

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Buah Naga Merah



Gambar 2. 1. Buah Naga Merah

Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan jurnal yang ditulis oleh Rayanti *et al* (2016), klasifikasi tanaman atau taksonomi buah naga dikelompokkan sebagai berikut :

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Anak kelas	: <i>Caryophyllidae</i>
Bangsa	: <i>Caryophyllales</i>
Famili	: <i>Cactaceae</i>
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Spesies	: <i>Hylocereus lemairei</i> (Hook.) Britton & Rose
Sinonim	: <i>Hylocereus polyrhizus</i> (F.A.C. Weber) Britton & Rose

##### 2.1.1 Definisi Buah Naga Merah

Buah naga atau dapat disebut pitaya merupakan buah tropis yang termasuk kedalam keluarga kaktus (*Cartaceae*). Ada beberapa jenis buah

naga, terutama di Indonesia buah naga yang biasa ditemui adalah buah naga merah (*Hyloceus polyrhizus*) (Nurhadiansyah, 2020). Buah naga merah merupakan buah yang kaya zat gizi dan senyawa antioksidan (Aryanta, 2022). Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) adalah buah yang memiliki rasa enak dan memiliki manfaat bagi kesehatan.

Habitat asli buah naga berasal dari negara Meksiko, Amerika Utara dan Amerika Selatan bagian utara. Namun buah naga saat ini telah dibudidayakan di Indonesia seperti di Jember, Malang, Pasuruan dan daerah lainnya (Kristanto, 2008; Putri *et al.*, 2015).

Tanaman ini berasal dari Meksiko, Amerika Tengah dan Amerika Selatan bagian utara (Colombia) (Rahmawati, 2016). Buah naga dahulu hanya dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Lebih dari seratus tahun lalu, bangsa Prancis membawa tanaman ini dari Guyana ke salah satu negara jajahannya di Asia Tenggara, Vietnam (Rayanti *et al.*, 2016).

Dari Vietnam, buah ini menyebar ke beberapa negara Asia seperti Taiwan, Filipina, Malaysia, dan Thailand. Di Indonesia, buah ini dikenal sekitar tahun 2000, diimpor beberapa importir dari Thailand. Tahun 2001 tanaman ini mulai dikembangkan di beberapa daerah Jawa timur, seperti Mojokerto, Pasuruan, Jember, dan sekitarnya (Andoko, 2012; Rayanti *et al.*, 2016).

### 2.1.2 Morfologi Tanaman Buah Naga Merah

Tanaman Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan jenis kaktus dari genus *Hylocereus* dan *Selenicereus*. Tanaman buah naga merupakan tanaman yang tumbuh menempel pada tumbuhan lain (epifit). Tanaman Buah Naga tidak memiliki daun, batangnya memiliki duri dan berlapis lilin yang merupakan ciri utama kaktus. Panjang batangnya mencapai sembilan meter, berwarna hijau, dan penampang melintang batang berbentuk segitiga (Widodo *et al.*, 2020; Sari *et al.*, 2022).

Buah naga merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah beriklim tropis kering. Pertumbuhan buah naga dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara, keadaan tanah dan curah hujan (Putri *et al.*, 2015). Tanaman buah naga lebih menyukai kondisi kering dibandingkan basah (lembab), tanaman ini dapat tumbuh baik pada tanah yang relatif kurang subur dan tahan terhadap kekurangan air (Aminah *et al.*, 2019).

Daerah tropis cocok untuk pertumbuhan tanaman buah naga karena banyak disinari matahari. Pertumbuhan tanaman buah naga memerlukan Intensitas matahari penuh yang dibutuhkan sekitar 80%, suhu udara ideal untuk tanaman buah naga berkisar 26-36°C, dengan kelembaban 70- 90%. Tumbuhan buah naga juga dapat hidup disegala kondisi, pada musim penghujan maupun kemarau (Meidayanti *et al.*, 2015; Mahargyani, 2018).

Ketinggian tempat untuk pembudidayaan buah naga merah yaitu dataran rendah sampai medium yang berkisar 0 M - 500 M dari permukaan laut. yang ideal adalah kurang dari 400 MDPL. Di daerah pada ketinggian di atas 500 MDPL, buah naga merah masih dapat tumbuh dengan baik dan berbuah, namun buahnya tidak lebat dan rasa buah kurang manis (Cahyono, 2009).

### **2.1.3 Kandungan Kulit dan Daging Buah Naga Merah**

Buah naga mempunyai manfaat bagi tubuh manusia yang sangat banyak diantaranya adalah menguatkan fungsi ginjal, tulang dan kecerdasan otak, meningkatkan ketajaman mata, mencegah kanker usus, memperkuat tulang dan gigi, mencegah diabetes melitus, menjaga kesehatan jantung, membantu menjaga kesehatan kulit, menurunkan kolesterol dan sebagai antioksidan (Aryanta, 2022).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) adalah buah yang memiliki rasa enak dan memiliki manfaat bagi kesehatan terutama mengandung senyawa antioksidan. Buah naga merah memiliki kandungan fenol, flavonoid, vitamin C, betasianin, vitamin B3, dan serat (Kristanto, 2014 dan Prakoso, 2017).

Selain daging buah, kulit buah naga juga memiliki kandungan yang bermanfaat bagi tubuh. (Putri *et al.*, 2015). Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, niasin, tiamin, piridoksin, kobalamin, karoten, fitoalbumin dan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, kuinon, tannin, monoterpen,

sekuiterpen, polifenol (Rayanti *et al.*, 2016). Kulit buah naga terdapat banyak kandungan yang bermanfaat seperti antosianin, betalain, vitamin C yang merupakan antioksidan, juga mengandung serat pangan yang salah satunya adalah pektin (Nurhadiansyah, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Nurliyana *et al.*, 2010) menyatakan bahwa di dalam 1 mg/ml kulit buah naga merah mampu menghambat  $83,48 \pm 1,02\%$  radikal bebas, sedangkan pada daging buah naga hanya mampu menghambat radikal bebas sebesar  $27,45 \pm 5,03 \%$ . Aktivitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami.

## 2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, dengan mengurangi kadar air sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama serta menghentikan reaksi enzimatik yang dapat merusak dan menurunkan mutu simplisia (Depkes RI, 1985). Umumnya pembuatan simplisia melalui beberapa tahap yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu.

Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa

bagian tumbuhan (Depkes RI, 2000). Simplisia nabati sering berasal dari seluruh bagian tumbuhan, seperti akar, kulit akar, batang, kulit batang, kayu, bagian bunga, buah dan biji.

Sebagai produk hasil pertanian membuat kandungan kimia simplisia tidak dapat dijamin selalu tetap karena adanya variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara) panen, serta proses pasca panen dan preparasi akhir. Proses pemanenan dan preparasi simplisia merupakan proses yang dapat menentukan mutu simplisia seperti komposisi senyawa kandungan, kontaminasi, dan stabilitas bahan (Endarini, 2016).

### **2.3 Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari suatu simplisia dengan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes RI, 1995). Ekstrak merupakan bahan awal yang identik sebagai bahan baku sediaan farmasi untuk diolah menjadi produk jadi.

Sebagai bahan baku suatu produk ekstrak harus memenuhi standar mutu untuk menjamin produk yang dibuat, faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak adalah faktor biologi seperti spesies tumbuhan, lokasi tumbuhan berasal, periode pemanenan tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan; dan faktor kimia seperti jenis senyawa, komposisi senyawa dalam bahan, metode beserta alat ekstraksi, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut

yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, serta kandungan pestisida (DepKes RI, 2000).

Mutu ekstrak ditinjau dari senyawa kimia yang dikandung didalamnya kandungan senyawa kimia yang terkandung berupa senyawa asli dari bahan, senyawa hasil perubahan dari senyawa asli (terjadi karena penstabilan yang sulit terhadap senyawa asli), senyawa kontaminasi (polusi atau residu dari proses ekstraksi), dan senyawa hasil interaksi kontaminasi bersama senyawa asli atau senyawa perubahan. Metode uji ekstrak dilakukan dengan uji parameter spesifik dan parameter non-spesifik (DepKes RI, 2000).

#### **2.4 Metode Ekstraksi**

Metode ekstraksi dengan penggunaan pelarut dibagi menjadi cara dingin dan cara panas. Cara dingin dapat dilakukan metode maserasi dan metode perkolasi. Sedangkan cara panas sering dilakukan dengan metode refluks dan soxhlet. Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (DepKes RI, 2000).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Susanty dan Bachmid (2016), kadar fenolik yang didapatkan pada hasil ekstraksi refluks lebih besar dibandingkan ekstraksi maserasi. Selain itu, menurut penelitian Tapalina (2022), aktivitas antioksidan yang didapat dari metode ekstraksi refluks lebih kuat dibandingkan dengan metode ekstraksi sokletasi, selain itu disebutkan metode ekstraksi panas seperti refluks dan sokletasi dapat menghasilkan

kandungan antioksidan yang tinggi. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Pemanasan membuat zat aktif terekstrak lebih banyak karena dapat meningkatkan kemampuan pelarut mengekstraksi senyawa yang tidak mudah larut (Rusdi *et al.*, 2018).

## **2.5 Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbedabeda antara spesies yang satu dan lainnya (Rasyid, 2012). Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik serangga, dan sebagai molekul khas (Pitriani, 2022).

Kelompok utama metabolit sekunder ada tiga, yaitu:

### **2.5.1 Terpen**

Terpen merupakan kelas metabolit sekunder yang terbesar, umumnya tidak larut dalam air, dan konstituen minyak atsiri (Rasyid, 2012). Terpen yang berperan melawan herbivora vertebrata adalah triterpen, saponin adalah steroid dan glikosida triterpen. Keberadaan kedua elemen yaitu larut lemak (steroid atau terpen) dan larut air (gula) di satu molekul

membuat saponin bersifat seperti sabun (berbuih setelah dikocok dengan air) (Mastuti, 2016).

### **2.5.2 Senyawa fenol**

Senyawa fenolik dibagi menjadi menjadi beberapa kelompok yaitu fenol sederhana dan asam fenolat, fenilpropanoid, flavonoid, dan tannin. Flavonoid merupakan klas terbesar pada senyawa fenolik tumbuhan, yang dibagi menjadi empat kelompok utama, yaitu: anthosianin, flavon, flavonol dan isoflavon. Flavonoid pigmen yang paling banyak terdistribusi adalah antosianin yang bertanggungjawab pada sebagian besar warna merah, pink, ungu, dan biru pada bagian-bagian tumbuhan (Pitriani, 2022).

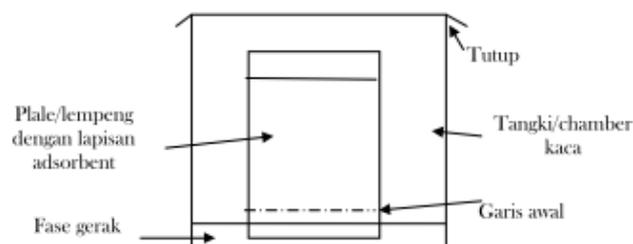
### **2.5.3 Senyawa sekunder yang mengandung nitrogen**

Metabolit sekunder yang pada strukturnya memiliki nitrogen, seperti alkaloid, sianogenik, glikosida, glukosinolat dan asam amino non protein. Alkaloid adalah produk sekunder mengandung nitrogen yang terpenting dijumpai lebih dari 15.000 senyawa di 20% tanaman berpembuluh. Atom nitrogen biasanya bagian dari cincin heterosiklik, cincin yang mengandung atom nitrogen dan karbon. Atom nitrogen bersifat proton, alkaloid bermuatan positif dan umumnya larut dalam air. Beberapa senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa yang memiliki sifat sebagai antioksidan kuat yakni flavonoid, tannin, fenol, alkaloid, dan saponin (Maulidha *et al.*, 2015).

## 2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah teknik kromatografi planar sederhana, hemat biaya, dan mudah dioperasikan yang telah digunakan di laboratorium kimia umum selama beberapa dekade untuk memisahkan senyawa kimia dan biokimia secara rutin. Secara sederhana, metode kimia dan optik digunakan untuk memvisualisasikan bintik analit pada plat KLT. Juga memiliki aplikasi luas dalam mengidentifikasi kotoran atau ketidakmurnian dalam senyawa (Rosamah, 2019).

KLT merupakan teknik pemisahan senyawa yang berdasarkan pada kepolaran suatu senyawa. Pemisahan dalam metode KLT didasarkan pada prinsip adsorpsi terhadap dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam disebut juga adsorpsi yang akan menahan senyawa tidak terlarut dalam fase gerak. Fase gerak disebut juga eluen yaitu fase yang akan melarutkan senyawa yang akan diidentifikasi. Fase diam yang digunakan dalam metode ini adalah plat KLT sedangkan, fase gerak yang digunakan adalah pelarut yang dibuat berdasarkan kepolaran senyawa yang diidentifikasi.



Gambar 2. 2. Rangkaian Alat Kromatografi Lapis Tipis

Sumber : Rosamah, 2019

KLT banyak digunakan untuk menentukan kemurnian zat karena prosesnya yang mudah dan cepat. Kemurnian zat dapat dilihat dari analisis yang dilakukan dengan mengubah pelarut beberapa kali (minimum 3 macam) dan hasil pada plat tetap menampakkan satu noda maka dapat dikatakan bahwa sampel yang ditotolkan adalah murni (Endarini, 2016). Alat yang digunakan dalam uji KLT adalah bejana terbuat dari kaca yang dilengkapi penutup, fase diam berupa plat silica gel atau selapis tipis dengan tebal  $\pm 0,25$  mm, dan pipa kapiler untuk menotolkan sampel. Penotolan sampel juga perlu diperhatikan karena sampel yang terlalu banyak ditotolkan akan menyebabkan timbulnya ekor sehingga nilai Rf menjadi tidak akurat, sampel ditotolkan kurang lebih 2  $\mu$ l (DepKes RI, 2014).

## **2.7 Radikal Bebas**

Oksidasi merupakan proses pelepasan elektron dari suatu senyawa. Sedangkan reduksi adalah proses penangkapan elektron. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor (Kesuma, 2015).

Radikal bebas adalah gugus atom yang tidak memiliki pasangan sehingga dapat bereaksi dengan sel tubuh dengan mengikat molekul sel tubuh tersebut. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah

bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh (Khotimah, 2016).

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu (Kesuma, 2015):

1. Peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol. Menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel.
2. Kerusakan DNA, Kerusakan DNA ini dapat mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel.
3. Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya cross linking protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidin.

Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh (Tristantini *et al.*, 2016). Radikal bebas dapat dinetralisir dengan antioksidan (Maitulung *et al.*, 2022).

## **2.8 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang bermanfaat untuk melindungi sel dan menjaga kesehatan dengan cara menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel (Yuliantari *et al.*, 2017). Antioksidan merupakan donor elektron yang berfungsi sebagai pengikat elektron radikal bebas (Manggala *et al.*, 2017).

Tubuh manusia sebenarnya dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya sering sekali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, sehingga membutuhkan antioksidan dari luar berupa antioksidan alami salah satunya berasal dari buah-buahan (Elfariyanti *et al.*, 2022). Kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetis menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Kesuma, 2015).

Antioksidan alami selain dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas juga mampu memperlambat terjadinya penyakit kronik yang disebabkan penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) terutama radikal hidroksil dan radikal superoksida. Antioksidan alami juga berfungsi menghambat oksidasi lipid yang menyebabkan ketengikan dan kerusakan pada sel (Wahdaningsih *et al.*, 2011).

Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Antioksidan alami yang terdapat pada sayur dan buah segar yang merupakan antioksidan terbaik, selain itu antioksidan dalam bentuk suplemen dapat dikonsumsi setiap hari. Konsumsi vitamin A, C dan E sebagai antioksidan.

## 2.9 Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Metode DPPH merupakan metode dengan menggunakan efek penangkapan radikal bebas DPPH yang prinsipnya adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas (Wahyuni, 2011).

DPPH adalah radikal bebas stabil yang memiliki elektron valensi tidak berpasangan pada satu atom jembatan nitrogen (Putri, 2020). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya membutuhkan sedikit sampel untuk bahan analisa (Muktisari & Hartati, 2018).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan bisa diamati dan dilihat menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004; Kesuma, 2015).

Senyawa golongan fenolik menunjukkan aktivitas antioksidan yang pasti. Korelasi antara kadar senyawa golongan fenolik atau flavonoid dengan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sangat tinggi (Wahdaningsih *et al.*, 2011). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang digunakan sebagai pereaksi

untuk menguji aktivitas antiradikal suatu senyawa dengan mengetahui kemampuannya dalam mengikat radikal bebas.

DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini *et al.*, 2016). Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH (Muktisari & Hartati, 2018).

## 2.10 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan jenis antioksidan alami yang mempunyai berat molekul 176,13 dengan rumus molekul  $C_6H_8O_6$ . Asam askorbat mengandung tidak kurang dari 99,0%  $C_6H_8O_6$ . Pemerian vitamin C adalah hablur atau serbuk putih atau agak kuning. Oleh pengaruh cahaya lambat laun menjadi berwarna gelap. Dalam keadaan kering stabil di udara, dalam larutan cepat teroksidasi. Melebur pada suhu lebih kurang  $190^{\circ}C$ . Vitamin C mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen (Depkes RI, 1995).

Vitamin C adalah salah satu antioksidan sekunder yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi

berantai. Vitamin C merupakan antioksidan kuat dan pengikat radikal bebas. Vitamin C juga dapat mencegah kerusakan biomolekul seperti DNA, lipid, dan protein, akibat oksidasi radikal bebas anion superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil (Febryanto, 2017).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk dapat mengetahui aktivitas antioksidan vitamin c, yaitu kemampuan meredam radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH (Kesuma, 2015). Salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Antarti & Lisnasari (2018), vitamin C sebagai kontrol positif memiliki nilai  $IC_{50}$   $2,89 \pm 0,20$  ppm (aktivitas antioksidan sangat kuat).

### **2.11 Inhibitor Concentration Fifty ( $IC_{50}$ )**

$IC_{50}$  yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka antioksidan itu semakin kuat dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Maryam, 2015). Besarnya aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan  $IC_{50}$  yaitu besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH (Muktisari & Hartati, 2018).

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  dengan satuan  $\mu\text{g/mL}$ .  $IC_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50% suatu konsentrasi sampel (ppm) (Putri, 2020). Nilai  $IC_{50}$  didapat dengan menggunakan persamaan regresi linear dengan cara substitusi

$y = ax + b$  yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi dengan persen (%) aktivitas antioksidan (inhibisi) (Kamoda *et al.*, 2021).

Sampel dinyatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, kuat jika nilai  $IC_{50}$  51-100 ppm, sedang jika nilai  $IC_{50}$  101-150 ppm, lemah jika nilai  $IC_{50}$  151-200 ppm, dan dinyatakan tidak aktif jika mempunyai nilai  $IC_{50} > 200$  ppm (Antarti & Lisnasari, 2018).

## 2.12 Spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis)

Metode uji DPPH dikembangkan oleh Blois pada tahun 1958. Namun, karena mekanisme reaksinya adalah kolorimetri maka uji DPPH memerlukan spektrofotometer UV. Prinsip dari pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH ini adalah adanya perubahan dari intensitas warna ungu pada DPPH. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu pada larutan. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya sudah berpasangan. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin berkurang dan terbentuk larutan berwarna kuning (Hasanah *et al.*, 2017).

Perubahan intensitas warna terjadi karena adanya peredaman pada radikal bebas yang dihasilkan reaksi dari molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul dari senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum

DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna pada larutan (Isnaeni, 2020).

Spektrofotometer UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm – 700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya (Irawan, 2019)

Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Apabila radiasi atau cahaya putih dilewatkan melalui larutan berwarna, maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap (absorpsi) secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan (transmisi) (Febryanto, 2017).

Absorbansi adalah perbandingan antara intensitas sinar yang diserap dengan sinar datang. Nilai absorbansi bergantung pada kadar zat yang terkandung di dalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar. Jika suatu molekul dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai

sehingga energi molekul tersebut ditingkatkan ke level yang lebih tinggi, maka terjadi peristiwa penyerapan (absorpsi) energi oleh molekul. Prinsip dasar pada spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna (Amelia, 2021).

Semua gugus atau gugusan atom yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis disebut sebagai kromofor. Kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah UV dan visible. Pada senyawa organik dikenal pula gugus auksokrom yaitu gugus jenuh yang terikat pada kromofor. Terikatnya auksokrom pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Cahaya, 2020).

Suatu spektrofotometer UV-Vis tersusun atas (Febryanto, 2017) :

1. Sumber cahaya, yang digunakan untuk daerah ultraviolet adalah lampu deuterium atau lampu hidrogen, sedangkan untuk daerah visible adalah lampu wolfram atau tungsten.
2. Monokromator, digunakan untuk memperoleh sumber sinar monokromatis. Alatnya dapat berupa lensa prisma atau grating.
3. Sel absorbs (kuvet), yang biasa digunakan pada pengukuran di daerah ultraviolet adalah kuvet yang terbuat dari kuarsa, sedangkan untuk daerah visible adalah kuvet yang terbuat dari kaca. Umumnya tebal kuvet 10 mm.
4. Detektor, berfungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

5. Penguat (amplifier), berfungsi untuk membuat sinyal listrik yang lemah menjadi kuat.
6. Rekorder, adalah spektrum pencatat yang dapat menunjukkan besarnya sinyal listrik.

Untuk sampel larutan penggunaan pelarut yang dipakai perlu diperhatikan. adapun beberapa persyaratan, antara lain: harus melarutkan sampel dengan sempurna, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan kemurniannya harus tinggi. Pelarut yang sering digunakan salah satunya adalah methanol (Suhartati, 2017).

### **2.13 Parameter Ekstrak**

Ekstrak untuk bahan baku dalam sediaan farmasi harus memenuhi standar yang telah ditetapkan sehingga perlu adanya uji mutu dan standarisasi. Standarisasi merupakan proses untuk memastikan bahwa produk akhir memenuhi parameter tertentu secara konstan (Wigati & Rahardian, 2018). Parameter atau karakterisasi merupakan tahap awal guna menentukan kualitas ekstrak yang sesuai dengan monografi ekstrak yang sudah ditetapkan. Hal ini penting untuk mendapatkan ekstrak yang baik.

Parameter ekstrak terbagi menjadi dua yaitu parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Parameter spesifik adalah parameter uji secara kimia yang berkaitan dengan aktivitas farmakologis dalam ekstrak. Sedangkan parameter non-spesifik merupakan uji secara fisik, kimia, dan mikrobiologi

untuk mengetahui keamanan dan stabilitas ekstrak (Marpaung & Septiyani, 2020).

Parameter spesifik terdiri dari uji makroskopis, uji mikroskopis, penentuan kadar sari larut dalam air, dan penentuan kadar sari larut dalam etanol. Uji Parameter non-spesifik berupa penetapan susut pengeringan, kadar air ekstrak, kadar abu total, kadar abu yang tidak larut asam, bobot jenis ekstrak, sisa pelarut, cemaran mikroba dan kapang, juga cemaran logam pada ekstrak (DepKes RI, 2000).

### **2.13.1 Parameter Spesifik**

Menurut Depkes RI (2000), parameter spesifik mencakup identitas, organoleptik, senyawa terlarut dalam air dan etanol dan kandungan kimia dalam simplisia maupun ekstrak. Parameter Identitas simplisia dan ekstrak bertujuan untuk memberikan identitas yang obyektif secara spesifik.

Pengujian mikroskopis bertujuan untuk mengetahui fragmen-fragmen pengenal yang terdapat dalam simplisia sehingga dapat mencegah pemalsuan simplisia. Parameter organoleptis bertujuan untuk memberikan pengenalan awal terhadap simplisia maupun ekstrak dengan menggunakan panca indera dengan cara mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. (Utami *et al.*, 2017).

Penentuan kadar sari larut dalam etanol dan air memberikan gambaran tentang senyawa aktif dalam ekstrak yang dapat larut dalam

etanol dan air. Kelarutan zat aktif dalam etanol dan air ditentukan berdasarkan sifat ikatan pelarut. Sedangkan uji kandungan kimia bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai komposisi kandungan kimia. (Marpaung & Septiyani, 2020).

### **2.13.2 Parameter Non-Spesifik**

Standarisasi simplisia dilakukan untuk menjaga stabilitas dan keamanan serta mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif dalam simplisia. Dalam penelitian ini pengujian parameter non spesifik dibatasi pada penetapan kadar air, kadar abu, dan kadar abu tidak larut asam (Azizah & Salamah, 2013).

Penetapan kadar air ditujukan untuk mengetahui kandungan air pada ekstrak, jika kadar air besar kemungkinan kontaminasi mikroba dapat terjadi serta berpengaruh pada kemurnian ekstrak. Kadar abu merupakan zat anorganik sisa pembakaran yang tahan terhadap suhu tinggi, kadar abu dilakukan untuk mengetahui kadar mineral. Jumlah mineral akan mempengaruhi kebersihan dan kemurnian ekstrak yang dihasilkan (Evifania *et al.*, 2020).

Semakin besar kadar abu semakin besar cemaran logam berat yang tahan suhu tinggi, sehingga kadar abu yang baik adalah yang nilainya rendah (Supomo *et al.*, 2020). Penetapan kadar abu yang tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui kadar pengotor seperti kontaminasi pasir atau tanah (Hidayati *et al.*, 2018).

## 2.14 Hipotesis

1. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) lebih baik daripada ekstrak daging buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
2. Ekstrak daging buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki hasil parameter non-spesifik yang lebih baik daripada ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).