. Kulit buah naga merah segar berwarna merah pada bagian atasnya dan berwarna ungu pada bagian tengahnya. Setelah proses penjemuran, terjadi perubahan warna menjadi coklat, serta perubahan tekstur menjadi keras dan kaku sehingga dapat dipatahkan dengan tangan. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh terjadinya foto-oksidasi pada kulit buah naga merah, sedangkan perubahan tekstur dan berat disebabkan karena kehilangan beberapa persen kandungan air yang terdapat pada kulit buah naga merah. Pengeringan ini juga bertujuan agar sampel tidak mudah rusak dengan adanya pertumbuhan jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Kulit buah naga dikeringkan menggunakan di jemur dibawah sinar matahari.

Tabel 1. Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Kulit Buah Naga Merah

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%) b/b
20	7	35

Berdasarkan tabel 1. dapat dijelaskan dari pengambilan kulit buah naga merah pada bobot basah yaitu 20 kg setelah melalui tahap pengupasan diambil kulit dari buah naga didapatkan bobot kering dari buah buah naga merah yaitu 7 kg. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 35%.

3. Data Karakteristik Simplisia

Pengujian Makroskopik

Terhadap serbuk simplisia kulit buah naga merah diuji secara makroskopik. Gambar hasil uji makroskopik serbuk simplisia dapat dilihat pada lampiran. Pengujian makroskopik serbuk simplisia meliputi ukuran, bentuk, warna serta ukuran. Hasil pengujian makroskopik serbuk simplisia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Makroskopik Kulit Buah Naga

Parameter	Simplisia
Bentuk	Serbuk
Warna	Coklat Kemerahan
Ukuran	Partikel kecil
Bau	Menyengat

Selanjutnya simplisia dilakukan uji karakteristik serbuk simplisia menurut Farmakope Herbal Indonesia meliputi penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air dan penetapan kadar abu.

Susut Pengeringan

Pengukuran susut kering pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat *moisture analyzer* dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit buah naga merah sebesar 8,9 %.

Kadar Air

Pengukuran kadar air pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat *moisture analyzer* dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit buah naga merah sebesar 8,94 %.

Kadar Abu Total

Kadar abu total dalam simplisia kulit buah naga merah sebesar 14,12% dan dalam ekstrak sebesar 9,06%, kadar abu tidak larut asam dalam simplisia sebesar 7,44% dan dalam ekstrak sebesar 1%. Pada pengujian kadar abu total diperoleh kadar abu total sebanyak $10,742 \pm 0,108$ % Besarnya kadar abu tersebut kemungkinan dikarenakan banyaknya mineral serta senyawa logam yang terkandung pada simplisia.

Tabel 3. Data Karakteristik Simplisia

Uji Karakteristik Simplisia	Hasil
Susut Pengeringan	8,9 %
Kadar Air	8,94 %
Kadar Abu Total	$10,742 \pm 0,108$ %

Pada uji susut pengeringan terdapat hasil 8,9 %. Pengukuran susut kering pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat *moisture analyzer*. Pada hasil uji kadar air terdapat hasil Pada hasil 8,94 % uji kadar abu total terdapat hasil $10,742 \pm 0,108$ %.

4. Ekstraksi

Proses ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan disaring. Kemudian filtrat tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* dan penangas air pada suhu 45°C hingga pelarut menguap dan menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental etanolik kulit

buah naga merah (KBNM-Etanol) yang didapatkan adalah sebanyak 19,273 gram.

Tabel 4. Rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk kulit buah naga

Bobot serbuk (gr)	Bobot ekstrak (gr)	Rendemen (%) (b/b)
470	19,273	4,100

Berdasarkan tabel 4 dapat dijelaskan bahwa bobot serbuk kulit buah naga adalah 470 gram. Setelah itu serbuk dibuat ekstrak hasil bobot ekstrak didapatkan 19,273 gram. Sehingga di dapatkan jumlah rendemen adalah 4,100 % b/b.

5. Fraksinasi

Ekstrak kulit buah naga merah etanol yang digunakan untuk fraksinasi cair-cair hanya sebanyak 1,9 gram. Ketika proses fraksinasi, fraksi campuran H₂O-etanol ekstrak etanolik kulit buah naga merah dan etanol berada di lapisan atas, dan fraksi kloroform kulit buah naga merah berada pada lapisan bawah. Karena pelarut kloroform memiliki massa jenis yang lebih besar (1,49 g/cm³) dibanding etanol (0,7915 g/cm³). Hasil fraksi kloroform kulit buah naga merah selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dilanjutkan dengan menggunakan waterbath pada suhu 50°C-700°C.

Tabel 5. Hasil Total Fraksi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Bobot Ekstrak (gr)	Fraksi	Bobot fraksi (gr)	Rendemen (%) (b/b)
1,9	Kloroform	1,5	78,947
1,9	Etil Asetat	1,6	84,210
1,9	Air	1,59	83,684

Fraksi kloroform kulit buah naga merah yang diperoleh adalah sebanyak 1,5 gram dan didapatkan nilai rendemen fraksi kental kloroform kulit buah naga merah terhadap kulit buah naga merah kering sebesar 78,947 %. Fraksi etil asetat kulit buah naga merah yang diperoleh adalah sebanyak 1,6 gram dan didapatkan nilai rendemen fraksi etil asetat kulit buah naga merah terhadap kulit buah naga kering sebesar 84,210%, sedangkan fraksi air pada ekstrak kulit buah naga merah didapatkan hasil 1,59 gram dan rendemen 83,684%.

6. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Uji Alkaloid

Hasil penelitian yang telah dilakukan tabung 1 menghasilkan warna kuning jingga dan tidak terdapat endapan sedangkan pada tabung 2 menghasilkan orange sehingga dapat disimpulkan positif dan kulit buah naga merah mengandung antioksidan.

Uji Flavonoid

Terbentuknya warna jingga kuning pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil positif.

Uji Saponin

Hasil penelitian kulit buah naga mengandung saponin sehingga didapat hasil positif, karena terbentuk buih dan buih tidak hilang setelah penambahan HCl.

Uji Tanin

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tabung 1 berwarna orange kecoklatan sedangkan tabung 2 menunjukkan warna orange kecoklatan Sehingga pada ekstrak kulit buah naga mengandung tanin.

Uji Steroid/ Triterpenoid

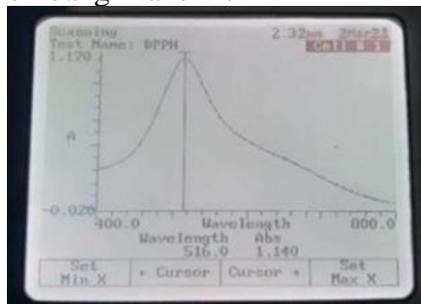
Hasil penelitian bahwa tabung 1 berwarna kuning sedangkan tabung 2 berwarna endapan coklat sehingga hasil menunjukkan negatif pada ekstrak atau serbuk kulit buah naga merah

Tabel 8. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Serbuk Dan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

No	Kandungan Kimia	Simplisia	Ekstrak	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	+	+	- Kuning jingga tidak ada endapan → Dragendrof - Kuning → Mayer	- Kuning jingga tidak ada endapan → Dragendrof - Kuning → Mayer
2	Flavonoid	+	+	Jingga kuning	Jingga Kuning
3	Tanin	+	+	- orange → FeCl ₃ - orange → Gelatin	- orange → FeCl ₃ - orange → Gelatin
4	Saponin	+	+	Terbentuknya busa	Terbentuknya busa
5	Steroid/ Triterpenoid	-	-	- terbentuk warna kuning → asam asetat anhidrat - terbentuk endapan coklat kuning → asam pekat	- terbentuk warna merah kemudian menjadi warna biru dan hijau → asam asetat anhidrat - terbentuk warna hijau/ merah → asam pekat

7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Absorbansi

Dari hasil pengujian pengukuran gelombang maksimum di dapat hasil absorbansi 1,140 pada panjang gelombang 516 nm. Pengukuran absorbansi dalam penelitian ini dilakukan panjang gelombang 516 nm larutan DPPH dengan absorbansi sebesar 1,140 kedua panjang gelombang

tersebut sesuai dengan jangkauan panjang gelombang maksimum yang dapat digunakan untuk mengukur dengan metode DPPH.

Hasil Penetapan Kadar Uji Vitamin C

Hasil panjang gelombang tersebut kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi sampel serta vitamin C untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai yang ditunjukkan untuk menunjukkan aktivitas antiradikal yang merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada Vitamin C sebagai pembanding dan ekstrak etanol kulit buah naga merah dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Antioksidan Kadar Vitamin C

Larutan uji	Konsentrasi (ppm)	Rata – rata Absorbansi	% Inhibisi
Vitamin C	20	0,655	42,514
	40	0,578	49,239
	60	0,508	55,380
	80	0,324	71,520
	100	0,268	76,462

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} standar vitamin C sebagai pembanding mempunyai IC_{50} sebesar 3,9986 ppm. Perhitungan uji antioksidan kadar vitamin C dapat dilihat pada lampiran. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Fraksi klorofom, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah naga merah dengan berbagai macam konsentrasi disebut dengan larutan stok. Larutan uji ini dibuat kedalam 5 seri konsentrasi. Konsentrasi berbanding lurus dengan persen peredaman, semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi juga persen peredamannya. Mekanisme penangkapan radikal DPPH dari senyawa antioksidan yang dapat menyebabkan peredaman warna radikal yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning yang non radikal. Proses perubahan warna yang terjadi karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. hal ini terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan. Radikal DPPH akan stabil ketika bereaksi dengan zat uji berupa senyawa antioksidan yang menyumbangkan atom hidrogen sehingga menjadi diphenylpicrylhydrazine. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning inilah yang dapat diukur secara spektrofotometri. Pengujian absorbansi peredaman radikal dilakukan dengan pembuatan seri konsentrasi terlebih dahulu pada ekstrak dan fraksi, kemudian ditambahkan DPPH pada setiap seri konsentrasi dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Pembacaan absorbansi pada penelitian ini dilakukan pada waktu operating time yang telah ditentukan yaitu menit ke-30 lalu dihitung persen peredamannya.

Tabel 10. Nilai Rata-rata Absorbansi Larutan Uji

Larutan uji	Konsentrasi (ppm)	Rata – rata absorbansi	% Inhibisi
Fraksi Kloroform	20	1,438	21,616
	40	1,281	30,154
	60	1,187	35,313
	80	0,860	53,133
	100	0,770	58,001
Fraksi Etil asetat	20	1,346	26,630
	40	1,212	33,932
	60	0,988	46,139
	80	0,857	53,260
	100	0,722	60,635
Fraksi Air	20	1,425	22,325
	40	1,208	34,132
	60	0,994	45,831
	80	0,909	50,426
	100	0,720	60,726

Hasil pengukuran absorbansi pada tabel 10 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji maka nilai absorbansi akan semakin berkurang. Pada fraksi kloroform konsentrasi 20 ppm menunjukkan nilai absorbansi 1,438 kemudian pada konsentrasi 40 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi 1,281. Fraksi etil asetat konsentrasi 20 ppm memiliki nilai absorbansi 1,346 kemudian dengan peningkatan konsentrasi menjadi 40 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi menjadi 1,212. Fraksi air dengan konsentrasi 60 ppm memiliki nilai absorbansi 0,994 kemudian dengan meningkatnya konsentrasi menjadi 80 ppm menunjukkan penurunan nilai absorbansi menjadi 0,909. Hasil pengukuran absorbansi digunakan untuk mendapatkan nilai %inhibisi. IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap 50% radikal bebas DPPH selama operating time. Data dari fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air kemudian dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan rumus $Y = a + bx$

Tabel 11. Nilai IC_{50}

No	Larutan uji	Nilai IC_{50} (ppm)
1	Fraksi kloroform	81,639
2	Fraksi etil asetat	75,705
3	Fraksi air	73,464

Fraksi kloroform memiliki nilai IC_{50} sebesar 81,639 ppm artinya fraksi kloroform mempunyai aktivitas antioksidan terlemah jika dibanding dengan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat sebesar 75,705 ppm dan fraksi air sebesar 73,464 serta pada pembandingan vitamin C sebesar 3,9986 ppm.

Akan tetapi jika di lihat dari nilai IC_{50} sampel fraksi kloroform memiliki aktivitas antioksidan yg kuat (nilai IC_{50} antara 50-100 ppm). Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang paling besar jika dibanding dengan aktivitas antioksidan fraksi kloroform dengan nilai IC_{50} sebesar 75,705 ppm artinya fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, hal ini dikarenakan pada fraksi etil asetat terdapat senyawa flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkap radikal. Fraksi air mempunyai nilai IC_{50} sebesar 73,464 ppm, artinya aktivitas antioksidan fraksi air lebih besar jika dibandingkan aktivitas antioksidan fraksi kloroform. Hal ini disebabkan karena dalam fraksi air terdapat senyawa triterpenoid, tanin, saponin, dan flavonoid yang mampu menangkap radikal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian sampel antioksidan kulit buah naga merah dapat disimpulkan sebagai berikut: Aktivitas antioksidan dari fraksi kloroform adalah 81,639 ppm, fraksi etil asetat adalah 75,705 ppm dan fraksi air adalah 73,464 ppm dari kulit Buah Naga Merah menggunakan metode DPPH. Fraksi air dari ekstrak kulit buah naga merah mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai IC_{50} adalah 73,464 ppm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada tim peneliti dan pihak-pihak yang terlibat hingga naskah ini dipublikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Alan, Miller, N.D., 1996, *Antioxidant flavonoid structural usage alternative medical Review* I (2), 103-111.
- [2] Budilaksono, et al., 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei britton dan rose*) Menggunakan Metode DPPH(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Universitas Tanjungpura.
- [3] Citramukti, I., (2008), Ekstraksi dan Uji Kualitas Pigmen Antosianin Pada Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*), (Kajian Masa Simpan Buah dan Penggunaan Jenis Pelarut), Skripsi Jurusan THP Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- [4] Ketut, N., dkk. 2015. Aktivitas Antioksidan Antosianin dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) dan Analisis Kadar Totalnya. Jurnal.
- [5] Mitasari, A. 2012. "Uji Aktivitas Ekstrak Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus Britton & Rose*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Defemil-2-PikrilHidrazil)". Skripsi.Universitas Tanjungpura: Program studi farmasi Universitas Tanjungpura.
- [6] Mandal S, Yadav S, Nema R. *Antioxidants: A Review. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2009: 102-104
- [7] Nurliyana R, Syed ZI, Mustapha SK, Aisyah MR, Kamarul RK. 2010. *Antioxidant Study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: a Comparative Study. International Food Research Journal*, 17: 367-375.
- [8] Pujiharjo, Danank. 2010. "Kajian Aktivitas Antioksidan Sirup Buah Naga Kulit Merah Daging Putih (*Hylocereus undatus*)". Skripsi S-1. Solo: Universitas Sebelas Maret.
- [9] Rekna, W.2011. Pemanfaatan Kulit Buah Naga Super Merah Sebagai Antioksidan dan Pewarna Alami Pada Pembuatan Jelly. Jurnal Teknologi Pangan Vol.2 No.1
- [10] Zainoldin, K. D., and Baba, A.S., 2012, *The Effect of Hylocereus polyrhizus and Hylocereus undatus on Physicochemical, Proteolysis, and Antioxidant Activity in Yogurt*, J. Bio. Life Sci. 8, 93-98.