

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FOTOPROTEKTIF FRAKSI ETILASETAT EKSTRAK ETANOLIK KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)

\*Hari Widada, \*\*Nurhasna Sushmita Sari

Lecturer, Muhammadiyah University of Yogyakarta \*

Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta \*\*

### INTISARI

Radikal bebas dapat disebabkan oleh paparan radiasi sinar UV. Kadar radikal bebas yang tinggi di dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai macam penyakit. Suatu agen fotoprotektif dapat melindungi kulit dari paparan sinar UV. Selain itu, senyawa antioksidan juga dapat mengurangi efek negatif radikal bebas. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan salah satu buah yang mengandung senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai agen fotoprotektif dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid dalam kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) serta mengetahui daya antioksidan dan daya fotoprotektifnya.

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diekstraksi dengan etanol dan difraksinasi cair-cair menggunakan etilasetat. Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid fraksi etilasetat ekstrak etanolik kulit buah naga merah (KBNM-*AcOEt*) diuji dengan metode KLT, metode Folin-Ciocalteu, dan metode khelasi  $AlCl_3$ . Selanjutnya, uji penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan untuk mengetahui daya antioksidan fraksi KBNM-*AcOEt* dan uji secara *in vitro* dengan metode spektrofotometri dilakukan untuk mengetahui nilai SPF fraksi KBNM-*AcOEt*.

Hasilnya, daya antioksidan fraksi KBNM-*AcOEt* dilihat dari nilai  $IC_{50}$  masuk ke dalam katagori lemah ( $>150 \mu\text{g/mL}$ ), sedangkan nilai SPF yang dihasilkan oleh fraksi KBNM-*AcOEt* konsentrasi 5, 25, 50 dan 100 mg/L diketahui sangat rendah ( $<2$ ) atau tidak memiliki daya fotoprotektif.

Kata kunci : Antioksidan, Etilasetat, Fotoprotektif, *Hylocereus polyrhizus*.

## ABSTRACT

Free radicals can be caused by exposure of UV rays. Free radicals in the body can be a trigger of many diseases. Photoprotective agent can protected the skin from exposure of UV rays. In addition, antioxidant compound can also reduced a negative impact of free radicals. Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) was one of the fruits which contain a flavonoid compound. This compound can acted as photoprotective and antioxidant agents. This study aims to know the content of flavonoid in the peel of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and knowing the antioxidants and photoprotective activities.

The peel of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) extracted within ethanol then macerate fractionated with ethylacetate. The content of phenolic and flavonoid compounds of ethylacetate fraction of the red dragon fruit (KBNM-*AcOEt*) tested with TLC method, Folin-Ciocalteu method, and chelation  $AlCl_3$  method. Furthermore, the free radical (DPPH) scavenging test was be done to found out the antioxidant activities of KBNM-*AcOEt* and *in vitro* test with spectrophotometry method was conducted to found out the SPF value of KBNM-*AcOEt*.

Antioxidant activities of KBNM-*AcOEt* was weak ( $> 150 \mu\text{g/mL}$ ). It was seen from the  $IC_{50}$  value of KBNM-*AcOEt*. Meanwhile, the SPF value of KBNM-*AcOEt* at a concentration of 5, 25, 50 and 100 mg/L was very low ( $<2$ ) or does not have photoprotective activities.

Keywords : Antioxidant, Ethylacetate, *Hylocereus polyrhizus*, Photoprotective.

## PENDAHULUAN

Berbagai manfaat dapat diperoleh dari sinar matahari melalui paparan radiasi UVB (Ultraviolet B) (Mead, 2008). Manfaat tersebut didapatkan ketika radikal bebas yang terbentuk dari paparan radiasi UV berada pada konsentrasi normal. Kadar radikal bebas yang tinggi di dalam tubuh akan menyebabkan berbagai macam penyakit seperti kanker kulit (Pham-Huy *et al.*, 2008).

*World Health Organization* (WHO) memperkirakan akan terjadi peningkatan kejadian kanker kulit non-melanoma sebesar 300.000 dan melanoma sebanyak 4.500 akibat penipisan lapisan ozon (WHO, 2015). Tubuh

membutuhkan agen fotoprotektif untuk melindungi kulit dari paparan sinar UV dan suatu senyawa yang dapat membantu menangkal radikal bebas atau senyawa antioksidan (Pietta, 1999; Mishra *et al.*, 2011).

Salah satu jenis buah atau makanan yang dapat digunakan sebagai antioksidan dan fotoprotektif adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Pemanfaatan tumbuhan telah dijelaskan dalam Al-Quran surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di

bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Kuersetin adalah salah satu kelas flavonoid (flavonol) yang bersifat semipolar yang mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding vitamin C dan memiliki nilai SPF yang sama dengan homosalat (Choquenet *et al.*, 2008, Sugrani *et al.*, 2009). Oleh karena itu, penelitian ini ingin mengambil senyawa yang bersifat semipolar dari ekstrak yang bersifat polar dalam bentuk fraksi etilasetat ekstrak etanol untuk dapat diketahui daya antioksidan dan daya fotoprotektifnya.

### METODE PENELITIAN

#### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah oven, bejana maserasi, bejana KLT, blender (Philips<sup>®</sup>), cawan porselen, *rotary evaporator* (IKA<sup>®</sup> RV10), waterbath (Mettler<sup>®</sup>), plat selulosa (E merck<sup>®</sup>), pipa kapiler, kipas angin (Sekai<sup>®</sup>), lampu UV 254 dan UV 366 nm, termometer, timbangan analitik (Mettler Toledo<sup>®</sup>), corong pisah (Pyrex<sup>®</sup>), rak tabung reaksi, mikropipet (Socorex<sup>®</sup>), pipet tetes, sendok tanduk, tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), erlenmeyer (Pyrex<sup>®</sup>), gelas ukur (Pyrex<sup>®</sup>), labu takar (Pyrex<sup>®</sup>), vortex, propipet, pipet volume (Pyrex<sup>®</sup>), kuvet, Spektrofotometer UV-Vis mini-1240 (Shimadzu<sup>®</sup>).

Bahan yang digunakan adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), alkohol 96%

(pro analisis, E Merck), etanol 95% (teknis, Bratac), etanol 70% (teknis, Brataco), etilasetat (teknis, Brataco), metanol (teknis, Brataco), pereaksi sitroborat (asam borat dan asam sitrat) (E Merck), n-butanol (pro analisis, E Merck), asam asetat (pro analisis, E Merck), aquades (teknis, Brataco), Folin-ciocalteu (E Merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (E Merck), kuersetin standard (Sigma), AlCl<sub>3</sub> (E Merck), NaNO<sub>2</sub> (E Merck), NaOH (J.T. Baker), DPPH (E Merck).

#### Preparasi sampel

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dipisahkan dengan daging buahnya. Setelah itu, kulit buah naga merah dipotong kecil-kecil ( $\pm 5$ mm) kemudian dikeringkan dengan bantuan sinar matahari dalam keadaan tertutup kain hitam dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 50<sup>0</sup>C. Kulit buah naga merah yang sudah kering diblender sehingga didapatkan serbuk kering kulit buah naga merah.

#### Ekstraksi

Serbuk kering kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dimaserasi dengan etanol 95% dengan perbandingan bahan:pelarut (1:10) selama 7 hari (5 hari maserasi dan 2 hari remaserasi) pada suhu kamar dalam bejana kedap cahaya. Larutan ekstrak kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu

50°C dilanjutkan dengan menggunakan waterbath pada suhu 50<sup>0</sup>-70<sup>0</sup>C sehingga didapatkan ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) (KBNM-EtOH).

### Fraksinasi

KBNM-EtOH dilarutkan dalam campuran H<sub>2</sub>O-MeOH (3:7). Selanjutnya, dilakukan fraksinasi cair-cair dengan etilasetat (*AcOEt*) sehingga diperoleh fraksi metanol ekstrak etanolik kulit buah naga merah (KBNM-MeOH) dan fraksi etilasetat ekstrak etanolik kulit buah naga merah (KBNM-*AcOEt*). Fraksi KBNM-*AcOEt* dipekatkan menggunakan kompor listrik suhu 50°C.

### Analisis Kualitatif Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Bejana kromatografi dijenuhi dengan uap fase gerak *n*-butanol:asam asetat:air (4:1:5 v/v, lapisan atas). Plat KLT selulosa dioven pada suhu 70°C selama 10 menit untuk menghilangkan kadar air. Selanjutnya, standar kuersetin dan fraksi KBNM-*AcOEt* ditotolkan pada plat KLT selulosa dengan menggunakan pipet kapiler pada jarak 1 cm dari bagian bawah. Bercak penotolan dibiarkan hingga kering kemudian dielusi dalam bejana kromatografi. Jarak elusi yang digunakan adalah 8 cm. Pengamatan plat KLT selulosa dilakukan dibawah sinar tampak, UV 254 nm

dan 366 nm sebelum dan setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat (Suhendi *et al.*, 2011).

### Penetapan Kuantitatif Kandungan Flavonoid Total

Kadar flavonoid total ditetapkan dengan cara khelasi AlCl<sub>3</sub>. Sebanyak 0,4 mL fraksi KBNM-*AcOEt* ditambahkan dengan 0,6 mL aquadest dan 0,06 mL NaNO<sub>2</sub> (5%). Larutan diinkubasi selama 6 menit pada suhu kamar lalu ditambahkan 0,06 mL AlCl<sub>3</sub> (10%), setelah 5 menit kemudian tambahkan NaOH 0,4 mL (1mM). Selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali (Saini *et al.*, 2011).

Kuersetin konsentrasi 400, 800, 1200, 1600 dan 2000 µg /mL diuji seperti prosedur diatas. Persamaan regresi linier kuersetin digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dalam sampel.

### Analisis Kuantitatif Kandungan Fenolik Total

Kandungan fenolik total diuji menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, dimana sejumlah 400 µL fraksi KBNM-*AcOEt* ditambahkan 3,16 mL aquadest dan 200 µL reagen Folin-Ciocalteu, dicampur hingga homogen. Larutan digojoj selama 6 menit. Selanjutnya, ditambahkan 600 µL larutan

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% untuk membentuk suasana basa dan dihomogenkan dengan cara divortex (Talapessi *et al.*, 2013). Larutan didiamkan pada suhu kamar selama 2 jam. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 760 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali (Junior *et al.*, 2013).

Asam galat konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL diuji seperti prosedur diatas. Persamaan regresi linier asam galat digunakan untuk menghitung kadar fenol total larutan.

#### **Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH**

Fraaksi KBNM-AcOEt (kadar 100, 200, 300, 400 dan 500 µg/mL) masing-masing dicampur dengan 1 mL DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrasil) 0,4 mM dilarutkan dalam larutan etanol hingga 5 ml. Larutan didiamkan bereaksi pada temperatur ruangan dan gelap selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan dibaca pada panjang gelombang 518 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sumarny *et al.*, 2014). Replikasi dilakukan 2 kali dengan masing-masing absorbansinya diukur sebanyak 2 kali.

Kuersetin konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL diuji seperti prosedur diatas untuk dijadikan pembanding. Nilai absorbansi yang didapat digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100$$

#### **Penetapan Panjang Gelombang Absorpsi Maksimum dan SPF**

Fraaksi kental KBNM-AcOEt dilarutkan dalam etanol absolut sehingga didapatkan seri kadar 5, 25, 50 dan 100 mg/L. Selanjutnya, dilakukan *scanning* spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 260-400 nm dengan interval 2 nm. Blanko yang digunakan adalah etanol (Junior *et al.*, 2013).

Panjang gelombang maksimum yang didapatkan selanjutnya disesuaikan dengan nilai EE x I yang sudah ditentukan oleh Sayre *et al.* (1979) (Tabel 1).

Tabel 1. Panjang gelombang dan nilai EE x I (Junior *et al.*, 2013)

λ (nm)	EE x I
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
Total	1.0000

Nilai SPF dihitung menggunakan rumus yang telah dikembangkan oleh Mansur *et al.* (1986):

$$SPF_{\text{Spektrofotometrik}} = CF \times \sum_{290-320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Keterangan:

- EE (λ) : Spektrum efek erythemal
- I (λ) : Spektrum intensitas matahari
- Abs (λ) : Absorbansi
- CF : Faktor koreksi (= 10)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Penyiapan Sampel

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam keadaan basah yang didapatkan dari 20 kg buah naga merah utuh adalah sebanyak 7 kg. Kulit buah naga merah ini dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil untuk mempercepat proses pengeringan (Sudewo, 2009). Proses pengeringan dilakukan untuk menghentikan proses enzimatik yang mungkin masih bisa terjadi, sehingga degradasi zat aktif dapat dikurangi. Pengeringan dilakukan dengan bantuan sinar matahari dalam keadaan tertutup kain hitam dikarenakan kain hitam dapat menyerap sinar ultraviolet sehingga UV protektor dari kulit buah naga merah tidak mengalami kerusakan akibat paparan sinar matahari (Nuria *et al.*, 2009).

Pengeringan dilanjutkan dengan bantuan oven pada suhu 50°C. Hal ini dikarenakan menurut Chet (2009), pemanasan yang dilakukan pada suhu 80°C dapat merusak senyawa flavonoid. Setelah pengeringan, didapatkan kulit buah naga merah sebanyak 470 gram. Kulit buah naga merah yang sudah kering diekstraksi dengan etanol 95%. Menurut Chaiwut *et al.* (2012), ekstraksi kulit buah naga menggunakan pelarut etanol 95% akan menghasilkan kapasitas antioksidan tertinggi dengan metode DPPH (656,52

mgTEAC/g) dan kadar fenolik yang lebih besar (1,28 mgGAE/g sampel) dibanding menggunakan pelarut etanol 50% dan air.

Perbandingan serbuk dengan pelarut yang digunakan adalah 1:10. Menurut Handayani *et al.* (2016), perbandingan ini merupakan rasio terbaik untuk mendapatkan kadar fenol, kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) paling besar. Ekstrak kental etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) (KBNM-EtOH) yang didapatkan adalah sebanyak 19,273 gram. Ekstrak kental KBNM-EtOH yang digunakan untuk fraksinasi cair-cair hanya sebanyak 5,046 gram.

Fraksinasi cair-cair dilakukan untuk memisahkan senyawa yang bersifat polar dengan senyawa yang bersifat semi polar dalam ekstrak kental KBNM-EtOH. Senyawa yang bersifat polar (seperti betasianin dan antosianin) akan tertarik ke dalam pelarut campuran H<sub>2</sub>O-MeOH, sedangkan senyawa yang bersifat semipolar (senyawa flavonoid seperti flavon dan flavonol) akan tertarik ke dalam pelarut etilasetat (*AcOEt*) (Indriasari, 2012; Pranata, 2013; Budilaksono *et al.*, 2014).

Ketika proses fraksinasi, fraksi campuran H<sub>2</sub>O-MeOH ekstrak etanolik kulit buah naga merah (KBNM-MeOH) berada pada lapisan atas, sedangkan fraksi etilasetat ekstrak

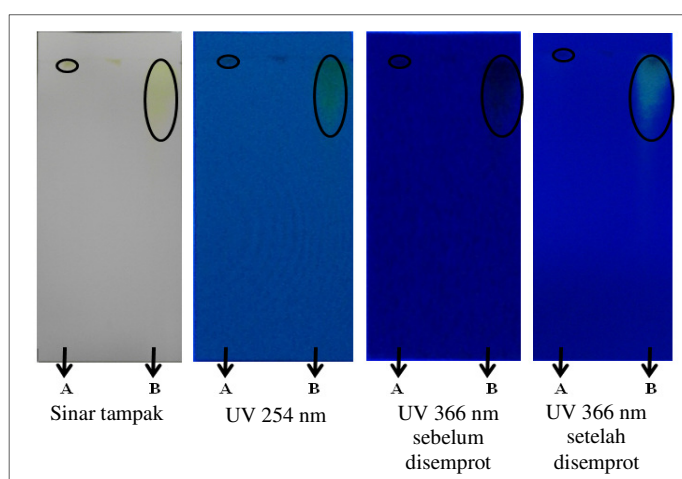
etanolik kulit buah naga merah (KBNM-*AcOEt*) berada pada lapisan bawah karena pelarut etilasetat memiliki massa jenis yang lebih besar. Fraksi kental KBNM-*AcOEt* yang diperoleh adalah sebanyak 2,886 gram. Oleh karena itu, dari hasil perhitungan didapatkan nilai rendemen fraksi kental KBNM-*AcOEt* terhadap kulit buah naga kering sebesar 2,34%.

### Analisis Kualitatif Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam dan fase gerak (Gandjar dan Abdul Rohman, 2012). Fase gerak yang digunakan adalah *n*-butanol:asam asetat:air (4:1:5) dan fase diam yang digunakan adalah selulosa. Perbandingan yang digunakan pada uji KLT ini adalah

kuersetin (salah satu golongan flavonoid). Campuran *n*-butanol:asam asetat:air yang diambil untuk fase gerak adalah pada lapisan atas karena pada lapisan ini mengandung air dan asam asetat yang terdispersi dalam *n*-butanol.

Selulosa dipilih sebagai fase diam dikarenakan fase diam yang lain seperti silika dapat menyebabkan terbentuknya kompleks antara senyawa flavonoid yang banyak mengandung gugus -OH dengan logam  $\text{CaSO}_4$  pada silika. Fase gerak yang bersifat polar dan fase diam yang bersifat non polar mengakibatkan senyawa flavonoid (kuersetin) akan lebih tertarik pada fase gerak (Christinawati, 2007). Hasil uji KLT ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji KLT (A) Fraksi KBNM-*AcOEt* (B) Kuersetin

Kandungan flavonoid (kuersetin) pada fraksi KBNM-*AcOEt* dapat diketahui

apabila nilai  $R_f$  fraksi KBNM-*AcOEt* sama dengan nilai  $R_f$  kuersetin. Berdasarkan hasil

perhitungan, nilai Rf fraksi KBNM-*AcOEt* adalah 0,9812, sedangkan Rf kuersetin adalah 0,855. Hal ini menunjukkan bahwa kedua nilai Rf berbeda.

Warna bercak fraksi KBNM-*AcOEt* dan standar kuersetin ketika diamati dibawah sinar tampak menunjukkan warna yang sama yaitu warna kuning (warna flavonoid apabila diamati dibawah sinar tampak). Oleh karena itu, bercak fraksi KBNM-*AcOEt* dan standar kuersetin merupakan senyawa flavonoid.

Bercak fraksi KBNM-*AcOEt* memiliki karakteristik nilai Rf 98,12 (dikali 100) dengan warna coklat kehitaman yang diamati pada sinar UV, dimana karakteristik ini merupakan sifat senyawa biflavonil (kayaflavon) (Harborne, 1987). Oleh karena itu, bercak fraksi KBNM-*AcOEt* diduga merupakan senyawa biflavonil (kayaflavon).

### **Penetapan Kuantitatif Kandungan Flavonoid Total**

Analisis flavonoid total fraksi KBNM-*AcOEt* dilakukan menggunakan metode kolorimetri  $AlCl_3$  berdasarkan Zhinsen *et al.* (1999) yang telah dimodifikasi oleh Saini *et al.* (2011). Metode ini merupakan reaksi  $AlCl_3$  yang akan membentuk kompleks dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan

flavonol. Kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang dapat membentuk kompleks dengan  $AlCl_3$  sehingga dapat digunakan sebagai standar (Desmiaty *et al.*, 2009).

Hasilnya, dibandingkan dengan penelitian Chet (2009) fraksi KBNM-*AcOEt* menunjukkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air kulit buah naga.

### **Analisis Kuantitatif Kandungan Fenolik Total**

Kandungan fenolik total atau *Total Phenolic Content* (TPC) fraksi KBNM-*AcOEt* dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang telah dikembangkan oleh Singleton dan Rossi (Rahmawati, 2009). Metode ini merupakan reaksi oksidasi-reduksi antara reagen Folin (asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstad) dan senyawa polifenol yang terdapat pada sampel sehingga terbentuk malibdenum-tungsen dengan kompleks warna biru (Wisesa dan Widjanarko, 2014).

Gallic Acid Equivalent (GAE) merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan. Pemilihan asam galat adalah berdasarkan ketersediaan substansi yang lebih stabil dan murni serta harga yang



lebih murah dibandingkan senyawa standar yang lainnya (Rahmawati, 2009).

Hasilnya, dibandingkan dengan penelitian Chet (2009) fraksi KBNM-*AcOEt* menunjukkan kadar fenol total yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air kulit buah naga.

### Uji Antioksidan Metode DPPH

Flavonoid merupakan salah satu contoh senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan karena mempunyai gugus fenol yang bertugas untuk melawan radikal bebas (Kumar, 2011). Radikal bebas yang terbentuk pada tahap propagasi dari senyawa antioksidan akan terstabilkan secara resonansi sehingga menjadi radikal bebas yang tidak reaktif (Fessenden, 1986).

Daya antioksidan senyawa fenol dan flavonoid fraksi KBNM-*AcOEt* dapat diketahui dengan melakukan uji penangkapan radikal bebas DPPH. Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Bila vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan 1, maka kuersetin memiliki aktivitas antioksidan 4.7 (Sugrani *et al.*, 2009).

Nilai  $IC_{50}$  fraksi KBNM-*AcOEt* diketahui lebih dari 150  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  yang terlalu besar diduga disebabkan karena senyawa flavonoid yang mengikat gugus

samping yang dapat menghambat aktivitas antioksidan, sehingga flavonoid tidak dapat menyumbangkan hidrogen dan elektron kepada DPPH (Harborne, 1987; Budilaksono *et al.*, 2014).

Selain itu, gugus samping juga dapat menyebabkan flavonoid termetilasi (gugus –H menjadi gugus –CH<sub>3</sub>), sehingga sumber proton untuk menangkap DPPH berkurang (Mikamo *et al.*, 2000; Pranata, 2013). Adanya pengganggu seperti protein dan lemak dalam fraksi KBNM-*AcOEt* diduga juga dapat mengganggu reaksi penangkapan radikal bebas DPPH (Budilaksono *et al.*, 2014).

Walaupun, nilai  $IC_{50}$  masuk ke dalam kategori lemah, namun nilai  $IC_{50}$  200-1000  $\mu\text{g/mL}$  dinyatakan masih berpotensi sebagai antioksidan (Molyneux, 2004; Pranata, 2013).

### Panjang Gelombang Maksimal dan SPF secara in vitro

Senyawa kimia dalam tabir surya sintetik umumnya adalah senyawa aromatis yang terkonjugasi dengan gugus karbonil. Struktur ini dapat menyerap energi yang tinggi dari matahari kemudian melepas energi tersebut menjadi lebih rendah (Rai *et al.*, 2007). Agen fotoprotektif dapat melindungi kulit dari paparan UV dengan menyerap, memantulkan, serta menyebar

(scatter) sinar matahari (Mishra *et al.*, 2011). Flavonoid memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV (Saewan and Jimtaisong, 2013).

Tingkat efektif suatu tabir surya didasarkan pada pengukuran nilai SPF (*Sun Protection Factor*). SPF adalah nilai yang diperoleh dengan membandingkan waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya sunburn pada kulit yang dilindungi tabir surya dengan kulit yang tidak dilindungi tabir surya (Mishra *et al.*, 2011). Uji SPF secara *in vitro* dilakukan dengan menetapkan panjang gelombang absorpsi maksimum ( $\lambda$  maks) dengan metode spektrofotometri. Scanning spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang antara 260-400 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimum fraksi KBNM-*AcOEt* pada masing-masing konsentrasi masuk kedalam rentang UVA, UVB, atau UVC.

Panjang gelombang maksimum fraksi KBNM-*AcOEt* konsentrasi 5, 25, dan 50  $\mu\text{g/mL}$  diketahui berada pada rentang daerah UVB (290-320 nm), sedangkan panjang gelombang maksimum fraksi KBNM-*AcOEt* konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$  berada pada rentang daerah UVC (200-290 nm). Konsentrasi fraksi KBNM-*AcOEt* yang berada pada rentang UVB dapat dilakukan perhitungan nilai SPF menggunakan rumus yang telah

dikembangkan oleh Mansur *et al.* (1986), sedangkan konsentrasi fraksi KBNM-*AcOEt* yang berada pada rentang UVC tidak perlu dilakukan perhitungan nilai SPF karena sinar radiasi UVC merupakan radiasi yang tidak sampai ke permukaan bumi karena terserap oleh lapisan ozon (McKinlay, 1987).

Hasilnya, nilai SPF fraksi KBNM-*AcOEt* adalah kurang dari 2. Menurut Wasitaadmatdja (1997), nilai SPF minimal suatu tabir surya atau agen fotoprotektif adalah 2. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa fraksi KBNM-*AcOEt* konsentrasi 5, 25, 50 dan 100  $\text{mg/L}$  tidak memiliki daya fotoprotektif. Rendahnya nilai SPF pada fraksi KBNM-*AcOEt* (<2) diduga disebabkan oleh konsentrasi fraksi KBNM-*AcOEt* yang digunakan terlalu rendah.

Menurut Widyastuti *et al.* (2015), konsentrasi ekstrak etanol kulit buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose) menunjukkan efektivitas yang baik sebagai tabir surya pada konsentrasi 900 ppm dengan nilai SPF 22,438, sedangkan pada konsentrasi 100 ppm ekstrak etanol kulit buah naga super merah tidak menunjukkan efektivitas sebagai tabir surya karena nilai SPF kurang dari 2 atau sebesar 1,419.

## KESIMPULAN

Fraksi etilasetat ekstrak etanolik kulit buah naga merah (KBNM-*AcOEt*) mengandung senyawa flavonoid. Daya antioksidan fraksi KBNM-*AcOEt* diketahui bersifat lemah dan fraksi KBNM-*AcOEt* konsentrasi 5, 25, 50 dan 100 mg/L diketahui tidak memiliki daya fotoprotektif.

## SARAN

1. Penelitian ini disarankan dilanjutkan dengan mengisolasi suatu senyawa fenolik atau senyawa flavonoid dari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) untuk diuji secara *in vivo* pada hewan uji untuk mengetahui efek antioksidan serta aktivitas fotoprotektifnya
2. Terimakasih kepada Lembaga Penelitian, Publikasi dan Pengabdian Masyarakat Fakultas Universitas Muhammadiyah Yogyakarta atas dana penelitian unggulan Prodi Farmasi yang mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Budilaksono, W., Wahdaningsih, S., & Fahrurroji, A., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1 – Difenil – 2 - Pikrilhidrazil), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, vol.1 no.1.

Chaiwut, P., O-ki-la, A., Phuttisatien, I., Thitilertdecha, N., Pintathong, P., 2012, Extraction and Stability of Cosmetic Bioactive Compounds from Dragon Fruit Peel, *Conference*, School of Cosmetic Science Mae Fah Luang University, Thailand.

Chet, N.W., 2009, Total Phenolic and Total Flavonoids Content of Pitaya Peels by Water Extraction, *Thesis*, Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering, Universiti Malaysia Pahang.

Choquenot, B., Couteau, C., Paparis, E., & Coiffard, I.J., 2008, Quercetin and Rutin as Potential Sunscreen Agents: Determination of Efficacy by an In Vitro Method, *J Nat Prod*, 71:1117–1118.

Christinawati, T., 2007, Identifikasi Flavonoid pada Herba Pegagan Embun (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lmk.) Hasil Isolasi Secara Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP), *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Desmiaty, Y., Ratnawati, J., Andini, P., 2009, penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lamk) Secara Kolorimetri Komplementer, *Presentasi Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI*, Universitas Sanata Dharma.

Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S., 1986, *Kimia Organik, Jilid 1. Edisi Ketiga Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka Ph.D*, Erlangga, Jakarta.

Gandjar, I.G., & Abdul Rohman, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

Handayani, H., Sriherfyna, F.H., Yunianta, 2016, Ekstraksi Antioksidan Daun

- Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi), *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, vol.4 no.1 p.262-272.
- Harborne, J., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan kedua, Penerjemah: Padmawinata, K. Dan I. Soediro, ITB, Bandung.
- Indriasari, I., 2012, Ekstrak Ethanol Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Memperbaiki Profil Lipid pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Dislipidemia, *Tesis*, Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana, Universitas Udayana Denpasar.
- Junior, R.G.O., Araujo, C.S., Souza, G.R., Guimaraes, A.L., Oliveira, A.P., Lima-Saraiva, S.R.G., Morais, A.C.S., Santos, J.S.R., & Silva, A.J.R.G., 2013, In Vitro Antioxidant and Photoprotective Activities of Dried Extracts from *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae), *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. 3 (01), pp. 122-127.
- Kumar, S., 2011, Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System, *Advances in Applied Science Research*, 2 (1): 129-135.
- Mansur, J.S., Breder, M.V.R., Mansur, M.C.A., Azulay, R.D., 1986, Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol*, 61:121-124.
- McKinlay, A., & Diffey, B.L., 1987, A Reference Action Spectrum for Ultraviolet Induced Erythema in Human Skin: In Human Exposure to Ultraviolet Radiation, Risks and Regulations, *Elsevier*, Amsterdam, Netherlands, p 83.
- Mead, M.N., 2008, Benefits of Sunlight: A Bright Spot for Human Health, *Environmental Health Perspectives*, 116(4): A160–A167.
- Mikamo, E., Okada, Y., Semma, M., Itto, Y., Morimoto, T., 2000, Studies on Structural Correlationship with Antioxidant Activity of Flavonoids, *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 7:97-101.
- Mishra, A.K., Mishra, A., & Chattopadhyay, P., 2011, Herbal Cosmeceuticals for Photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*; 10 (3): 351-360.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26 (2):211-219.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., Sumantri, 2009, Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 1408, *Mediagro*, vol.5 no.2 hal. 26-37.
- Pham-Huy, L.A., He, H., & Pham-Huyc, C., 2008, Free Radical, Antioxidant in Disease and Health. *Int.J. Biomed. Sci.* 4(2):89-96.
- Pieta P-G., 1999, Flavonoids as Antioxidant, Review, *J.Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.
- Pranata, R., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil),

- Skripsi, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Rahmawati, A., 2009, Kandungan Fenol Buah Mengkudu, Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Rai, R., & Srinivas, C.R., 2007, Photoprotection., *Indian dermatol venerol lepro*, vol.73, issue 2.
- Saini, N.K., Singhal, M., Srivastava, B., 2011, Evaluation of Antioxidant Activity of *Tecomaria capensis* Leaves Extract, *Ethnopharmacology*, Vol. 2011, Issue 2.
- Saewan, N., & Jimtaisong, A., 2013, Photoprotection of Natural Flavonoids, *Journal of applied pharmaceutical scienc*, vol.3 (09).
- Sayre, R.M., Agin, P.P., Levee, G.J., Marlowe, E., 1979, Comparison of In Vivo and In Vitro Testing of Sunscreening Formulas, *Photochem Photobiol*, 29:559-566.
- Sudewo, B., 2009, *Buku Pintar Hidup Sehat Cara Mas Dewo*, PT. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Sugrani, A., & Waji, R.A., 2009, Flavonoid (Quercetin), *Makalah*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Suhendi, A., Sjahid, L.R., Hanwar, D., 2011, Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.), *Pharmacon*, Vol.12 No.2
- Sumarny, R., Sofiah, S., Nurhidayati, L., Fatimah., 2014, Antioxidant activity of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Fruit Rind Extract in Oral Solution Dosage Form, *Presentation*, International Symposium on Medicinal Plants & Traditional Medicine.
- Talapessy, S., Suryanto, E., Yudistira, A., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan dari Ampas Hasil Pengolahan Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb), *Jurnal Ilmiah farmasi – UNSRAT*, vol.2 no.03.
- Wasitaatmaja, S.M., 1997, *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*, UI Press, Jakarta.
- WHO, 2015, Protection Against Exposure to Ultraviolet Radiation, *Publication*, Diakses 10 Mei 2015 pukul 11.57 WIB, dari <http://www.who.int/uv/publications/proUVrad.pdf>.
- Widyastuti, Fratama, R.I., Seprialdi, A., 2015, Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose), *Scienta*, vol.5 no.2.
- Wisesa, T.B., & Widjanarko, S.B., 2014, Penentuan Nilai Maksimum Proses Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol.2 (3).88-97.
- Zhinshen, J., Tang, M., & Wu, J., 1999, The Determination of Flavonoid Content in Mulberry and Their Scavenging Effect on Superoxide Radicals, *Food Chemistry*, 64 555-559.