

**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* (Haw.)
Britt. & Rose)
(Antioxidant Activity Assay of Dragon Fruit Extract (*Hylocereus undatus*
(Haw.) Britt. & Rose)**

Evi Umayah U. dan Moch. Amrun H.
Staf Pengajar Program Studi Farmasi Universitas Jember

ABSTRACT

Dragon fruit (Hylocereus undatus (Haw.) Britt. & Rose) familia Cactaceae has been cultivated for its beneficial properties on lowering both blood's cholesterol and glucose level which were related with free radical-antioxidant mechanism. The fruits content antioxidants compound such as vitamin C, caroten, betacyanin pigments dan phenol; therefore it is necessary to determine its antioxidant activity. In this study, the antioxidant activity was performed on both methanolic and water extracts of dragon fruit (planted in Rembangan-Jember area) using diphenyl picryl hydrazil hydrate (DPPH) as stable free radical in spectrophotometric methods. The result showed that both methanolic and water extract exhibits DPPH free radical scavenger as an antioxidant activity with EC₅₀ value sequentially 1.08 % and 2.98 %.

Keywords : dragon fruit, Hylocereus undatus (Haw.) Britt. & Rose, free radical, DPPH, EC₅₀.

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari, kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Pietta, 1999; Wijaya, 1996). Reaksi ini sering disebut sebagai oksidasi.

Oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak dan DNA sel dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker (Leong dan Shui, 2001; Pietta 1999). Manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidan yang berasal dari dalam tubuh ataupun dari luar berupa diet. Pertahanan dari dalam tubuh seperti enzim-enzim peroksidase, katalase, glutathione, histidin-peptidin seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk (Pietta, 1999). Pada kondisi ini manusia membutuhkan senyawa antioksidan yang diperoleh dari makanan.

Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa anti oksidan seperti vitamin C,

E, A, karoten, asam-asam fenol, polifenol dan flavonoid (Prakash 2001, Okawa *et al.*, 2001). Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap dan menstabilkan radikal bebas (Prakash, 2001).

Buah naga atau *Dragon fruit (Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose; famili Cactaceae) saat ini banyak dikembangkan di Indonesia. Buah yang berasal dari Meksiko ini berbeda dengan famili Cactaceae lainnya, yakni memiliki rasa yang manis dan segar. Kekhasan lain dari tanaman ini adalah pada tiap nodus batang terdapat duri. Bunga mekar pada malam hari dan layu pada pagi hari (*night blooming*). Terdapat empat jenis buah naga yakni buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*), buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*), buah naga daging super merah (*Hylocereus costaricensis*) dan buah naga kuning daging putih (*Selenicereus megalanthus*). Di Indonesia yang banyak dikembangkan adalah buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*). Buah naga yang digunakan untuk menurunkan kolesterol dan gula darah ini memiliki kandungan protein 0,48-0,5 %, karbohidrat 4,33-4,98, lemak 0,17-0,18, dan vitamin seperti karoten, thiamin, riboflavin, niasin dan asam askorbat (Morton, 1987).

Dengan kandungan vitamin C dan karoten yang dimilikinya yang bersifat antioksidan, maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol buah naga yang tumbuh di daerah Rembangan Jember sebagai skrining zat aktif.

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH sebagai radikal bebas yang stabil. Metode aktivitas antiradikal bebas DPPH merupakan metode terpilih untuk menapis aktivitas antioksidan bahan alam (Molyneux, 2004; Luo *et al.*, 2002; Leong dan Shui, 2002; Okawa *et al.*, 2001; Santosa *et al.*, 1998). Penelitian akan dilanjutkan dengan isolasi zat aktif yang dipandu oleh uji aktivitas (*activity test guided isolation*).

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* yang bertujuan untuk menguji aktivitas antiradikal bebas DPPH sebagai kapasitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol buah naga dari daerah Rembangan-Jember. Sebagai variabel tergantung adalah peredaman radikal bebas DPPH dan sebagai variabel bebas adalah ekstrak air dan ekstrak metanol dalam berbagai konsentrasi.

Bahan dan Alat

Bahan penelitian adalah buah naga (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose) yang diperoleh dari daerah Rembangan, Jember; Difenilpicril Hidrazil Hidrat (DPPH) ex. Sigma; Pelarut untuk Spektrofotometer ex. E.Merck; Freeze dryer Heidolph; ultrasonicator; rotavapor Heidolph; Spektrofotometer Hitachi U1800.

Pembuatan Serbuk Buah

Ditimbang 1 kg daging buah naga segar dan dikeringkan dengan teknik *freeze drying*. Bahan yang telah kering kemudian ditimbang dengan timbangan analitik dan disimpan dalam *freezer*.

Pembuatan Ekstrak dan Larutan Uji

Ditimbang sejumlah serbuk buah naga yang setara dengan 250 g buah naga segar, kemudian diekstraksi dengan air menggunakan *ultrasonicator* selama 15 menit. Filtrat dikumpulkan. Ekstraksi dilakukan 2-3 kali. Ekstrak dikeringkan dengan *freeze drying* dan dicatat beratnya sebagai ekstrak air. Residu dari

ekstrak air diekstraksi dengan metanol menggunakan ultrasonicator selama 15 menit. Filtrat dikumpulkan. Ekstraksi dilakukan 2-3 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapor*. Larutkan kembali ekstrak tersebut dengan metanol dan diuapkan kembali di lemari asam hingga kering dan dicatat beratnya sebagai ekstrak metanol. Larutkan masing-masing ekstrak ke dalam pelarutnya untuk membuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi.

Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang DPPH kristal untuk dilarutkan dalam etanol tepat pada konsentrasi 0,004 % untuk segera digunakan dan dijaga temperatur rendah terlindung cahaya.

Pengujian Antiradikal Bebas DPPH

Contoh cara kerja pengujian antiradikal bebas DPPH (Santosa *et al.*, 1998; Dyatmiko dan Santosa, 1998) sebagai berikut.

1. Siapkan larutan DPPH 0,004 %. Pipet 600 μ l etil asetat ke dalam kuvet, tambahkan larutan DPPH ad 3 ml, aduk rata dengan pipet dan segera dibuat spektra sinar tampak (360-720 nm). Dicatat absorbansi pada 497-517-537 nm.
2. Pengukuran antiradikal bebas untuk bahan uji : pipet 600 μ l larutan uji ke dalam kuvet, tambahkan (reaksikan) larutan DPPH ad 3 ml, aduk rata dengan pipet, segera dibuat spektra sinar tampak (360-720 nm) di kertas yang sama untuk dianalisis apakah masih ada jelas kurva puncak normal (sigmoid) antara 497-537 nm. Pada menit ke-5 setelah pereaksian dibaca absorbansi pada 497-517-537 nm dan sekali lagi pada menit ke-60.
3. Perhitungan kapasitas antiradikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah DPPH, yaitu puncak 517 nm dengan perhitungan seperti persamaan 1. sedangkan kapasitas antiradikal bebas sebagai prosen peredaman absorbansi pada puncak 517 nm menggunakan perhitungan seperti pada persamaan 2.

$$\text{Absorban hitung 517 nm} = A_{517} - \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

.....(1)

$$\% \text{ peredaman DPPH} = 1 - \frac{\text{A hitung bahan uji}}{\text{A hitung DPPH}} \times 100 \%$$

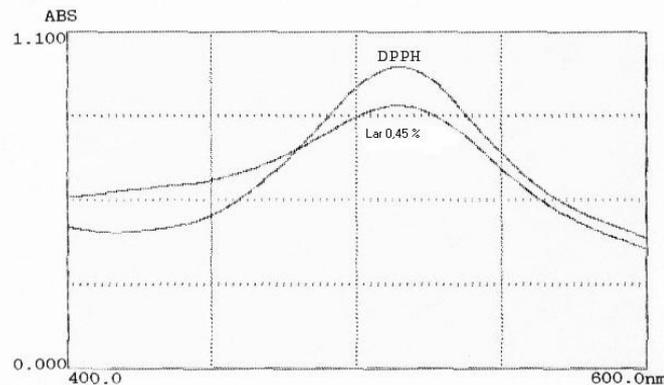
.....(2)

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya.

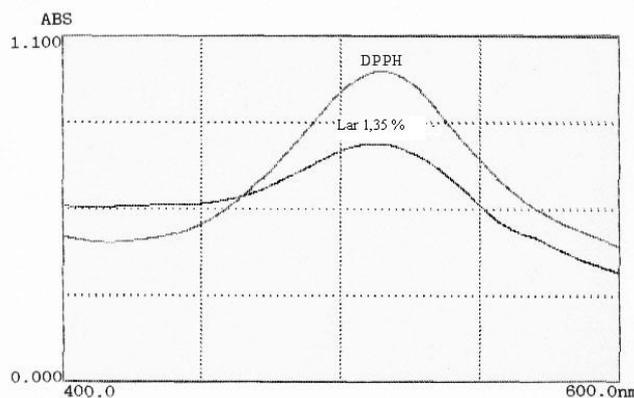
Selanjutnya dibuat kurva antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman DPPH dan ditentukan harga EC₅₀, yakni konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50 %. Harga EC₅₀ umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN
Profil Spektra Sinar Tampak Larutan DPPH Dan Ekstrak

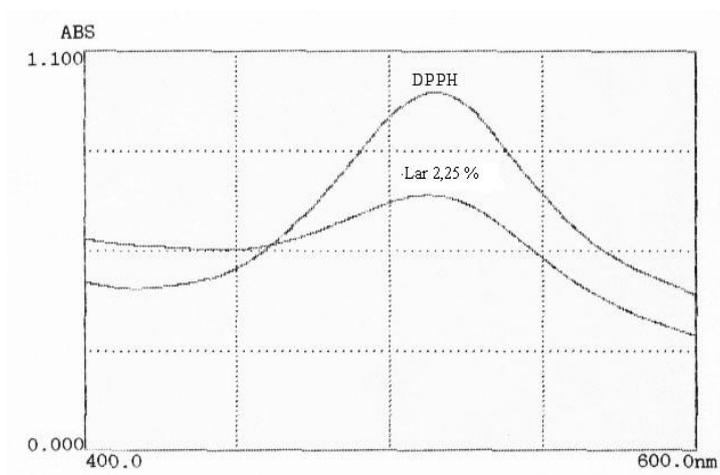
Pelaksanaan uji antiradikal bebas diawali dengan pembuatan spektra sinar tampak larutan DPPH dan ekstrak sampel pada rentang 400-600 nm untuk melihat ada tidaknya kurva normal (*sigmoid*) pada daerah puncak antara DPPH dan ekstrak sampel. Profil spektra sinar tampak ekstrak air dan metanol berbagai kadar dengan larutan DPPH dapat dilihat pada Gambar 1 sampai dengan Gambar 8.



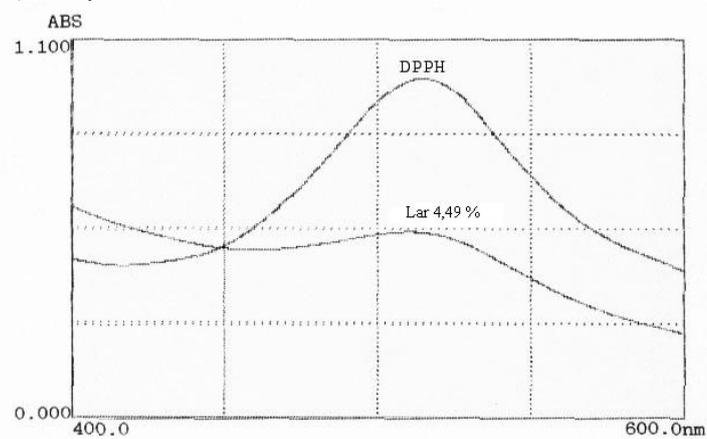
Gambar 1. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan ekstrak air 0,45 % pada menit ke-5



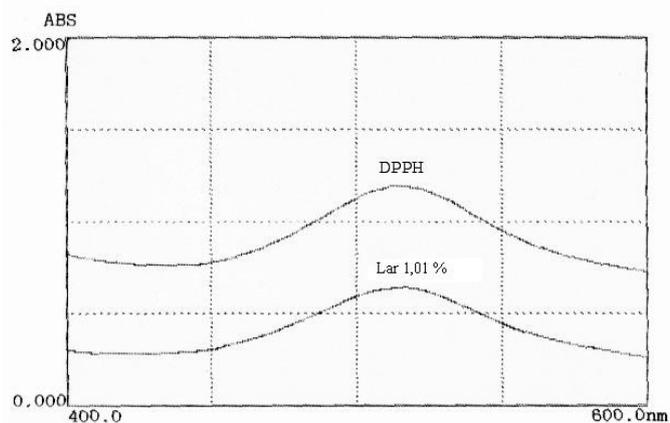
Gambar 2. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan ekstrak air 1,35 % pada menit ke-5



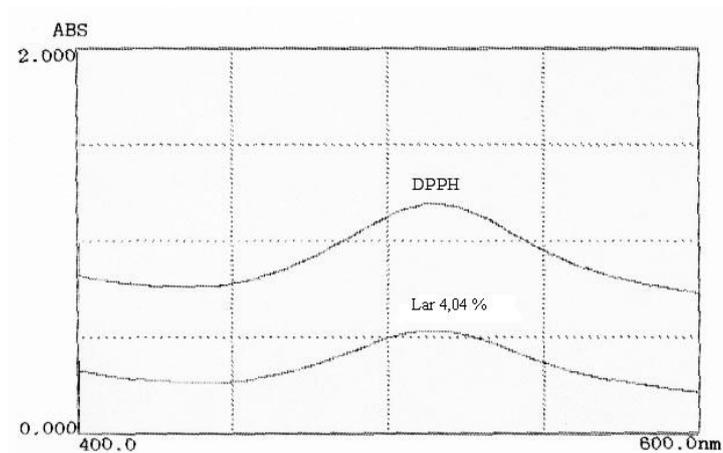
Gambar 3. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan ekstrak air 2,25 % pada menit ke-5



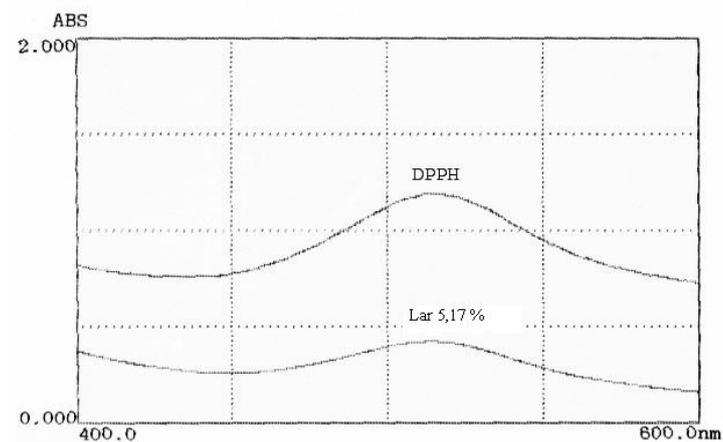
Gambar 4. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan ekstrak air 4,49 % pada menit ke-5



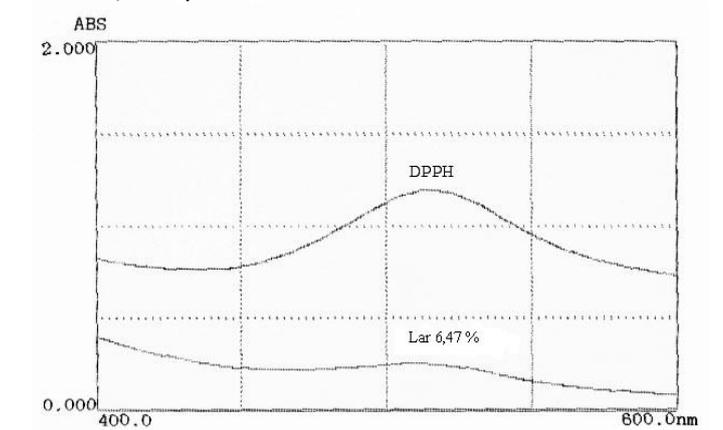
Gambar 5. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan Ekstrak Metanol 1,01 % pada menit ke-5



Gambar 6. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan Ekstrak Metanol 4,04 % pada menit ke-5



Gambar 7. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan Ekstrak Metanol 5,17 % pada menit ke-5



Gambar 8. Profil Spektra sinar tampak larutan DPPH 0,004 % dan Ekstrak Metanol 6,47 % pada menit ke-5

Berdasarkan profil spektra sinar tampak, pada kedua ekstrak (metanol dan air) masih menunjukkan kurva normal (sigmoid) pada daerah puncak (517 nm), meskipun pada ekstrak air ada sedikit gangguan pada daerah 400-470 nm akan tetapi pada panjang gelombang 470 nm keatas tidak nampak gangguan serapan (kurva normal). Gangguan tersebut kemungkinan disebabkan oleh monosakarida yang terlarut di dalam ekstrak air sedang pada ekstrak metanol tidak nampak karena monosakarida tidak larut dalam pelarut metanol.

Penentuan Aktivitas Antiradikal Bebas

Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak metanol dan air dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Berdasarkan data hasil pengujian aktivitas antiradikal bebas, menunjukkan bahwa ekstrak air dengan konsentrasi 4,49 % (setara dengan

15,4 g buah naga segar) mempunyai kapasitas peredaman terbesar yakni 87,11 % pada menit ke-5 dan 90,83 % pada menit ke-30 (tabel 1). Untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitas ekstrak air maka perlu diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 0,45 %; 1,35 % 2,25 % dan 4,49 %.

Pada pengujian aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol dengan konsentrasi 64,68 % (setara dengan 49,6 g buah naga segar) ternyata mampu meredam secara total larutan DPPH 0,004% sehingga perlu diencerkan menjadi beberapa konsentrasi untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Beberapa konsentrasi yang digunakan untuk pengujian yaitu 1,01 %; 4,04 %; 5,17 % dan 6,47 %. Setelah diencerkan, aktivitas peredaman terbesar diberikan oleh ekstrak metanol 6,47 % dengan kapasitas peredaman 79,18 % pada menit ke-5 dan 90,46 pada menit ke-30.

Tabel 1. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak air

t (menit)	Lar. uji (%b/v)	A ₄₉₇	A ₅₁₇	A ₅₃₇	A hitung	% peredaman
5	DPPH	0,915	1,037	0,887	0,136	-
	1,01	0,616	0,694	0,593	0,089	34,19
	4,04	0,450	0,490	0,414	0,058	57,35
	5,17	0,367	0,391	0,330	0,043	68,75
	6,47	0,296	0,304	0,255	0,029	79,04
30	DPPH	0,953	1,081	0,926	0,142	-
	1,01	0,632	0,711	0,608	0,091	35,69
	4,04	0,401	0,429	0,361	0,048	66,08
	5,17	0,303	0,312	0,260	0,031	78,45
	6,47	0,212	0,202	0,165	0,014	90,46

Tabel 2. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak metanol

t (menit)	Lar. uji (%b/v)	A ₄₉₇	A ₅₁₇	A ₅₃₇	A hitung	% peredaman
5	DPPH	0,735	0,825	0,690	0,113	-
	0,45	0,650	0,713	0,625	0,076	32,89
	1,35	0,538	0,592	0,519	0,064	43,56
	2,25	0,477	0,517	0,448	0,052	54,22
	4,49	0,296	0,279	0,233	0,015	87,11
30	DPPH	0,776	0,863	0,721	0,115	-
	0,45	0,701	0,757	0,662	0,076	34,06
	1,35	0,535	0,580	0,505	0,060	47,60
	2,25	0,435	0,459	0,398	0,043	62,88
	4,49	0,264	0,24	0,195	0,011	90,83

Penentuan EC₅₀

Perhitungan harga EC₅₀ dilakukan dengan cara menginterpolasikan persen peredaman (50%) ke dalam kurva hubungan konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman. Dari data antara konsentrasi ekstrak air dan metanol dengan persen peredaman diperoleh persamaan garis regresi dibawah ini.

Ekstrak air:

$$Y = 13,50 X + 25,65$$

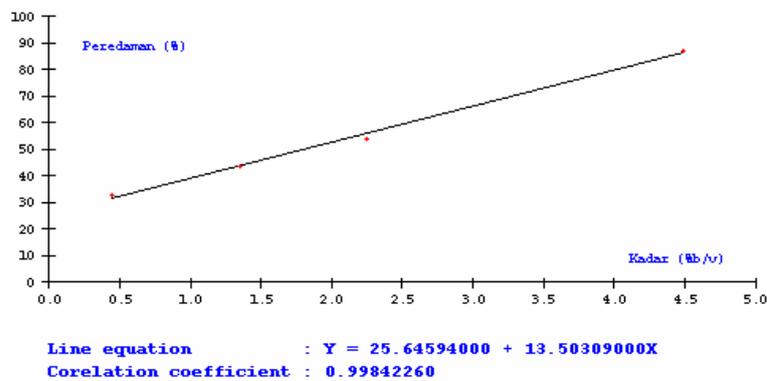
r hitung = 0,998

Ekstrak metanol :

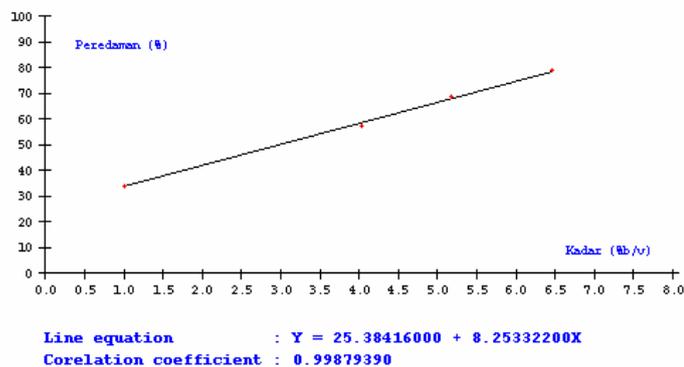
$$Y = 8,25 X + 25,38$$

r hitung = 0,998

Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan adanya hubungan linier antara konsentrasi dengan persen peredaman pada ekstrak air dan metanol. Kurva hubungan konsentrasi dengan persen peredaman dapat dilihat pada gambar 11 dan gambar 12. Harga EC₅₀ dari interpolasi % peredaman kedalam kurva pada ekstrak air adalah 1,80 %, sedangkan ekstrak metanol EC₅₀ 2,98 %.



Gambar 9. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak air dengan % peredaman pada menit ke-5



Gambar 12. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak metanol dengan % peredaman pada menit ke-5

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak buah naga ditentukan oleh berbagai senyawa antioksidan yang terdapat di dalam buah naga. Ekstrak air cenderung memiliki aktivitas peredaman DPPH lebih besar daripada ekstrak metanol, hal ini disebabkan karena kandungan vitamin C yang mudah larut ke dalam air dibandingkan dalam metanol. Sedangkan pada ekstrak metanol kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa fenol dan betasianin yang lebih mudah terpartisi ke dalam metanol daripada dalam air. Untuk mengetahui senyawa aktif yang memberikan aktivitas antioksidan perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa skrining dan isolasi senyawa aktif yang dipandu oleh uji aktivitas (*activity test guided isolation*).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian antiradikal bebas DPPH ekstrak metanol dan ekstrak air buah naga dapat disimpulkan bahwa : ekstrak air dengan konsentrasi 4,49 % (setara dengan 3,08 g buah naga segar) mempunyai kapasitas peredaman terbesar yakni 87,11 % pada menit ke-5 dan 90,83 % pada menit ke-30; sedangkan ekstrak metanol 6,47 % (setara dengan 4,44 g buah naga segar) mempunyai aktivitas peredaman 79,18 % pada menit ke-5 dan 90,46 pada menit ke-30. Harga EC₅₀ ekstrak air 1,08%

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan yakni fraksinasi/separasi senyawa antioksidan yang dipandu uji aktivitas antiradikal bebas DPPH. Pengujian dapat dilanjutkan dalam sistem biologis, misalnya pada homogenat hepar dengan induksi t-butil hidroperoksida.

DAFTAR PUSTAKA

- Dyatmiko W., Santosa, M.H., 1998. *Aktivitas Antiradikal Bebas Difenilpicrylhidrazil (DPPH) Sari Air Curcuma aeruginosa* Roxb., Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIV, Bogor.
- Leong L.P., Shui, G., 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry* **76** : 69-75.
- Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol.*, **26** (2) : 211-219.
- Morton J., 1987. *Strawberry Pear*, in : Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida, p. 347-348.
- Okawa M., Kinjo, J., Nohara, T., Ono, M., 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants, *Biol. Pharm. Bull* **24** (10), 1202-1205.
- Pietta P-G., 1999. Flavonoids as Antioxidants, *Reviews, J. Nat. Prod.*, **63**, 1035-1042.
- Prakash A., 2001. Antioxidant Activity, *Medallion Laboratories Analytical Progress*, Vol. **19** (2).
- Sahelian R., 2002. *A Guide to Natural Supplements That Enhance Your Mind, Memory and Mood*, Chapter 11, St. Martin's Griffin, New York.
- Santosa H.M., Budiati, A.S., Fuad, A., Kusumawati, I., 1998. *Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpicrylhidrazil (DPPH) Ekstrak Graptophyllum pictum (L)*. *Griff. Secara Spektrofotometri*, Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIII, Malang.
- USDA, NRCS. 2004. The Plants Database, Version 3.5 (<http://plants.usda.gov>). National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA.
- Wijaya A., 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, *Forum Diagnosticum, Prodia Diagnostic Educational Services*, No. **1** : 1-12.
- Wybraneic S., Mizrahi Y., 2002. Fruit flesh betacyanin pigments in hylocereus cacti., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Oct 9; **50**(21):6086-9.
- Zee F., Yen, C.R., Nishina, M., 2004. *Pitaya (Dragon Fruit, Strawberry Fruit)*, College of Tropical Agricultural and Human Resource University of Hawaii.F&N 9.