

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR VITAMIN C EKSTRAK BUAH NAGA MERAH KEUNGUAN (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Zikra Azizah¹⁾, Zulharmita¹⁾, Eki Zulfian¹⁾

¹⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang
Email: Ekizulfian@gmail.com

ABSTRACT

The research on antioxidant activity test and the determination of the degree of vitamin C from fruit extracts purplish red dragon (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) has been done. On this research fresh dragon fruit meat mashed with blender and maceration method used ethanol solvent 96% with three repetitions. The results of maceration evaporated with rotary evaporator until viscous extract. The test of free radical DPPH deterrent and the determination the degree of vitamin C in extracts purplish red dragon fruit (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) using vitamin C as a comparison. On the antioxidant activity test, extract was made with various concentration i.e. 1000 μ g/mL, 1500 μ g/mL, 2000 μ g/mL, 2500 μ g/mL, 3000 μ g/mL, obtained the percentage of antioxidant activity was 28.57 %, 34.67 %, 41.81 %, 46.13 %, and 51.78 %. On the determination of the degree of vitamin C extract, the extract is made with concentration 1000 μ g/mL used spectrophotometer UV-Vis showed that the degree of vitamin C in extracts purplish red dragon fruit (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) was 24.79 mg/100 g dragon fruit.

Keywords : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Spectrophotometer UV-Vis, Antioxidants, Dragon Fruits.

ABSTRAK

Penelitian tentang uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar vitamin C dari ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) telah dilakukan. Pada penelitian ini daging buah naga segar dihaluskan dengan blender dan dilakukan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dilakukan tiga kali pengulangan. Hasil maserasi diuapkan menggunakan rotari evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental. Pada uji penangkal radikal bebas DPPH dan penetapan kadar vitamin C dalam ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) menggunakan vitamin C sebagai pembanding. Pada uji aktivitas antioksidan larutan ekstrak dibuat berbagai konsentrasi yaitu 1000 μ g/mL, 1500 μ g/mL, 2000 μ g/mL, 2500 μ g/mL, 3000 μ g/mL didapatkan persentase aktivitas antioksidan 28,57 %, 34,67 %, 41,81 %, 46,13 %, dan 51,78 %. Pada penetapan kadar vitamin C dalam ekstrak, larutan ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 μ g/mL yang di tentukan secara spektrofotometri UV-Vis, menunjukan bahwa kadar vitamin C dalam ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) yaitu 24,79 mg/100 g buah naga.

Kata Kunci : 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil, Spektrofotometer UV-Vis, Antioksidan, Buah Naga.

PENDAHULUAN

Bidang kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas (*free radical*) dan antioksidan. Hal ini disebabkan karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Molekul oksigen sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena memberikan energi pada proses metabolisme dan respirasi. Namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan

kondisi degeneratif, seperti penuaan, artritis, kanker, dan lain-lain (Winarsi, 2007).

Radikal bebas adalah molekul atau bagian molekul yang tidak utuh lagi karena sebagian telah pecah atau melepaskan diri. Bagian yang pecah atau melepaskan diri ini melekat pada molekul lain dan mengubah struktur atau fungsi molekul yang bersangkutan. Oksigen bersifat sangat reaktif, dan oksidatif dari protein, lemak, dan hidrat arang, dan unsur lain dalam tubuh, akan menghasilkan radikal bebas. Dalam proses menua,

kecepatan unsur radikal bebas ini bertambah, melebihi kecepatan perbaikan atau pemulihannya (Tambayong, 1999).

Tumbuh-tumbuhan yang terdapat di alam telah lama diakui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Pada sistem biologis tumbuhan, oksigen dapat mengandung radikal bebas yang merupakan salah satu agen penyebab gangguan kronis. Kandungan biokimia dari tumbuhan digunakan untuk melindungi antioksidan alami yang terdapat didalam sel-sel organisme (Mensor *et al.*, 2001).

Antioksidan adalah molekul yang dapat dengan aman berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum molekul penting rusak. Ada beberapa sistem enzim endogen dan zat dalam sel yang mengikat radikal bebas. Sel juga dapat mencapai antioksidan melalui sirkulasi setelah mengkonsumsi minuman dan makanan kaya antioksidan (Panglossi, 2006).

Hasil dari penelitian *USDA/ARS Citrus & Subtropical Lab dan Jurnal of Agricultural and Food Chemistry* tahun 2006, bahwa buah naga merah dan putih memiliki potensi antioksidan, Vitamin C dan karotenoid yang terkandung dalam buah naga merupakan sumber antioksidan yang dapat berinteraksi dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Ide, 2009).

Pada penelitian ini digunakan metode maserasi dan spektrofotometri UV-Vis, dalam pengukuran daya antioksidan dan penetapan kadar vitamin C pada buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) digunakan vitamin C sebagai pembanding. Buah diambillangsung dari perkebunan daerah Kamang Magek Bukittinggi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

A. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (PG Instruments T70), timbangan analitik (DENVER

INSTRUMENT), corong (IWAKI Pyrex®), beaker glass 200 mL (IWAKI Pyrex®), gelas ukur 250 mL (IWAKI Pyrex®), labu ukur 100 mL (IWAKI Pyrex®), labu ukur 10 mL (IWAKI Pyrex®), Blender (Philips), Pipet volume (IWAKI Pyrex®), rotary vacuum evaporator, kaca arloji, tabung reaksi (IWAKI Pyrex®), bola hisap, spatel, pipet tetes.

B. Bahan

Bahan yang digunakan adalah buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose), etanol 96 % (Brataco), metanol (Brataco), air suling, DPPH 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma Aldrich).

Cara Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) diambillangsung dari perkebunan daerah Kamang Magek Bukittinggi. Daging buah diblender hingga halus timbang sebanyak 100 g, maserasi menggunakan etanol 96 % dan maserat dipekatkan menggunakan rotari evaporator.

2. Pembuatan Larutan

Larutan Ekstrak Buah Naga Merah Keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose)

Larutan induk dengan konsentrasi 4000 µg/mL dibuat dengan cara ditimbang ekstrak etanol buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) sebanyak 400 mg dan dilarutkan dengan etanol 96 % sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL (Brand-Wiliamset *al.*, 1995). Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 1000 µg/mL, 1500 µg/mL, 2000 µg/mL, 2500 µg/mL, 3000 µg/mL.

Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C Standar

Larutan induk dengan konsentrasi 100 µg/mL dibuat dengan cara ditimbang

vitamin C sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan aquadest sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL, 12 µg/mL, 14 µg/mL.

Pembuatan Larutan DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL, dengan cara ditimbang DPPH sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 100 mL metanol labu ukur (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi Vitamin C Standar

Timbang vitamin C sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan 100 mL aquadest, sehingga di dapat larutan vitamin C konsentrasi 100 µg/mL, dari larutan induk 100 µg/mL dibuat variasi konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL. Dengan cara pipet larutan induk sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 10 mL kemudian dicukupkan sampai tanda batas labu ukur 10 mL. absorbansi dari berbagai konsentrasi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3. Serapan Maksimum

Pengukuran Serapan Maksimum DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Pengujian dilakukan dengan cara dipipet 4 mL larutan DPPH konsentrasi 25 µg/mL, Kemudian didiamkan pada suhu 37° C pada ruangan gelap (terlindung dari sinar matahari). Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Pengukuran Serapan Maksimum Vitamin C Standar

Pengujian dilakukan dengan cara dipipet 4 mL larutan vitamin C standar 6 µg/mL, kemudian diukur larutan sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm.

4. Pengukuran Daya Antioksidan **Pengukuran Daya Antioksidan Ekstrak Buah Naga Merah Keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose)**

Pengujian dilakukan dengan cara dipipet 0,5 mL larutan sampel ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) dari berbagai konsentrasi 1000 µg/mL, 1500 µg/mL, 2000 µg/mL, 2500 µg/mL, 3000 µg/mL. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 mL larutan radikal bebas DPPH, lalu divortex dan didiamkan pada suhu ruang dan gelap, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Pengukuran Daya Antioksidan Pembanding Vitamin C Standar

Pengujian dilakukan dengan cara dipipet 0,5 mL larutan sampel ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) dari berbagai konsentrasi 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 12 µg/mL, 14 µg/mL. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 mL larutan radikal bebas DPPH, lalu divortex dan diinkubasi pada suhu ruang dan gelap, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 (Brand-Williams *et al.*, 1995).

5. Penetapan Kadar Vitamin C pada Ekstrak Buah Naga Merah Keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose)

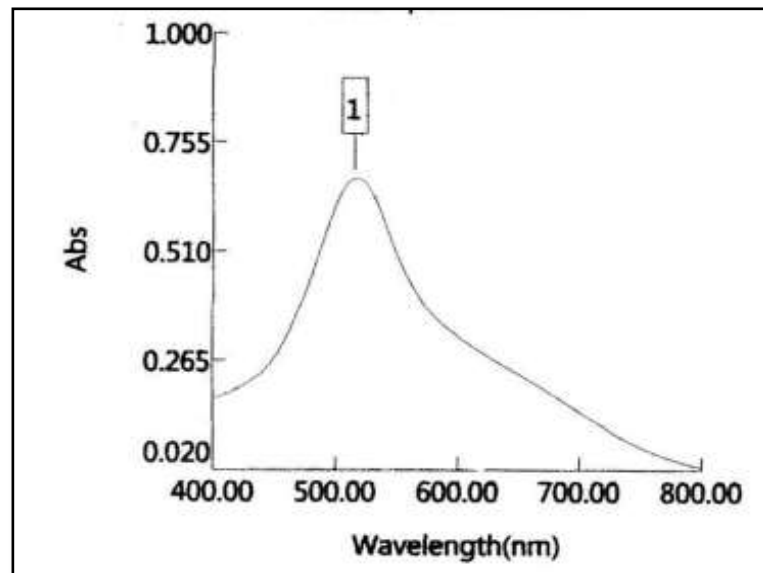
Timbang 100 mg ekstrak buah naga larutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas, didapat konsentrasi 1000 µg/mL. Kemudian ukur absorbansi larutan ekstrak buah naga 1000 µg/mL pada kurva kalibrasi vitamin C standar dilakukan 3 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan dan

penetapan kadar vitamin C ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) secara spektrofotometri uv-vis didapatkan hasil sebagai berikut :

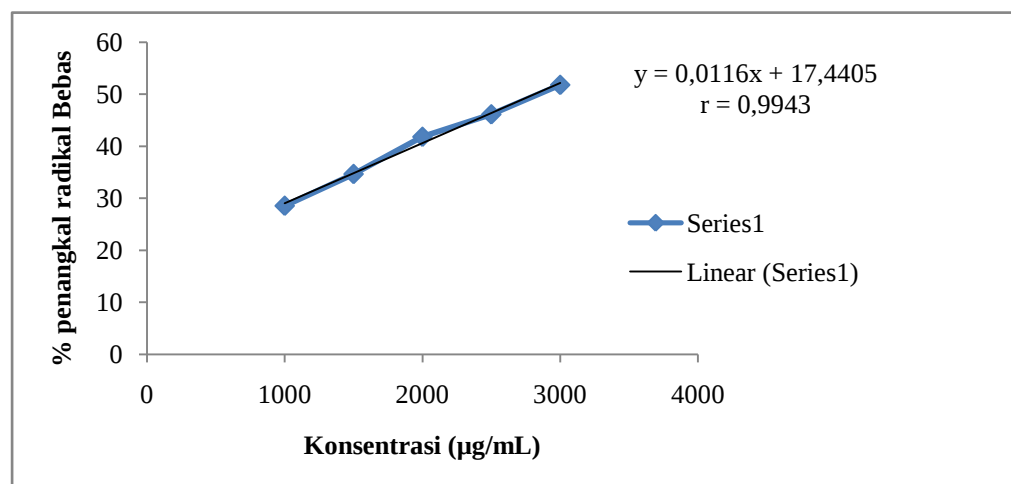
Pada penentuan serapan maksimum panjang gelombang DPPH 25 µg/ mL dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400-800 nm didapatkan serapan maksimum 516 nm yang dapat dilihat pada Gambar 1 :



Gambar 1. Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) 25 µg/ml dengan absorban 0,672 dan panjang gelombang 516 nm.

Pengukuran daya antioksidan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose), ekstrak diencerkan menggunakan etanol 96 %, dibuat berbagai konsentrasi yaitu 1000

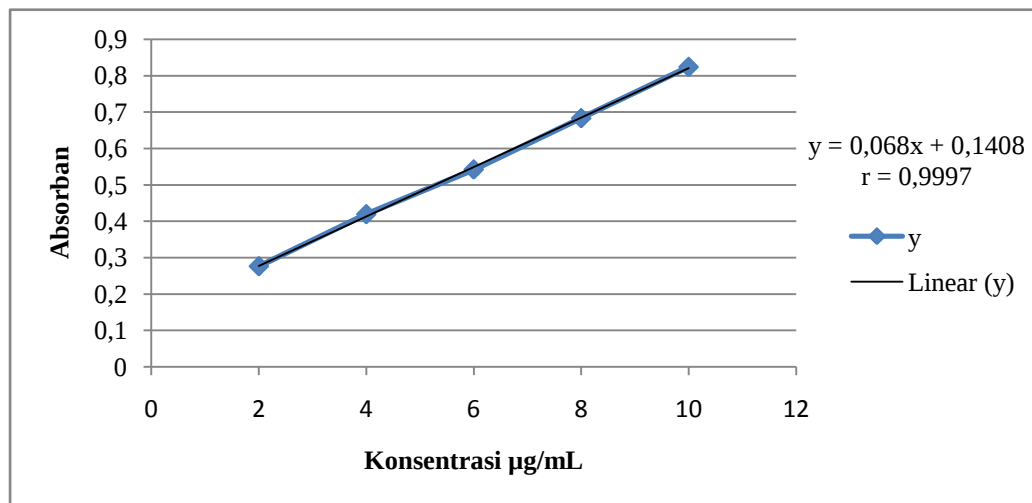
µg/mL, 1500 µg/mL, 2000 µg/mL, 2500 µg/mL, 3000 µg/mL.



Gambar 2. Kurva % aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) pada beberapa konsentrasi.

Penetapan kadar vitamin C ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei*

(Hook.) Britton & Rose) menggunakan pembandingan vitamin C.



Gambar 3. Kurva % aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) pada beberapa konsentrasi.

DPPH dibuat dengan konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan larutan ekstrak, diinkubasi selama 30 menit, ukur absorbansi menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Pembuatan kurva kalibrasi larutan vitamin C dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang diperdagangkan, stabil pada suhu kamar dengan bentuk serbuk ungu tua, dan cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara. Metode DPPH merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan reaksi kimia (Molyneux, 2004). Metode ini dipilih karena merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dan waktu yang singkat (Keinanen & Ritta, 1996). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menimbulkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Tingkat perubahan warna yang

mengindikasikan potensi senyawa antioksidan dalam kemampuannya mendonorkan atom hidrogen (Mosquera *et al.*, 2007).

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose), dibuat larutan ekstrak berbagai konsentrasi, yaitu 1000 $\mu\text{g/mL}$, 1500 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$, 2500 $\mu\text{g/mL}$, 3000 $\mu\text{g/mL}$, masing-masing konsentrasi dipipet 0,5 mL dicampurkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi larutan DPPH 3,5 mL. Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) konsentrasi larutan 3000 $\mu\text{g/mL}$ sudah mencapai IC₅₀.

Pada pengujian ini vitamin C digunakan sebagai pembandingan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH adalah vitamin C standar. Pada pengujian aktivitas antioksidan vitamin C dibuat larutan berbagai konsentrasi yaitu 6 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 12 $\mu\text{g/mL}$, 14 $\mu\text{g/mL}$, masing-masing konsentrasi dipipet 0,5 mL dicampurkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi larutan DPPH 3,5

mL, dimana pada pengujian ini konsentrasi larutan 10 µg/mL sudah mencapai IC₅₀.

Dalam pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) digunakan vitamin C sebagai pembanding. Aktivitas antioksidan

dari vitamin C ditunjukkan dari IC₅₀nya, yaitu 9,627 µg/mL, sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) ditunjukkan nilai IC₅₀nya yaitu 2806,85 µg/mL.

Tabel 1. Hasil pengukuran absorban DPPH + larutan ekstrak buah naga keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) pada panjang gelombang 516 nm dan absorban 0,672 dengan spektrofotometer UV-Vis.

No	Konsentrasi ekstrak µg/mL	Absorban		% Penangkal radikal	IC ₅₀ (µg/mL)
		A1	A2		
1	1000	0,672	0,480	28,5714	2806,85
2	1500		0,439	34,6726	
3	2000		0,391	41,8154	
4	2500		0,362	46,1309	
5	3000		0,324	51,7857	

Tabel 2. Data hasil penetapan kadar vitamin C pada larutan ekstrak 1000 µg/mL secara spektrofotometri.

No	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban	Kadar vitamin C ekstrak buah naga keunguan (<i>Hylocereus lemairei</i> (Hook.) Britton & Rose)
1	1000	0,320	2,6352
2	1000	0,318	2,6058
3	1000	0,322	2,6647
Rata-rata			2,6352

Dari hasil penetapan kadar vitamin C pada ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose), didapatkan kadar vitamin C 24,79 mg/100 g buah naga

µg/mL, 1500 µg/mL, 2000 µg/mL, 2500 µg/mL, 3000 µg/mL didapatkan persen penangkal radikal bebas yaitu 28,57 %, 34,67 %, 41,81 %, 46,13 %, dan 51,78 % aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapat kesimpulan sebagai berikut:

1. Didapatkan persen aktivitas penangkal radikal bebas dari larutan ekstrak buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) berbagai konsentrasi sebagai berikut 1000

2. Didapatkan kadar total vitamin C yang diperoleh dari buah naga merah keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) yaitu dengan kadar vitamin C 24,79 mg/100 g buah naga.

DAFTAR PUSTAKA

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food science and technology*, 28, (1), 25-30.
- Ide, P. (2009). *Health secret of dragon fruits : menguak keajaiban si kaktus eksotis dalam penyembuhan penyakit*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Keinanen, M. & Ritta, J. T (1996) Effect of Sample Preparation Method on Birch (*Betula pendula* Roth) Leaf Phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 44 (9), 2724-2727.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitao, G. G., Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S. & Leitao, S. G. (2001). Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. *Phytother. Res*. 15. 127-130.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26 (2), 211–219.
- Mosquera, O. M., Corea, Y. M. & Buitrago, D. C., Nino J. (2007). Antioxidan Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodiversity, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol 102 (5), 631-634.
- Panglossi, H. T (2006) . Antioxidants: New research. New york: Nova science Publishers, Inc.
- Tambayong, J. (1999). *Patofisiologi untuk keperawatan*. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran: EGC.
- Winarsi, H. (2007). Antioksidan alami dan radikal alami. Yogyakarta: Kanisius.