

**UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK PIGMEN KAROTENOID DAN
SITRULIN PADA KULIT BUAH BLEWAH (*Cucumis melo* L.)
SECARA *IN VITRO* (METODE DPPH)**

Antonius Padua Ratu^{1*}, Nadia Fahmi Silabi¹, Padmono Citreksoko²

¹Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

²PT Saraswanti Indo Genetech, Bogor

*Korespondensi : antoniuspaduaratu@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui besarnya potensi antioksidan pada ekstrak kulit blewah dan pengaruh perbedaan hasil uji pigmen karotenoid dan sitrulin pada ekstrak kulit blewah terhadap tahapan ekstraksi. Kulit blewah dengan perlakuan pengeringan dan tanpa pengeringan diekstrak secara bertahap dengan menggunakan tiga pelarut (petroleum eter-aseton-air). Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak air dengan perlakuan tanpa pengeringan (667,30 mg/L), yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan pelarut aseton dan petroleum eter (996,65 dan 2368,26 mg/L). Perlakuan dengan pengeringan hanya pada ekstrak petroleum eter (1607,28 mg/L) yang memberikan aktivitas dibandingkan dengan aseton dan air (2871,54 dan 2290,75 mg/L). Aktivitas antioksidan ekstrak kulit blewah tersebut lebih rendah dibandingkan dengan β -karoten dan vitamin C. Perlakuan tanpa pengeringan menunjukkan ekstrak aseton pigmen karotenoid tertinggi yang ditunjukkan oleh ekstrak aseton (β -karoten 11,32 mg/L, likopen 0,29 mg/100g) dan kadar sitrulin pada ekstrak air (29,91 mg/L). Perbedaan pengaruh perlakuan simplisia dan pelarut pada aktivitas antioksidan dan kadar pigmen karotenoid berbeda nyata ($P < 0,05$), sedangkan kadar sitrulin pada perlakuan simplisia tidak berbeda nyata untuk pelarut aseton dan berbeda nyata ($P < 0,05$) untuk pelarut petroleum eter dan air.

Kata kunci : Antioksidan, *Cucumis melo* L., Karotenoid, Sitrulin.

ABSTRACT

Antioxidants stabilize free radicals with a complete the lack of electrons from free radicals and inhibiting the chain reaction of free radical formation. The purpose this research is to determine the amount of the antioxidant potential of the cantaloupe skin extracts and the effect of different test result of pigment carotene and citrulline in skin cantaloupe extracts to the extraction stage. Cantaloupe skin with drying and without drying treatment is gradually extracted using three solvents (petroleum ether-acetone-water). The highest antioxidant activity shown by extracts water without drying treatment (667.30 mg / L), which was significantly different ($P < 0.05$) with acetone and petroleum ether (996.65 and 2368.26 mg / L). Treatment with drying only on petroleum ether extract (1607.28 mg / L), which provides activity compared with acetone and water (2871.54 and 2290.75 mg / L). However, cantaloupe skin extract antioxidant activity was lower compared with β -carotene and vitamin C. Treatment without drying also give the highest pigments carotenoid shown by extracts acetone (β -caroten 11,32 mg/L, lycopene 0,29 mg/100g) and level of citrulline in water extracts (29,91 mg/L). The difference of effect in simplisia treatment and solvent on the activity of antioxidants and pigments carotenoid levels were significantly different ($P < 0.05$), whereas the levels of citrulline in the simplisia treatment was not significantly different for solvent acetone and significantly different ($P < 0.05$) for solvent petroleum ether and water.

Keywords : Antioxidant, Carotene, Citrulline, *Cucumis melo* L.

PENDAHULUAN

Radikal bebas dapat merusak sistem imunitas tubuh dan dalam jumlah berlebih dapat memicu efek patologis dengan menyerang apa saja terutama yang rentan seperti lipid dan protein yang berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif [1], karena itu pembentukan radikal bebas harus dihalangi atau dihambat. Senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal disebut antioksidan. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan di dalam tubuh [2].

Sebagai negara tropis, Indonesia memiliki banyak kekayaan alam berupa tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Salah satunya adalah blewah. Blewah dengan warna kekuningan atau kuning kemerahan pada bagian buahnya dipercaya memiliki kandungan β -karoten yang tinggi dan berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menjaga tubuh dari radikal bebas. β -karoten dalam asupan sehari-hari dapat menurunkan resiko penyakit jantung dan kanker [3].

Blewah merupakan buah dari keluarga *Cucurbitaceae*, termasuk juga dengan beberapa spesies seperti semangka, melon, dan labu. Buah ini diidentifikasi sebagai makanan sehat karena tinggi karotenoid, yaitu β -karoten. Selain itu, blewah juga mengandung antioksidan lain, seperti lutein, *zea-xantin*, dan *cryptoxanthin*. Selain β -karoten, kelompok karotenoid lain yaitu likopen banyak dijumpai pada buah-buahan dan sayuran yang berwarna merah seperti pada wortel, papaya, tomat, dan semangka. Menurut Khonsarn *et al.* (2014), sebanyak 100 gram jenis *cantaloupe* mengandung 58,75 mg likopen, yang dapat terkandung dalam warna kemerahan blewah [4].

Likopen berkhasiat sebagai antioksidan yang dapat menangkal senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel dalam tubuh. Kekuatan likopen sebagai penangkap radikal bebas adalah dua kali lipat dari β -karoten dan sepuluh kali lipat dari α -tokoferol [5]. Struktur kimia likopen mengandung sebelas ikatan rangkap, likopen termasuk antioksidan yang kuat dan peredam radikal bebas. Selain sifat antioksidan, likopen telah dikemukakan untuk mengurangi kadar kolesterol dengan penekanan sintesis kolesterol, peningkatan degradasi LDL, dan penghambatan

dari enzim hidroksi-metil-glutaril-koenzimA (HMGCoA) reduktase [6].

Menurut USDA *National Nutrient database* blewah mengandung asam amino sebesar 0,8g/100g. Salah satu asam amino yang memiliki aktivitas untuk meningkatkan kesehatan yaitu sitrulin. Kandungan sitrulin yang tinggi dapat berkontribusi terhadap oksidatif stres sebagai penangkap radikal bebas (*radical scavenger*). Sitrulin juga digunakan dalam sistem oksida nitrat pada manusia dan memiliki peran antioksidan dan vasodilatasi [7].

Pemanfaatan kulit buah di Indonesia hanya terbatas sebagai campuran pakan ternak, serta pupuk kandang dan kompos. Eksplorasi potensi kulit buah pada bidang kesehatan belum banyak dilakukan yang tidak kalah dengan daging buahnya. Meningkatnya konsumsi akan buah memberikan potensi kegunaan pada bidang yang lain.

Potensi limbah kulit buah blewah dan kandungan antioksidan pada bagian yang dimiliki buah blewah, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi antioksidan pada bagian kulit buah melalui uji antioksidan ekstrak pigmen karotenoid dan kandungan sitrulin secara *in vitro*.

Senyawa karotenoid untuk menangkal radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab penyakit jantung dan kanker. Meskipun diidentifikasi sebagai makanan sehat karena tingginya karotenoid, yaitu β -karoten, Blewah juga mengandung antioksidan lain, seperti likopen, dan asam amino khusus yang memiliki aktivitas untuk meningkatkan kesehatan. Pengeluaran senyawa karotenoid dan sitrulin dalam kulit buah blewah, dapat dilakukan melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda (air, aseton, dan petroleum eter). Hasil ekstraksi kemudian diukur kandungan β -karoten, likopen, dan sitrulin yang dilakukan secara *in vitro* dengan metode spektrofotometer dan kemudian dilakukan uji antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya potensi antioksidan pada ekstrak kulit buah blewah dan adanya perbedaan hasil uji ekstrak pigmen karotenoid dan sitrulin kulit blewah terhadap tahapan ekstraksi.

METODE PENELITIAN

Bahan : kulit buah blewah, ammonia 0,05 N dalam kloroform, H_2SO_4 2 N, pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorft, campuran logammagesium dan HCl, NaOH 10%,

pereaksi Lieberman-Burchard, n-heksana, etanol, aseton, petroleum eter (PE), standar beta karoten, pereaksi ninhidrin, n-butanol, asam asetat, metanol, HCl 6 M, H₃PO₄, diasetil monoksim, karbon aktif, standar sitrulin, dan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Alat : tabung reaksi, corong, labu ukur, blender, corong pisah, Erlenmeyer, piala gelas, pipet volume, oven (Memmert), plat KLT, spektrofotometer UV-VIS (Perkin Elmer).

Metode

Ekstraksi Kulit Buah

Kulit buah blewah dicuci bersih dan dikeringkan. Diambil bagian bawah kulit terluar (kira-kira 1 cm), dipotong-potong kecil dengan ketebalan kira-kira 0,5 cm.

Ekstraksi simplisia kering dilakukan dengan memotong kulit buah, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga kadar air kurang lebih 8-10 %, kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak dengan mesh 60. Dihitung kembali kadar air serbuk kulit buah blewah dan ditimbang beratnya.

Sebanyak 100 gram serbuk kulit buah blewah diekstraksi dengan petroleum eter (1:3)(melalui pengocokan), kemudian dilakukan penyaringan (3 kali ekstraksi). Dipisahkan antara ampas dengan filtrat. Sisa ampas kemudian diekstraksi dengan aseton (1:3) (melalui pengocokkan), kemudian dilakukan penyaringan (3 kali ekstraksi), dipisahkan antara ampas dengan filtrat. Sisa ampas kemudian diekstraksi kembali dengan air (1:3), dan dipisahkan antara ampas dengan filtrat (3 kali ekstraksi). Hasil setiap filtrasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian dilakukan uji fitokimia, total karoten, likopen, sitrulin, dan aktivitas antioksidan.

Untuk ekstraksi simplisia basah dilakukan dengan menimbang sebanyak 100 gram kulit blewah basah yang telah diketahui kadar airnya, diekstraksi dengan air (1:10), kemudian dilakukan penyaringan (3 kali ekstraksi). Dipisahkan antara ampas dengan filtrat. Sisa ampas kemudian diekstraksi dengan aseton (1:3) (melalui pengocokkan), kemudian dilakukan penyaringan (3 kali ekstraksi), dipisahkan antara ampas dengan filtrat. Sisa ampas kemudian diekstraksi kembali dengan petroleum eter (1:3) Hasil filtrasi dibagi menjadi tiga bagian, satu bagian diekstrak dipartisi dengan aseton (1:3), satu bagian diekstrak dipartisi dengan petroleum eter (1:3) dan satu bagian filtra dari ekstrak air. Pada masing-masing ekstraksi dipisahkan antara ampas dengan filtrat yang dilakukan sebanyak 3

kali ekstraksi. Hasil setiap filtrasi dipekatkan kemudian dilakukan uji fitokimia, total karoten, likopen, sitrulin, dan aktivitas antioksidan.

Pengujian Kadar Air Simplisia

Botol timbang dimasukkan ke dalam oven (105°C) selama 1 jam setelah itu dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Simplisia ditimbang 1 gram di dalam botol timbang yang telah diketahui berat konstannya kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C-105°C selama 3 jam. Setelah itu didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya. Dipanaskan kembali didalam oven 30 menit kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan diulang hingga tercapai berat konstan [8].

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid dilakukan pada hasil ekstraksi dengan penambahan 10 mL larutan 0,05 N ammonia dalam kloroform. Campuran dikocok selama 1 menit, kemudian disaring ke dalam tabung reaksi. Kedalam filtrat tambahkan H₂SO₄ 2 N dan dikocok dengan teratur, biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipisahkan dan diuji dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan kuning kecoklatan dengan pereaksi Wagner, dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff [9].

Uji Flavonoid dilakukan dengan pereaksi Shinoda (campuran logam magnesium dan HCl). Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 mL etanol kemudian dipanaskan selama 5 menit didalam tabung reaksi. Selanjutnya hasil ekstraksi disaring dan filtratnya ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Setelah itu dimasukkan kurang lebih 0,2 mg logam Mg. Bila timbul warna merah tua menandakan contoh positif flavonoid [9].

Pengujian dengan NaOH 10% dilakukan terhadap ekstrak yang diperoleh dengan cara diatas, dengan penambahan 2 tetes NaOH 10%. Adanya flavonoid ditandai dengan perubahan warna kuning-oranye-merah [9].

Uji Steroid dan Triterpenoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard ditandai dengan warna merah jingga atau ungu positif triterpenoid sedangkan warna biru atau hijau positif steroid [9].

Uji Saponin dilakukan dengan penambahan air suling sehingga seluruh bagian

terendam dan dididihkan selama 2 menit. Setelah itu didinginkan dan kocok kuat-kuat. Bila timbul buih/busa yang stabil menunjukkan adanya saponin [9].

Analisis β -Karoten

Larutan baku β -karoten 50 $\mu\text{g/mL}$ dibaca serapannya pada panjang gelombang 350-550 nm. Pada panjang gelombang yang memberikan absorbansi tertinggi digunakan sebagai panjang gelombang optimum untuk pengukuran sampel.

Pembuatan standar β -karoten dibuat dengan larutan induk β -karoten (1 mg/mL) dalam etanol. Larutan tersebut dibuat deret standar 3; 6; 9; 12; 15 $\mu\text{g/mL}$. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang didapat. Dibuat kurva regresi antara konsentrasi β -karoten dan absorbansi.

Hasil ekstrak pada simplisia basah dan kering sebanyak 1 gram dilarutkan dengan 25 ml campuran heksan:etanol:aseton (2:1:1), kemudian dikocok selama 30 menit. Ditambahkan 10 ml aquadest dan dikocok kembali selama 2 menit. Larutan akan terbagi menjadi bagian polar dan non polar. Diambil bagian non polar dari sampel, kemudian dibaca serapannya. Kadar β -karoten dihitung berdasarkan kurva standar β -karoten [10].

Analisis Likopen

Hasil ekstrak sebanyak 1 gram ditambahkan dengan 25 ml campuran heksan:etanol:aseton (2:1:1), kemudian dikocok selama 30 menit. Ditambahkan 10 ml aquadest dan dikocok kembali selama 2 menit. Larutan akan terbagi menjadi bagian polar dan non polar. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 472 nm, dengan heksan sebagai blanko. Kadar likopen dihitung dengan menggunakan nilai baku $A(1\%, 1\text{cm}) = 3450$ dengan hasil satuan mg/100g sampel [11].

$$\begin{aligned} & \text{Kadar likopen (mg/100 g)} \\ &= \frac{A_{\text{sampel}}}{A(1\%, 1\text{cm})} \times \frac{fp}{\text{bobot (g)}} \quad (1) \end{aligned}$$

Analisis Sitrulin

Analisis kualitatif (Uji Ninhidrin) dilakukan pada hasil ekstraksi sebanyak 1 ml disentrifugasi selama 10 menit. Diambil bagian supernatan dan dilarutkan dengan air demineralisasi hingga konsentrasi 10% dan 20%. Sebanyak 10 μL larutan ditotolkan pada plat KLT kemudian dikeringkan, asam amino akan terurai dengan menggunakan pelarut butanol:asam asetat:air demineralisasi (2:1:1), kemudian disemprotkan dengan larutan

ninhidrin 0,2% dalam etanol dan dipanaskan pada suhu 95°C selama 5-10 menit. Dibandingkan dengan standar sitrulin [12].

Analisis kuantitatif dilakukan pada alat Spektrofotometer UV-VIS. Sebanyak 3 gram ekstrak diekstraksi dengan 15 ml campuran methanol:HCl 6 M (perbandingan 1:1) pada suhu 55°C pada penangas air selama 20 menit. Hasil ekstrak dihilangkan warnanya terlebih dahulu dengan 10 gram karbon aktif dan disaring. Filtrat diambil sebanyak 1 ml dan dilarutkan dengan 7 ml akuades. Satu ml larutan diambil kembali dan ditambahkan 4 ml aquadest, 2 ml campuran H₂SO₄ dan H₃PO₄ (perbandingan 3:1), 0,25 ml diasetil monoksim3%, larutan dikocok dalam gelap. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu 100°C pada penangas air selama 30 menit dan didinginkan. Larutan kemudian dibaca absorbansinya pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 490 nm. Kadar sitrulin dihitung berdasarkan kurva standar sitrulin. Data yang didapat merupakan rata-rata dari 3 data [13].

Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel diencerkan menggunakan etanol pada konsentrasi 100, 200, 300 dan 400 ppm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel tersebut kemudian ditambahkan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) 0.2 mM sebanyak 1 ml dan didiamkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm setelah diukur absorbansi blanko. Blanko dibuat dengan cara membuat larutan 4 ml etanol dengan 1 ml larutan DPPH 0.2 mM. Aktivitas peredaman terhadap radikal DPPH dinyatakan sebagai % penghambatan terhadap radikal DPPH. Persen penghambatan dihitung sesuai rumus [14] :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

A_0 : absorbansi tanpa sampel/standar.

A_s : absorbansi dengan sampel/standar

Persen penghambatan masing-masing konsentrasi sampel diplot terhadap persamaan segresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$ digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ (*inhibitor concentration* 50%) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN**Pembuatan Simplisia**

Pembuatan simplisia kulit blewah dilakukan dengan dua teknik yang berbeda, yaitu dengan pengeringan dan tanpa pengeringan. Penggunaan variabel ini dimaksudkan untuk melihat pengaruh pengeringan terhadap ketahanan antioksidan pada kulit blewah yang dibandingkan dengan tanpa pengeringan. Besarnya kandungan air di dalam kulit blewah mengakibatkan hilangnya sebagian atau keseluruhan air pada kulit blewah saat dilakukan pengeringan yang menyebabkan pengerutan dan pengurangan ukuran.

Selain itu kandungan air yang tinggi mengakibatkan sifat simplisia yang telah dikeringkan menjadi higroskopik atau mudah menyerap air. Sehingga saat dilakukan ekstraksi dengan air perlu perbandingan yang lebih besar.

Ekstrak kulit blewah diperoleh secara ekstraksi bertahap dengan metode maserasi menggunakan pengocokkan. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut polar, semi polar, dan non polar. Hal ini dilakukan untuk melihat pengaruh zat-zat yang terlarut dalam masing-masing pelarut terhadap aktivitas antioksidan. Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut pertama kemudian dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas yang didapat kemudian diekstrak kembali dengan pelarut kedua, dan selanjutnya dengan pelarut ketiga. Pada simplisia kering tahapan pelarut yang digunakan yaitu petroleum eter-aseton-air, sedangkan pada simplisia basah yaitu air-aseton-petroleum eter. Hal ini dikarenakan kandungan air pada simplisia basah lebih tinggi dibandingkan simplisia kering, sehingga memudahkan saat ekstraksi dengan air terlebih dahulu.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar Air Simplisia Kering dan Simplisia Basah Kulit Buah Blewah

Simplisia	Kadar Air (%)
Basah	96,42
Kering	6,29

Rendemen yang dihasilkan pada ekstrak simplisia kering lebih banyak dibandingkan dengan simplisia basah. Ekstraksi dengan pelarut petroleum eter dihasilkan paling banyak baik pada simplisia basah maupun kering. Hal ini menandakan adanya metabolit sekunder yang terekstrak pada pelarut non polar. Selain itu, adanya komponen lain selain yang bersifat metabolit sekunder juga dapat yang ikut terlarut dalam pelarut serta residu pelarut yang masih

tersisa juga bisa mempengaruhi tingginya rendemen.

Uji Fitokimia

Dalam pengujian ini dihasilkan bahwa pada simplisia kering memberikan hasil positif untuk senyawa terpenoid, dan pada simplisia basah hanya pada ekstrak dengan petroleum eter. Sedangkan uji alkaloid hanya positif pada ekstrak air, baik pada simplisia kering maupun basah.

Tabel 2. Hasil Pengujian Rendemen Ekstrak dari Simplisia Kering dan Basah pada Pelarut PE, Aseton, dan Air

Simplisia	Ekstrak	% Rendemen
Kering	PE	37.65
	Aseton	15.09
	Air	35.40
Basah	PE	3.83
	Aseton	1.01
	Air	2.10

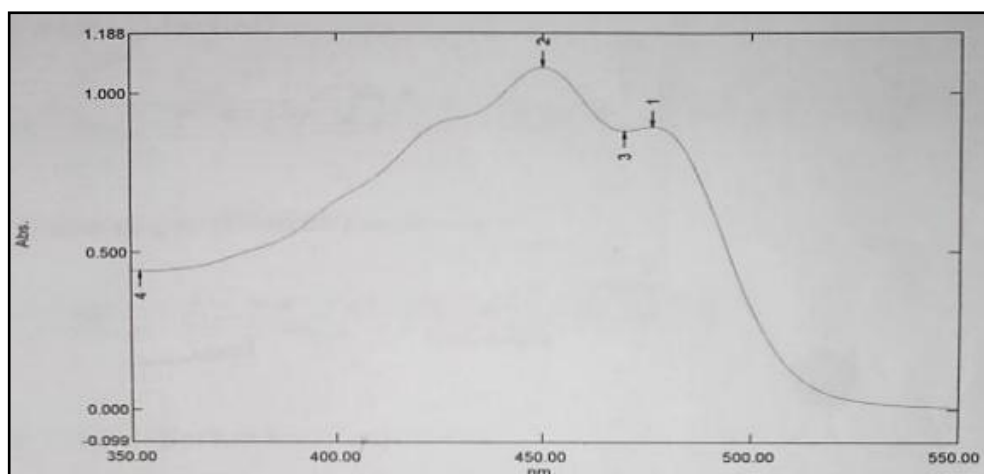
Tabel 3. Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak dari Simplisia Kering dan Basah pada Pelarut PE, Aseton, dan Air

Simplisia	Ekstrak	Uji Fitokimia				
		Steroid	Terpenoid	Flavanoid	Alkaloid	Saponin
Kering	PE	-	+	-	-	-
	Aseton	-	+	-	-	-
	Air	-	-	-	+	-
Basah	PE	-	+	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-
	Air	-	-	-	+	-

Kandungan senyawa fitokimia yang berbeda pada masing-masing ekstrak menyebabkan nilai aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Salah satu senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid yaitu β -karoten, dimana β -karoten mampu menstabilkan radikal-radikal berinti karbon [15]. Senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan dikarenakan adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur senyawa tersebut sehingga dapat memutuskan reaksi berantai radikal bebas.

Kadar Karotenoid

Pigmen karotenoid didapatkan dengan menggunakan metoda ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut campuran n-heksana:aseton:etanol perbandingan 2:1:1, dengan cara pengocokkan. Kemudian diambil bagian non polar dan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 472 nm untuk likopen. Penentuan panjang gelombang maksimum β -karoten didapatkan absorbansi tertinggi pada pada 450 nm.



a

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	(+)	476.50	0.894	
2	(+)	450.00	1.081	
3	(○)	469.60	0.881	
4	(○)	352.40	0.442	

b

Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum (a) dan Absorbansi (b) dari β -Karoten

Berdasarkan hasil pengukuran yang didapatkan kadar pigmen karotenoid sebagai berikut.

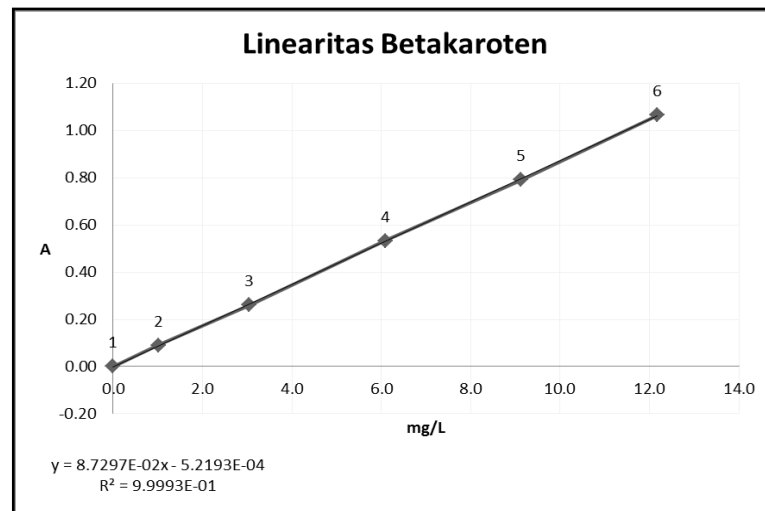
Tabel 4. Hasil Pengujian Kadar Pigmen Karotenoid pada Kulit Buah Blewah

Simplisia	Kadar β -karoten (mg/L)			Kadar Likopen (mg/100g)		
	PE	Aseton	Air	PE	Aseton	Air
Kering	8.58 ^{Bc}	4.87 ^{Ab}	0.45 ^{Aa}	0.17 ^{Bc}	0.09 ^{Ab}	0.02 ^{Aa}
Basah	0.80 ^{Aa}	11.32 ^{Bc}	2.35 ^{Bb}	0.01 ^{Aa}	0.29 ^{Bc}	0.04 ^{Bb}

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%. Huruf kapital dibaca arah vertikal (kolom) dan huruf kecil dibaca arah horisontal (baris)

Perbedaan pengaruh pelarut yang digunakan pada kadar pigmen karotenoid sangat nyata ($P < 0,05$), baik pada uji Tukey HSD maupun uji Duncan. Pada uji Tukey HSD perbandingan secara keseluruhan, pelarut aseton memberikan kadar pigmen karotenoid yang tertinggi dibandingkan dengan pelarut yang lain sedangkan pada pelarut air paling rendah. Pada uji Duncan, pelarut petroleum eter pada simplisia kering memberikan kadar pigmen karotenoid tertinggi dan pada simplisia basah pelarut aseton yang tertinggi. Hal ini dipengaruhi karena kelarutan pigmen

karotenoid dan tahapan pelarut yang digunakan. Pada simplisia kering, dilakukan ekstraksi dengan pelarut petroleum eter terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan aseton, sehingga kadar pigmen karotenoid pada pelarut petroleum eter (8,58 mg/Kg) lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut aseton (4,88 mg/Kg). Sedangkan pada simplisia basah, terlebih dahulu diekstraksi dengan pelarut aseton kemudian dengan petroleum eter, sehingga kadar pada pelarut aseton (11,32 mg/Kg) lebih besar dibandingkan pada pelarut petroleum eter (0,80mg/Kg).

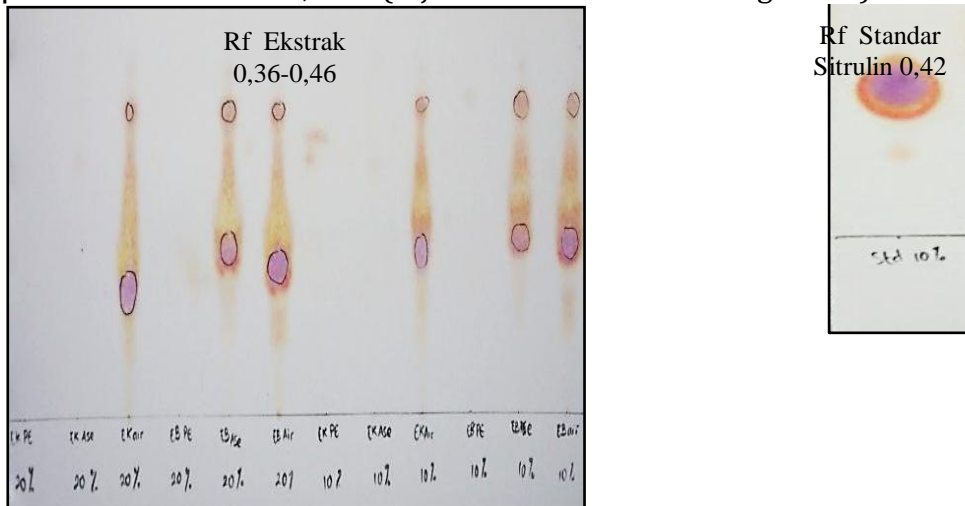
**Gambar 2. Kurva Kalibrasi β -Karoten**

Hasil data yang didapat dapat diketahui bahwa kadar pigmen karotenoid pada buah blewah yang tertinggi terdapat pada simplisia basah. Hal ini meyakini bahwa pigmen karotenoid sangat sensitif terhadap panas dan juga mudah teroksidasi [16]. Selain itu, pigmen karotenoid mudah larut dalam petroleum eter dan larut dalam aseton [17,18].

Kadar Sitrulin

Kadar sitrulin pada ekstrak kulit blewah

terlebih dahulu dilakukan uji secara kualitatif yang kemudian dilanjutkan dengan uji secara kuantitatif. Secara kualitatif asam amino dapat terurai pada plat silika gel dengan fase gerak butanol:asam asetat: air (2:1:1) yang kemudian ditambahkan ninhidrin 0,2% dalam suasana panas. Dengan membandingkan dengan standar, sitrulin dapat terlihat secara kasat mata maupun dibawah sinar UV. Berdasarkan uji kualitatif didapatkan hasil sebagai berikut.



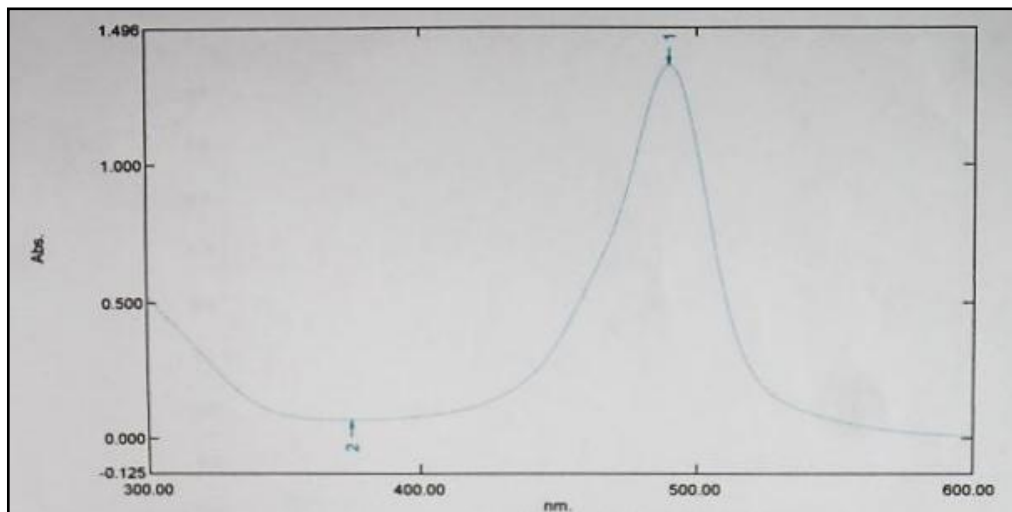
A

Gambar 3. Hasil Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Kulit Buah Blewah (a) dan Standar Sitrulin (b)

Pada pengujian secara kualitatif digunakan larutan perbandingan standar sitrulin pada konsentrasi 10% dan didapat nilai Rf yaitu 0,42. Dari hasil yang didapat, ekstrak yang mengandung asam amino sitrulin hanya pada ekstrak air pada simplisia kering (Rf 0,36 pada konsentrasi 20%; 0,43 pada konsentrasi 10%) maupun basah (Rf 0,41 pada konsentrasi 20%; 0,45 pada konsentrasi 10%), sedangkan pada ekstrak aseton hanya terdapat pada simplisia

basah (Rf 0,44 pada konsentrasi 20%; 0,46 pada konsentrasi 10%).

Secara kuantitatif, sitrulin didapatkan dengan cara hidrolisis asam dan direaksikan dengan pereaksi spesifik yaitu diasetil monoksim 3% dalam suasana panas. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang optimum 490 nm. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan pada ekstraksi kulit blewah, didapatkan kadar asam amino sitrulin sebagai berikut

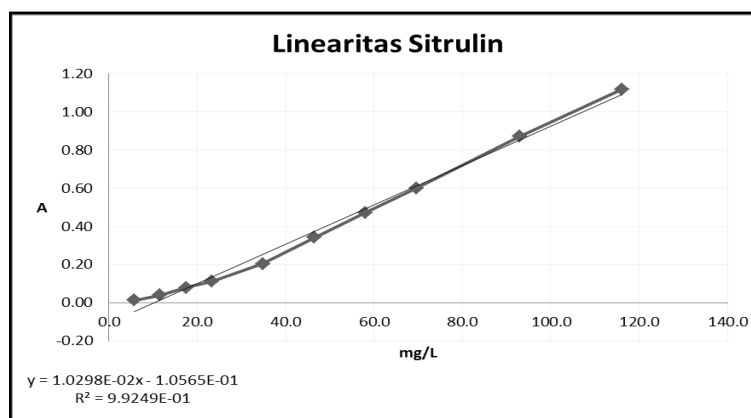


A

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	476.50	0.894	
2	⊕	450.00	1.081	
3	○	469.60	0.881	
4	○	352.40	0.442	

B

Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Maksimum (a) dan Absorbansi (b) dari Sitrulin



Gambar 5. Kurva Kalibrasi Sitrulin

Tabel 5. Hasil Pengujian Kadar Sitrulin pada Kulit Buah Blewah

Simplisia	Kadar Sitrulin (mg/Kg)		
	PE	Aseton	Air
Kering	3.46 ^{Aa}	12.80 ^{Ab}	25.39 ^{Ac}
Basah	7.13 ^{Ba}	12.56 ^{Ab}	29.91 ^{Bc}

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%. Huruf kapital dibaca arah vertikal (kolom) dan huruf kecil dibaca arah horisontal (baris)

Perbedaan pengaruh pelarut yang digunakan pada kadar sitrulin sangat nyata ($P < 0,05$) pada uji Tukey HSD dan uji Duncan. Uji Tukey HSD dan Duncan, pelarut air memberikan nilai kadar sitrulin yang tertinggi. Hal ini dipengaruhi karena kelarutan sitrulin dan tahapan pelarut yang digunakan. Dari Tabel 5, terlihat bahwa kenaikan kadar sitrulin berbanding lurus dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Hal ini dikarenakan sitrulin larut dalam pelarut polar, yaitu air [19]. Dari data yang didapat, kadar sitrulin pada ekstrak air simplisia basah (29,91 mg/Kg) lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya, diikuti dengan ekstrak air simplisia kering (25,39 mg/Kg). Sedangkan pada perlakuan pengeringan dan tanpa pengeringan tidak berbeda nyata untuk pelarut aseton dan berbeda nyata ($P < 0,05$) untuk pelarut petroleum eter dan air.

Pada pengujian secara kualitatif pada ekstrak petroleum eter dan aseton tidak memberikan respon adanya sitrulin, sedangkan secara kuantitatif tetap memberikan absorbansi. Hal ini bisa disebabkan karena perbedaan perlakuan preparasi. Pada preparasi

secara kuantitatif terdapat proses hidrolisis menggunakan asam yang bertujuan untuk melepaskan asam amino yang terikat. Metode ini bersifat spesifik untuk sitrulin, karena sitrulin dapat mensubstitusi urea, sehingga akan bereaksi dengan diasetil monoksimid dan memberikan warna [19]. Tetapi dikhawatirkan adanyakomponen asam amino lain yang bersifat sama dan dapat mempengaruhi absorbansi larutan.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan kulit blewah dinyatakan dengan pengurangan nilai absorbansi DPPH kontrol terhadap nilai absorbansi DPPH yang direaksikan dengan larutan uji. Perubahan nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer yang dinyatakan dengan % penghambatan, lalu diplotkan terhadap konsentrasi. Sehingga akan didapatkan nilai IC_{50} yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dengan memasukkan angka 50 pada persamaan garis ($y=50$). Nilai IC_{50} untuk ekstrak kulit blewah ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Aktivitas antioksidan IC₅₀ ekstrak kulit blewah dengan perbedaan perlakuan simplisia dan pelarut ekstraksi

Simplisia	Aktivitas Antioksidan IC ₅₀ (mg/L)		
	PE	Aseton	Air
Kering	1607.28 ^{Ba}	2871.54 ^{Cc}	2290.75 ^{Cb}
Basah	2368.26 ^{Cc}	996.65 ^{Bb}	667.30 ^{Ba}

Keterangan :Aktivitas antioksidan standar pembandingan 2,54^A mg/L (β -karoten) dan 1,52^A mg/L (Vitamin C). Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%. Huruf kapital dibaca arah vertikal (kolom) dan huruf kecil dibaca arah horisontal (baris)

Nilai IC₅₀ yang paling kecil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya paling besar. Pengujian yang dilakukan, berdasarkan analisis ragam, pada uji Tukey HSD perlakuan tanpa pengeringan memberikan nilai aktivitas antioksidan yang lebih baik yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan dengan pengeringan, dan pada ekstraksi dengan pelarut air memberikan nilai aktivitas yang lebih baik (667.30 mg/L) yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan pelarut yang lain.

Pada uji lanjut Duncan, pengaruh perbedaan perlakuan simplisia terhadap pelarut menunjukkan bahwa perlakuan tanpa pengeringan memberikan nilai IC₅₀ terbaik yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada pelarut aseton dan air, sedangkan pada pelarut petroleum eter perlakuan dengan pengeringan yang memiliki nilai IC₅₀ terbaik. Sedangkan pengaruh dari perbedaan pelarut pada perlakuan tanpa pengeringan menunjukkan ekstrak air (667,30 mg/L) memberikan nilai IC₅₀ terbaik yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan pelarut aseton dan petroleum eter (996,65 mg/L dan 2368,26 mg/L). Pada perlakuan dengan pengeringan hanya ekstrak petroleum eter (1607,28 mg/L) menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan air dan aseton yang memiliki aktivitas yang rendah (2290,75 mg/L dan 2871,54 mg/L). Hal ini membuktikan adanya senyawa metabolit sekunder pada kulit blewah dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan memiliki aktivitas penangkal radikal bebas serta memberikan nilai IC₅₀ yang berbeda pula.

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap sampel kulit blewah yang diekstraksi secara bertahap dengan pelarut yang berbeda, dan digunakan larutan pembandingan asam askorbat dan β -karoten dengan konsentrasi 0,25-1,00 mg/L untuk membandingkan kemampuan dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan kulit blewah belum sebanding dengan larutan pembandingan, baik

vitamin C maupun β -karoten. Hal ini bisa disebabkan proses ekstraksi yang dilakukan hanya berupa maserasi pengocokkan selama 15-20 menit. Sehingga belum semua zat aktif yang bersifat penangkal radikal terekstrak seluruhnya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlakuan tanpa pengeringan memberikan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ terbaik ditunjukkan oleh ekstrak air (667,30 mg/L) yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lain. Perlakuan dengan pengeringan hanya pada ekstrak petroleum eter (1607,28 mg/L) yang memberikan aktivitas tetapi lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan tanpa pengeringan.
2. Aktivitas antioksidan kulit blewah belum sebanding dengan larutan pembandingan, baik vitamin C maupun β -karoten dengan nilai aktivitas 1,52 mg/L dan ,48 mg/L.
3. Perlakuan tanpa pengeringan menunjukkan kadar pigmen karotenoid tertinggi terdapat pada ekstrak aseton (β -karoten 11,32 mg/L, likopen 0,29 mg/100g) dan kadar sitrulin terdapat pada ekstrak air (29,91 mg/L).
4. Perbedaan pengaruh perlakuan simplisia dan pelarut pada aktivitas antioksidan dan kadar pigmen karotenoid berbeda nyata ($P < 0,05$), sedangkan pada kadar sitrulin perlakuan simplisia tidak berbeda nyata untuk pelarut aseton dan berbeda nyata ($P < 0,05$) untuk pelarut petroleum eter dan air.

SARAN

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan kulit blewah dengan perlakuan ekstraksi seperti perkolasi atau digesti (pemanasan), sehingga

diharapkan hasil aktivitas antioksidan lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Kumalaningsih. 2007. *Antioksidan dan Penangkal Radikal Bebas*. Jakarta: Trubus Agrisarana.
- [2]. Windono, T., S. Soediman, U. Yudawati, E. Ermawati, A. Srielita, and T.I. Erowati. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 1:34-43.
- [3]. Fiedor, J., and K. Burda. 2014. Potential Role of Carotenoids as Antioxidant in Human Health and Disease. *Nutrients* 6: 466-488.
- [4]. Khomsan, A., dan Y. Harlinawati. 2008. *Terapi Jus untuk Reumatik dan Asam Urat*. Jakarta: Niaga Swadaya
- [5]. Bohm, V. 2002. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of Different Geometrical Isomer of α -Carotene, β -Carotene, Lycopene, and Zeaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 50: 221-226
- [6]. Fuhrman, B., A. Elis, and M. Aviram. 1997. Hypocholesterolemic Effect of Lycopene and β -Carotene is Related to Suppression of Cholesterol Synthesis and Augmentation of LDL Receptor Activity in Macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 233(3):658–662.
- [7]. Akashi, K., C. Miyake, and A. Yakota. 2001. Citrulline, a Novel Compatible Solute in Drought-Tolerant Wild Watermelon Leaves, is an Efficient Hydroxyl Radical Scavenger. *FEBS Letters*. 508: 438-442.
- [8]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta ; 2008, h 169.
- [9]. Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical Methods*. UK: Chapman and Hall.
- [10]. Octaviani, T., A. Guntarti, dan H. Susanti. 2014. Penetapan Kadar β -Keroten Pada Beberapa Jenis Cabe (Genus *Capsicum*) Dengan Metode Spektrofotometri Tampak. *Pharmaciana*. 4 (2): 101-109.
- [11]. Alda, L.M., I. Gogoasa, and D.M. Bordean. 2009. Lycopene content of tomatoes and tomato product. *J Agroalimentary Process and Technologies*. 15 (4): 540-542.
- [12]. Davis, A.R., W. Fish, A. Levi, S. King, T. Wehner, and P. Perkins-Veazie, P. 2010. L-Citrulline Levels in Watermelon Cultivars From Three Locations. *Cucurbit Genet. Coop. Rpt.* 33:36–39.
- [13]. King, S.R., W. Liu, S. Zhao, Z. Cheng, X. Wan, and Z. Yan. 2010. Lycopene and Citrullin Contents in Watermelon (*Citrullus lanatus*) Fruit with Different Ploidy and Changes during Fruit Development. *ISHS Acta Horticulturae*. 871: 543-547.
- [14]. Disoschi, A.M. 2009. Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juice. Electrochemical And Spectrophotometrical Approaches. *Molecules* 14: 480-493.
- [15]. Jomova, K., O. Kysel, J.C. Madden, H. Morris, S.J. Enoch, S. Budzak, A.J. Young, M.T.D. Cronin, M. Mazur, M. Valko. 2009. Electron transfer from all-trans β -carotene to the t-butyl peroxy radical at low oxygen pressure (an EPR spectroscopy and computational study). *Chemical Physics Letters* 478: 266–270.
- [16]. Othmer, Kirk. 2004. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 5th ed. Volumes 1: New York: John Wiley and Sons.
- [17]. Lide, D.R. 2005. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 86th Edition. Boca Raton : CRC Press, p. 3-88
- [18]. [BASF]. 2005. *β -Carotene*. German: BASF
- [19]. Curis, E., I. Nicolis, C. Moinard, S. Osowska, N. Zerrouk, S. Benazeth, and L. Cynober. 2005. Almost all about citrullin in mammals. *Amino Acids* 29: 177-205