



## Evaluasi Metode In Vitro Pada Analisis Aktivitas Antioksidan Beberapa Buah Tropis: Studi Kepustakaan

[*Evaluation In Vitro Method Analysis In Antioxidant Activities of Some Tropical Fruits:A Review*]

Devi Reskita Cahyani<sup>1\*</sup>, Tamrin<sup>1</sup>, RH. Fitri Faradilla<sup>1</sup>

Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Univeristas Halu Oleo Kendari

\*Email: [dhevyepi@gmail.com](mailto:dhevyepi@gmail.com) (Telp: +6282262491551)

Diterima tanggal 6 Mei 2019

Disetujui tanggal 20 Mei 2019

### ABSTRACT

Indonesia is one of the eight centers of world genetic diversity of plants, especially tropical fruits which have the potential as a source of natural antioxidants. Antioxidants are also compounds that can inhibit oxidation reactions, by binding to free radicals and highly reactive molecules. Based on the source, antioxidants can be divided into two, namely natural antioxidants and synthesis antioxidants. The usage of synthetic antioxidants may become bad for the body so that natural antioxidants tend to be very needed. The human body does not have an excessive amount of antioxidant reserves, so if there is exposure to excess radicals, the body needs antioxidants from outside the body. There are various types of antioxidants in tropical fruits so that to determine the potential of antioxidant compounds extraction methods and identification of compounds that act as antioxidants in tropical fruits are needed. Anda then, we need to know which antioxidant compounds are often contained in fruit. The review aimed to provide information on several methods that can be used in the *analysis of antioxidant activity in vitro*, especially in tropical fruits.

**Keywords:** Antioxidants, *in vitro* method, tropical fruits.

### ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu dari delapan pusat keanekaragaman genetika tanaman dunia, khususnya buah-buahan tropis yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis. Penggunaan antioksidan sintesis cenderung buruk bagi tubuh sehingga antioksidan alami cenderung sangat dibutuhkan. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Ada berbagai jenis antioksidan dalam buah-buahan tropis sehingga untuk mengetahui potensi senyawa antioksidannya perlu dilakukan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada buah- buahan tropis. Selanjutnya perlu diketahui senyawa-senyawa antioksidan yang sering terkandung dalam buah. Review ini bertujuan untuk memberikan informasi beberapa metode yang dapat digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan secara *in vitro* khususnya pada buah-buahan tropis.

**Kata kunci:** Antioksidan, metode *in vitro*, buah-buahan tropis.



## PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang

Indonesia adalah negara tropis yang memiliki varietas buah terbesar di dunia. Indonesia berada di urutan ketiga dengan jumlah produksi buah tropis segar di seluruh dunia, diikuti oleh India dan Filipina (FAO, 2012). Konsumsi buah tropis terus meningkat di pasar domestik dan internasional disebabkan oleh tumbuhnya kesadaran atas kandungan nutrisi dan perannya dalam kesehatan. Indonesia memiliki sejumlah besar spesies buah asli yang tidak banyak dieksploitasi dan berpotensi sebagai sumber pendapatan masa depan bagi penduduk lokal dan potensi minat terhadap agroindustri. Buah-buahan yang beragam tersebar di Indonesia memiliki manfaat yang besar bagi kesehatan masyarakat karena mengandung senyawa antioksidan (Fitri *et al.*, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Jusmiati *et al.*, 2015). Antioksidan alami bisa berasal dari buah-buahan dan tanaman sedangkan antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis suatu reaksi kimia. Penggunaan antioksidan buatan cenderung memiliki negatif bagi kesehatan tubuh (Rahmi *et al.*, 2017).

Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif sel yang menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh. Jika hal ini terus menerus terjadi maka dapat memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, peradangan dan kardiovaskuler (Fitriana *et al.*, 2015). Tubuh secara alami memproduksi zat antioksidan endogen yang mampu mengatasi efek radikal bebas, tetapi saat pasokan radikal bebas meningkat dibutuhkan pasokan zat antioksidan dari luar (Hardiningtyas, 2014).

Saat antioksidan endogen (dalam tubuh) tidak dapat dipastikan mampu melindungi tubuh dari oksigen reaktif maka diperlukannya zat antioksidan eksogen (luar tubuh) seperti suplemen nutrisi atau produk farmasi, yang mengandung prinsip aktif senyawa antioksidan. Antioksidan eksogen yang paling sering jumpai adalah vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, vitamin E, flavonoid, mineral Se, vitamin D dan vitamin K. Senyawa-senyawa antioksidan tersebut banyak ditemukan pada buah-buahan. Antioksidan eksogen juga dapat berasal dari sumber alami seperti vitamin, flavonoid, antosianin, beberapa senyawa mineral (Pisoschi *et al.*, 2011). Oleh karena itu dengan semakin meningkatnya minat dalam industri makanan dalam pengobatan preventif dalam pengembangan



antioksidan alami dari bahan nabati maka perlu ditinjau beberapa metode yang paling umum digunakan untuk penentuan kapasitas antioksidan secara *in vitro*.

## 2. Antioksidan Eksogen a.

### Vitamin E

Vitamin E merupakan salah satu dari antioksidan nonenzimatik penting, yang bereaksi dengan radikal bebas untuk membentuk radikal sendiri yang kurang reaktif daripada radikal tersebut. Vitamin E adalah antioksidan kunci yang larut dalam lemak dan antioksidan pemecah rantai yang paling efektif dalam membran sel di mana ia melindungi selaput asam lemak dari peroksidasi lipid. Vitamin E adalah senyawa kiral dengan delapan stereoisomer ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferol dan  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokotrienol) tapi hanya  $\alpha$ -tokoferol yang merupakan bentuk paling bioaktif pada manusia. Efek penting dari vitamin E termasuk perlindungan terhadap usus besar, prostat dan kanker payudara, beberapa penyakit kardiovaskular, iskemia, katarak, arthritis dan gangguan neurologis tertentu (Sen dan Chakraborty, 2011.) Banyak penelitian menunjukkan kemampuan vitamin E secara topikal dan turunannya dapat menghambat peroksidasi lipid yang diinduksi oleh radiasi UV dan beberapa peneliti telah menyarankan efektivitas vitamin E sebagai anti-penuaan (Haerani, 2018). Vitamin E, selain terdapat dalam kacang - kacangan juga terdapat pada pisang, strawberry, biji bunga matahari, buncis, ubi jalar, tomat dan sayuran berwarna hijau (Rickman *et al.*, 2007).

### b. Vitamin C

Vitamin C adalah makanan penting antioksidan dan secara signifikan menurunkan efek samping spesies reaktif seperti reaktif oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan dengan reaksi oksidatif pada makromolekul seperti lipid, DNA, dan protein, yang mana terlibat dalam penyakit kronis termasuk penyakit neurodegeneratif (Packer *et al.*, 2012). Vitamin C adalah donor elektron dan karenanya merupakan agen pereduksi. Semua fungsi fisiologis dan biokimia vitamin C yang diketahui disebabkan oleh perannya sebagai donor elektron. Asam askorbat menyumbangkan dua elektron dari ikatan rangkap. Vitamin C disebut antioksidan karena, dengan menyumbangkan elektronnya, ia mencegah senyawa lain teroksidasi. Namun, karena reaksi ini, vitamin C sendiri teroksidasi dalam proses tersebut. Perlu dicatat bahwa ketika vitamin C menyumbangkan elektron, mereka akan hilang secara berurutan (Sebastian, 2003).

Vitamin C sangat penting untuk biosintesis kolagen, karnitin dan neurotransmitter. Ada kemungkinan bahwa vitamin ini dikonsumsi dalam proses peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal oksigen dalam cedera reperfusi oleh iskemia untuk mencegah kerusakan jaringan. Vitamin C dapat ditemukan pada kebanyakan buah,



terutama jenis jeruk, dan sayuran. Vitamin C terdapat pada tomat, terung, kentang, cabai dan paprika merah. Suku adas-adas (*Apiaceae*), suku labu-labuan (*Curcubitaceae*), kubis Brussel dan brokoli juga kaya akan vitamin C (Dias, 2012).

### c. Beta-Karoten

Beta karoten merupakan salah satu produk dari karotenoid yang mempunyai aktivitas vitamin A yang paling tinggi. Karotenoid merupakan suatu zat alami yang sangat penting dan mempunyai sifat larut dalam lemak atau pelarut organik tetapi tidak larut dalam air yang merupakan suatu kelompok pigmen berwarna orange, merah atau kuning. Senyawa ini ditemukan tersebar luas dalam tanaman dan buah-buahan dan tidak diproduksi oleh tubuh manusia. Kandungan beta karoten bermanfaat sebagai antioksidan pencegah kanker, beragam penyakit kardiovaskuler, dan katarak (Fauziah, 2015).

Betakaroten juga memiliki kemampuan untuk memproteksi sel normal dari sel mutan (yang telah mengalami perubahan) pemicu pertumbuhan kanker. Mekanisme yang ditempuh betakaroten adalah dengan menekan gen penyebab tumor. Betakaroten memiliki unsur penting penangkal radikal bebas yang merusak jaringan tubuh. Dengan demikian, kalau konsumsi betakaroten itu cukup maka resiko terkena serangan jantung dan penyakit sistem kardiovaskuler lainnya dapat diminimalkan (Parwata, 2010).

Beta-karoten adalah sebuah karotenoid yang larut dalam lemak yang dianggap pro-vitamin karena mereka dapat dikonversi menjadi vitamin A aktif (retinol), yang penting untuk penglihatan. Beta-karoten dianggap sebagai antioksidan kuat dan peredam oksigen tunggal yang terbaik. Beta-karoten memberikan perlindungan antioksidan untuk jaringan yang kaya lipid (Sen dan Chakraborty, 2011). Makanan yang kaya akan betakaroten adalah wortel, brokoli, kubis *brussel*, tomat, kentang, paprika merah, pepaya dan buah atau sayur lain berwarna merah atau orange (Dias, 2012).

### d. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia  $C_6-C_3-C_6$ . Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Cuppett dalam Redha, 2010).



Umumnya Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid. Beberapa penyakit seperti arteriosklerosis, kanker, diabetes, parkinson, alzheimer, dan penurunan kekebalan tubuh telah diketahui dipengaruhi oleh radikal bebas dalam tubuh manusia (Neldawati, 2013).

Flavonoid sebagai komponen aktif dalam tumbuhan dapat digunakan untuk mengobati gangguan fungsi ginjal. Flavonoid merupakan pigmen berwarna yang terdapat pada tanaman, misalnya antosianin sebagai penyusun warna biru, violet, dan merah; flavon dan flavonol penyusun warna kuning redup, khalkon dan auron penyusun warna kuning terang. Isoflavon, flavonol merupakan senyawa tak berwarna. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Oleh karena itu, flavonoid menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spectrum UV-Vis. Beberapa buah-buahan yang mengandung senyawa flavonoid diantaranya adalah buah alpukat, buah jambu, buah jeruk, buah stroberi, buah pepaya, asam jawa, buah apel dan buah mangga. (Febrianti, 2016).

#### e. Selenium

Selenium merupakan mineral esensial dan elemen gizi mikro yang penting bagi tubuh. Mineral ini penting dalam sebagian besar fungsi tubuh seperti kesehatan sistem imun, fungsi sistem tiroid, kardiovaskular dan dalam melawan stress oksidatif. Selenometionin memiliki bioavailabilitas yang baik, karena sekitar 90% dari dosis selenometionin diabsorpsi oleh tubuh. Kekurangan selenium dapat menyebabkan penyakit Keshan, penyakit Kashin-Beck, gangguan tiroid, kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan reproduksi (Yunita, 2018).

Selenium (Se) berperan sebagai antioksidan yang berkontribusi dalam mengatur integritas membran sel dan menurunkan risiko kerusakan oksidatif. Berfungsi sebagai protein yang dikenal sebagai seleno protein. Melalui seleno protein ini, Se memainkan peran sebagai mekanisme defensif untuk stres oksidatif, untuk pengaturan aktivitas hormon tiroid, dan untuk status redoks vitamin C dan molekul lainnya. Diet Se tinggi dapat merangsang pelepasan glukagon, mempromosikan hiperglikemia, atau dapat menyebabkan berlebihnya *gluthathion peroksidase-1* dan seleno protein antioksidan lainnya yang mengakibatkan resistensi insulin dan obesitas (Samsuaria *et al.*, 2016).

Selenium dapat diperoleh dari makanan, minuman atau dalam bentuk suplemen selenium. Kadungan selenium tertinggi pada makanan terdapat pada daging, makanan laut. Selain itu juga ditemukan di dalam kacang, sereal, dan produk olahan susu. Beberapa tanaman juga dapat digunakan sebagai sumber selenium, salah satunya tanaman bawang-bawangan (Sunde, 2012).



#### f. Vitamin D

Vitamin D yang terdiri atas vitamin D2 (*ergocalciferol*) dan juga D3 (*cholecalciferol*) merupakan vitamin yang terlarut dalam lipid dan memiliki banyak efek biologis termasuk dalam kontrol metabolisme kalsium dan fosfor. Vitamin D3 bekerja sebagai antioksidan dengan mencegah proses peroksidasi lipid di peroksisom. Proses peroksidasi lipid merupakan salah satu proses yang menghasilkan *reactive oxygen species* sebagai hasil sampingnya. Vitamin D juga telah diketahui mampu menurunkan jumlah *reactive oxygen species* dan mencegah terjadinya stres oksidatif. Suplementasi vitamin D diketahui dapat menurunkan respon tubuh terhadap patogen dengan membatalkan produksi senyawa interleukin-6, interleukin-1, dan tumor necrosis faktor  $\alpha$  oleh makrofag. Vitamin D dapat memberikan banyak manfaat fisiologis salah satunya mencegah kanker, namun harus dikonversi ke dalam konformasi aktifnya. Vitamin D3 yang dibentuk dari 7-*dehydrocholesterol* kemudian diangkut melalui pembuluh darah dengan bantuan vitamin D binding protein (DBP) (Aziz, 2018).

Vitamin D3 merupakan vitamin larut lemak yang dimetabolisme oleh tubuh menjadi bentuk aktif yang memiliki berbagai efek biologis, termasuk di antaranya adalah efek klasik vitamin D sebagai regulator dalam metabolisme kalsium. Vitamin D juga dilaporkan berperan sebagai antioksidan membran yang melindungi neuron terhadap kerusakan akibat stres oksidatif (Yunus, 2012). Prekursor vitamin D hadir dalam fraksi sterol dalam jaringan hewan (di bawah kulit) dalam bentuk 7-dehidrokolesterol dan tumbuh-tumbuhan dalam bentuk ergosterol (sterol jamur/jamur). Sumber vitamin D3 ditemukan dalam ikan, minyak hati ikan, kuning telur, hati sapi. Selain itu, beberapa jamur mengandung vitamin D2 dalam berbagai jumlah. Vitamin D juga dapat diperoleh dari suplemen vitamin D dan makanan yang difortifikasi dengan vitamin D3, diantaranya produk susu, jus jeruk, formula susu bayi, yoghurt, mentega, margarin, keju, sereal (Rimahardika *et al.*, 2017).

### 3. Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan a. DPPH

#### (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl)

DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) adalah radikal bebas yang stabil, karena dekolonisasi elektron cadangan pada keseluruhan molekul. DPPH tidak terdimerisasi, seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas. Delokalisasi pada molekul DPPH menentukan kemunculan warna ungu, dengan pita serapan dengan maksimum sekitar 520nm. Ketika DPPH bereaksi dengan donor hidrogen, bentuk tereduksi (molekul) (DPPH) dihasilkan, disertai dengan hilangnya warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan. Hasil dekolonisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap. Oleh karena itu,



pengurangan absorbansi tergantung secara linear pada konsentrasi antioksidan. Trolox digunakan sebagai antioksidan standar (Pisoschi *et al.*, 2011; Dehpour *et al.*, 2009).

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang paling stabil dibandingkan dengan contoh-contoh radikal yang lainnya, sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi cukup dilarutkan dan tidak perlu dibuat *recenter paratus* dengan cara mereaksikan pereaksi-pereaksi sebagaimana yang dilakukan pada radikal bebas nitrit oksida. Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dipilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Nurfadilla *et al.*, 2016).

#### b. ABTS (2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6sulfonic acid)

ABTS (2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6sulfonic acid) yang merupakan senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen. Prinsip pengujian adalah penyetabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan penghilangan warna ABTS yang semula berwarna biru hijau akan berubah menjadi tidak berwarna apabila tereduksi oleh radikal bebas. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 734 nm. Hasil yang didapat dibandingkan dengan larutan standar Trolox yang merupakan antioksidan analog tokoferol (Yu dalam Wulansari, 2018).

Metode ABTS jika dibandingkan dengan DPPH memiliki keunggulan yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksi yang lebih cepat. Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik namun pengujian menggunakan ABTS tidak menggambarkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembanding karena tidak mewakili sistem biologis tubuh (Karadag, 2009).

#### c. FRAP (*Ferric reduction activity potential*)

Metode ini melibatkan reaksi reduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ . Proses perubahan kompleks besi (III) sianida menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  700 nm.  $\text{Fe}^{3+}$  bersumber dari reagen FRAP yang merupakan campuran dari buffer acetat, TPTZ, dan  $\text{FeCl}_3$ . Apabila larutan uji memiliki aktivitas antioksidan (membuat senyawa lain mengalami reduksi) akan terjadi reaksi reduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ . Reaksi ini menyebabkan pembentukan senyawa kompleks  $\text{Fe}^{2+}$  (tripirydyltriazine) berwarna biru yang dapat dideteksi secara spektrofotometri pada panjang gelombang 595 nm. Terbentuknya warna biru yang semakin pekat mengindikasikan



terbentuknya ion  $\text{Fe}^{2+}$  yang semakin banyak. Oleh sebab itu, Semakin tinggi intensitas warna biru yang terbentuk menunjukkan potensi antioksidan yang semakin tinggi. Aktivitas FRAP dinyatakan dalam *ferrous equivalent* (FE) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan nilai absorbansi yang dihasilkan larutan uji 1 mM  $\text{FeSO}$  (Jatmika, 2015; Clarke *et al.*, 2013).

Keuntungan metode ini yaitu sederhana, cepat, murah, dan tidak memerlukan peralatan khusus. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan metode otomatis, semiotomatis, atau manual. Kekurangannya metode FRAP tidak dapat mendeteksi spesies yang bertindak secara radikal, pendinginan (transfer H), khususnya kelompok SH, yang mengandung antioksidan seperti tiol, seperti glutathione dan protein (Badarinath, 2010).

#### d. CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC (*Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity*) dilakukan dengan cara melakukan uji CUPRAC menggunakan senyawa pembanding yaitu rutin. Rutin merupakan salah satu senyawa turunan flavonoid. Senyawa rutin dibuat dengan berbagai konsentrasi (10  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 20  $\mu\text{g/mL}$ , 25  $\mu\text{g/mL}$  dan 30  $\mu\text{g/mL}$ ) kemudian ditambahkan kedalam larutan  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M, neokuproin etanolik 0,0075 dan buffer amonium asetat pH 7 1M. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 1 jam dan dibaca pada serapannya pada panjang gelombang maksimum 451 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai kapasitas reduksi CUPRAC yang diperoleh dari hasil pengurangan absorbansi sampel terhadap absorbansi kontrol (Apak, 2008 dalam Nugraha *et al.*, 2017).

Pada metode CUPRAC, kompleks bisneokuproin-tembaga (II) akan mengoksidasi senyawaan antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bis-neokuproin-tembaga(I). Secara visual hal ini dapat dilihat dari perubahan warna kompleks larutan dari biru toska menjadi kuning. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, yaitu sebesar 0,17 V (Widyastuti, 2010). Metode CUPRAC dipilih untuk digunakan karena memiliki beberapa keuntungan seperti selektif, pereaksinya yang lebih stabil dibandingkan pereaksi kromogenik pada metode pengukuran aktivitas antioksidan lainnya serta dapat mengukur secara simultan antioksidan hidrofilik dan lipofilik (Purwakusumah *et al.*, 2016).





#### 4. Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Buah-Buahan Tropis.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan pada jenis buah-buahan dengan berbagai metode

No	Nama Buah	Aktivitas Antioksidan	Metode Identifikasi Antioksidan	Jenis Antioksidan	Sumber
1.	Salak	40.89 µg/mL	DPPH	Polifenol	Puspitasari <i>et al.</i> , 2016
2.	Strawberi	1646.10 µmol/100g 2033.32 µmol/100g	DPPH ABTS	Flavonoid, Fenol, Antosianin	Stafussa <i>et al.</i> 2018
3.	Mangga	225.32 µg/ml	DPPH	Flavonoid, Beta karoten, Senyawa Fenolik	Maciel <i>et al.</i> , 2011
4.	Lemon	3.10 µM / gFW 8.79 µM / gFW 1.08 µM / gFW	DPPH, ABTS, FRAP	Flavonoid	Xi <i>et al.</i> , 2017
5.	Apel	1120.30 µmol/100g 935.62 µmol/100g	DPPH ABTS	Antosianin, Fenolik, Flavonoid	Stafussa <i>et al.</i> 2018
6.	Belimbing	93.10 % 0,38 % 91.16 %	DPPH, FRAP, ABTS,	Fenolik, Flavonoid, Vitamin C	Liu <i>et al.</i> , 2014
7.	Semangka	14.729 mg/L	DPPH,	Flavonoid, Polifenol	Mariani <i>et al.</i> , 2018
8.	Salak	144,67 µmol/g	DPPH	Fenolik, Vitamin C	Ariviani <i>et al.</i> , 2013
9.	Pepaya	8 ± 1.0 µmol AAE/g FW	FRAP	Betakaroten, Lisopen, Fenolik, Flavonoid	Iamjud <i>et al.</i> , 2016
10.	Rambutan	2.732 µg mL	DPPH	Fenolik, Flavonoid, Karotenoid	Rohman, 2017
11	Buah Naga	67,45 ppm	DPPH	Vitamin C, Karotenoid, Antosianin, Vitamin E, flavonoid	Widianingsih, 2016
12	Jambu Biji	7.34 µmol AAE/g FW	FRAP	Flavonoid	Sanguansil <i>et al.</i> , 2014
13	Nanas	2.90 mg/ml	DPPH	Polifenol	Jovanovic <i>et al.</i> , 2018
14	Manggis	7.48 µg/mL	DPPH	Flavonoid, Tanin, Saponin, Polifenol	Tjahjani <i>et al.</i> , 2017
15	Alpukat	4.221mg mL 0.855mg mL	ABTS DPPH	Fenolik	Antasionasti, 2017



Berdasarkan beberapa data yang diperoleh pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa setiap buah memiliki kadar aktivitas antioksidan yang berbeda. Nilai aktivitas antioksidan pada uji menggunakan metode DPPH dan ABTS pada satu sampel yang sama cenderung berbeda. Hal ini karena kemampuan senyawa antioksidan antara DPPH dan ABTS memiliki perbedaan mekanisme reaksinya. Pada DPPH kemampuan antioksidan suatu senyawa dilihat berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mendonorkan hidrogen. Sedangkan pada uji ABTS kemampuan senyawa antioksidan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk menyetabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton (Fitriana, 2015)

Metode yang paling banyak digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan buah-buahan adalah metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode uji paling banyak digunakan dalam penentuan antioksidan secara *in vitro*. Meskipun metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH. Namun DPPH lebih unggul karena teknik ini mudah, efektif, dan cepat untuk melihat profil ekstrak tanaman. Tidak diperlukan pemisahan sampel. Potensi sampel dapat diketahui. (Shah *et al.*, 2015).

Jenis antioksidan yang paling banyak ditemukan di buah-buahan berdasarkan tabel 1 adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Senyawa antosianin juga banyak ditemukan dalam buah-buahan yang mengandung pigmen warna merah seperti strawberi, apel, dan buah naga (Stafussa *et al.*, 2018; Widianingsih, 2016). Buah-buahan dengan pigmen warna orange biasanya juga mengandung antosianin dan betakaroten seperti pepaya dan mangga Maciel *et al.*, 2011; lamjud *et al.*, 2016). Selain senyawa-senyawa fenol, vitamin C juga berperan dalam mendonorkan atom hidrogen buah-buahan yang mengandung vitamin C adalah belimbing, salak, dan buah naga (Liu *et al.*, 2014; Ariviani *et al.*, 2013; Widianingsih, 2016).

### KESIMPULAN

Antioksidan memiliki peranan penting bagi tubuh manusia khususnya dalam menangkal radikal bebas dan melawan berbagai penyakit. Senyawa antioksidan alami dapat ditemukan dalam berbagai bahan pangan di sekitar kita. Senyawa antioksidan yang umumnya ditemukan dalam bahan pangan yaitu Vitamin C, Vitamin E, betakaroten, selenium, flavonoid dan vitamin D. Metode yang paling umum dalam penentuan aktivitas antioksidan adalah Metode DPPH, ABTS dan FRAP. Sumber antioksidan alami seperti buah tropis umumnya mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Beberapa buah juga dapat ditemukan memiliki kandungan antosianin yang dapat dilihat melalui pigmen warna merah atau orange pada buah tersebut.



## DAFTAR PUSTKA

- Antasionasti I, Sugeng R dan Abdul R. 2017. Antioxidant Activities and Phenolics Contents of Avocado (*Persea americana* Mill.) *in vitro*. Journal of Medicinal Plants. 11(2):55-61.
- Ariviani S dan Nur H R P. 2013. Kapasitas Antioksidan Buah Salak (*salacca edulis* reinw) Kultivar Pondoh, Nglumut Dan Bali Serta Korelasinya Dengan Kadar Fenolik Total Dan Vitamin C. Jurnal Agritech. 33 (3):324-333.
- Aziz M A, Sofie R K, Budi S dan Budi H. 2018. Pengaruh Pemberian Vitamin D<sub>3</sub> Terhadap Kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) Pada Sel PHM1-41 yang Mengalami Hipoksia. Jurnal Kedokteran Bandung, Volume 50(3):194-200.
- Badarinath A V, Mallikarjuna K, Madhu S C, Ramkanth, Rajan dan Gnanaprakash. 2010. In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. International Journal of PharmTech Research. 2(2):1276-1286.
- Clarke G, Kang N T dan Christophe W. 2013. High Correlation Of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging, Ferric Reducing Activity Potential And Total Phenolics Content Indicates Redundancy In Use Of All Three Assays To Screen For Antioxidant Activity Of Extracts Of Plants From The Malaysian Rainforest. Journal Antioxidant. 2(1):1-10.
- Dehpour A A, Ebrahimzadeh M A, Nabavi S F dan Nabavi S M. 2009. Antioxidant activity of methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. Grasas Aceites. 60(4): 405-412.
- Dias J S. 2012. Nutritional Quality and Health Benefits of Vegetables: A Review. Journal Food and Nutrition Sciences. 3(1):1354-1374.
- Fauziah F, Roslinda R dan Reza F. 2015. Pengaruh Proses Pengolahan Terhadap Kadar Beta Karoten Pada Ubi Jalar Varietas Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) lam) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel. Jurnal Farmasi Higea. 7(2):152-161.
- Febrianti M dan Sari F J. 2016. Kadar Flavonoid Total Berbagai Jenis Buah Tropis Indonesia. Prosiding Symposium on Biology Education). 607-612.
- Fitriana W D, Ersam T, Shimizu K dan Fatmawati S. 2015. Antioxidant Activity Of *Moringa Oleifera* Extracts. Jurnal Indonesia J Chem. 16 (3):297-301.
- Fitri A, Mira A, Asep S, Toto T, Lina Y, Hirotooshi T dan Nahrowi R. 2016. Screening of Antioxidant Activities and Their Bioavailability of Tropical Fruit Byproducts from Indonesia. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6(8):96-100.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT; 2012. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. [10 Maret 2019].
- lamjud K, Supornpan S, Peerapong S, Sirikul W dan Kriengsak T. 2016. Antioxidant properties and fruit quality of selected papaya breeding lines. ScienceAsia 42:332-339
- Haerani A, Anis Y C dan Anas S. 2018. Antioskidan Untuk Kulit. Jurnal Farmaka. 16(2):135-151



- Halliwell B dan Gutteridge J M C. 2007. Free Radicals In Biology And Medicine. Edke-4. Oxford University Press. United Kingdom. Oxfrd.
- Hardingtyas S D, Purwaningsih S, dan Handharyani E. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api Putih. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 17(1):80-91.
- Jatmika C, Baitha P M dan Hayun. 2015. Evaluasi Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-[(E)-2-(4-Okso3- Fenilkuinazolin-2-Il)Etenil]-Benzensulfonamida dan Analognya. Jurnal Pharmaceutical Sciences Research. 2(3):143-151.
- Jovanovic M, Milica M, Milica K, Bojana M, Nemanja K, Suzana B dan Dusanka K. 2018. Antioxidant Capacity Of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Extracts and Juice. Jurnal Lekovite Sirovine 38:27-30.
- Jusmiati A, Rolan R dan Laode R. 2015. Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao Masak dan Kulit Buah Kako Muda. Jurnal Sains dan Kesehatan. 1(1):34-39.
- Karadag A, Ozcelik B dan Saner S. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. J Food Analytical Methods. 2(1):41-60.
- Liu C, Yanli Z, Xiaojing L, Jianying J, Yanya C dan Zetian H. 2014. Antioxidant Capacities and Main Reducing Substance Contents in 110 Fruits and Vegetables Eaten in China. Food and Nutrition Sciences 5(1):293-307.
- Maciel L F. 2010. Antioxidant Activity Total Phenolic Compounds And flavonoids of Mangoes Coming From Biodynamic Organic And Conventional Cultivations in Three Maturation Stages. British Food Journal. 113 (9):1103-1113.
- Mariani S, Nurdin R dan Supriadi. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Semangka (*citrullus lanatus*). Jurnal Akademika Kimia. 7(2):96-101.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. Journal Pillar Of Physics. 2(1):76-83.
- Nugraha A T, Muhammad S F dan Pinus J. 2017. Profil Senyawa Dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*smallanthus sonchifolius*) dengan Metode DPPH dan CUPRAC. Jurnal Ilmiah Farmasi. 13(1):14-20.
- Nurfadillah, Chadijah S, dan Rustiah W. 2016. Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dari Kulit Buah Rambutan (*nephelium lappaceum*) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil). Jurnal AI Kimia 4(1):78-86.
- Parwata O A, Ratnayani dan Ana L. 2010. Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*ceiba pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*nephelium longata* L.). Jurnal Kimia. 4(1): 54-62.
- Packer L, Traber MG, Kraemer K dan Frei B. 2002. The Antioxidant Vitamins C and E. AOCS Press. Illinois Champaign.
- Pisoschi A M dan Gheorghe P N, 2011. Methods for total antioxidant activity determination: A Review. Journal Biochemistry and Analytical Biochemistry. 1(1):1-10.



- Purwakusuma E D, Lusi R dan Mohammad R. 2016. Evaluasi Aktivitas Antioksidan dan Perubahan Metabolit Sekunder Mayor Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Pada Umur Rimpang Yang Berbeda Jurnal Jamu Indonesia. 1(1):10-17.
- Puspitasari E dan Indah Y N, 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*salacca zalacca voss*) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. Jurnal Pharmacy. 13 (1):116-126.
- Rahmi H. 2017. Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Sumber Buah-Buahan di Indonesia. Jurnal Agrotek Indonesia. 2(1):34-38.
- Redha A. 2010. Flavonoid Struktur Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Jurnal Belian. 9(2):196-202.
- Rickman J C, Bruhn C M dan Barrett D M. 2007. Nutritional Comparison of Fresh Frozen and Canned Fruits and Vegetables II, Vitamin A and Carotenoids, Vitamin E, Minerals and Fiber. Journal Science Food And Agriculture. 87(7):1185-1196.
- Rimahardika R, Hertanto W S dan Hartanti. 2017. Asupan Vitamin D dan Paparan Sinar Matahari pada Orang yang Bekerja di Dalam Ruangan dan Di Luar Ruangan. Journal of Nutrition College. 6(4):333-342.
- Rohman A. 2017. Physico-chemical Properties And Biological Activities of Rambutan (*nephelium lappaceum L.*) Fruit. Jurnal Research Journal of Phytochemistry. 11(1): 66-73.
- Samsuarua I K, Judiono dan Yuliati W. 2016. Aspek Molekuler Hubungan Asupan Zinc Dan Selenium Dengan Hemoglobin Glikosilasi Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. Jurnal Biota. 1(1):19-25.
- Sanguansil S, Boonprakob U dan Thaipong K. 2014. Quantification of Antioxidant Content in Fruit of Guava Germplasm. Jurnal Acta Horticulturae. 1024:358-390.
- Sebastian J P, Arie K, Yaohui W, Peter E, Oran K, Je H L, Shenglin C, Christopher C, Anand D, Sudhir K D dan Mark L. 2003. Vitamin C as an Antioxidant Evaluation of Its Role in Disease Prevention. Journal of the American College of Nutrition. 22(1):18-35.
- Sen S dan Chakraborty R. 2011. The Role of Antioxidant in Human Health. Journal ACS Symposium Series. 1083:1-37.
- Shah P dan Modi H A. 2015. Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity. International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology. 3(4):2321-9653.
- Stafussa A P, Giselle M M, Valéria R, Evandro B, Cleyton N M, Bogdan DJ, dan Charles W I H. 2018. Bioactive Compounds Of 44 Traditional and Exotic Brazilian Fruit Pulps Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. International Journal of Food Properties, Vol. 21 (1):106-118.
- Sunde R A. 2012. Selenium. Modern Nutrition in Health and Disease 11th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Tjahajani S, Wahyu W, Khie K T, Adrian S dan Rita. 2014. Antioxidant Properties of *Garcinia mangostana L* (Mangosteen) Rind. Jurnal Elsevier Procedia Chemistry. 13(1):198-203.



- Widianingsih M. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah Hasil Maserasi dan Dipekatkan dengan Angin Kering. *Jurnal Wiyata*. 3(2):146-150.
- Widyastuti N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP Serta Korelasinya Dengan Fenol Dan Flavonoid Pada Enam Tanaman. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Wulansari A N. 2018. Alternatif Cantigi Ungu (*vaccinium varingiaefolium*) sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Farmaka Suplemen*. 16(2):419-429.
- Xi W, Juanfang L, Junping Q dan Bining J. 2017. Characterization Of Phenolic Profile And Antioxidant Capacity Of Different Fruit Part From Lemon (*citrus limon burm.*) Cultivars. *J Food Sci Technol*. 54(5):1108-1118.
- Yanti Y N dan Mitika S. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstra Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculate* Nees) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 22 (1) : 158-168.
- Yunita dan Sri A S. 2018. Selenium dan manfaatnya untuk kesehatan. *Jurnal Farmaka Suplemen*. 16(2):412-418. Yunus J dan Dwi C R S. 2012. Efek Neuroprotektif Vitamin D3 Terhadap Jumlah Sel Purkinje Cerebellum Yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Mutiara Medika*. 12(2): 63-71.