

PENGUJIAN DAYA ANTIOKSIDAN DARI BEBERAPA EKSTRAK KULIT BUAH ASLI INDONESIA DENGAN METODE FTC

Muhtadi, Anggita Leoni Hidayati, Andi Suhendi, Tanti Azizah Sudjono, Haryoto

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102
Email : muhtadi@ums.ac.id

Abstrak

Senyawa fenolik dan flavonoid sebagai antioksidan dapat mengurangi kecepatan peroksidasi lemak. Kerusakan sel yang dipicu oleh stress oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lemak karena produksi ROS yang berlebih dapat dicegah oleh antioksidan. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui kadar fenolik dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah rambutan, durian, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng. Kadar fenolik total diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu, kadar flavonoid total diuji menggunakan reagen aluminium klorida, dan aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode FTC (ferri tiosianat) dimana radikal yang terbentuk akan mereduksi ferro menjadi ferri sehingga terjadi kompleks dengan tiosianat yang dibaca pada λ_{max} 484 nm. Hasil penelitian kulit buah rambutan, durian, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng menunjukkan kadar fenolik total ekstrak secara berurutan adalah 373,19, 64,27, 295,57, 252,93 dan 106,97 mg/g GAE (gallic acid equivalent). Kadar flavonoid total secara berurutan adalah 12,18, 45,81, 9,28, 8,76 dan 5,17 mg/g QE (quercetin equivalent). Potensi persen penghambatan peroksidasi lemak secara berurutan adalah 35,29%, 22,06%, 26,47%, 38,97%, dan 31,62%. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kelengkeng, ekstrak kulit buah durian dan kelengkeng memiliki persen penghambatan peroksidasi lemak yang lebih besar daripada vitamin E sebesar 30,88%.

Kata kunci: *FTC (ferric thiocyanete); fenolik; flavonoid; antioksidan; kulit buah*

Pendahuluan

Radikal bebas dan peroksidasi lemak dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, atherosclerosis, inflamasi dan dengan adanya senyawa antioksidan kecepatan peroksidasi lemak dapat dikurangi (Thitilertdecha et al. 2010). Senyawa antioksidan dapat melindungi kerusakan sel karena mampu menetralkan radikal bebas dengan mekanisme mendonorkan atom hidrogen ke atom yang tidak memiliki pasangan elektron (Kahkonen et al. 1999). Senyawa fenolik terutama flavonoid merupakan kontributor utama sebagai antioksidan dalam tanaman dan senyawa fenolik dalam kulit buah yang bervariasi secara tidak langsung mempengaruhi aktivitas antioksidannya (Zulkifli et al. 2012).

Kulit buah kaya akan senyawa antioksidan alami berupa senyawa fenolik, flavonoid, karotenoid dan antosianin. Kulit sebagai sumber senyawa antioksidan secara perlahan mendapatkan perhatian karena aktivitas biologinya lebih baik daripada bagian yang lain (Zulkifli et al, 2012). Biji juga mengandung senyawa fitokimia seperti fenolik, flavonoid dan tanin yang dapat menghambat produksi radikal bebas yang berlebih sehingga dapat bekerja sebagai antioksidan (Samatha et al. 2012). Kulit dan biji merupakan sisa agrikultur yang menumpuk tiap tahun seperti pada biji dan kulit delima yang dimanfaatkan dalam penelitian untuk mengetahui nilai tambah dari sisa agrikultur sebagai antioksidan (Singh et al. 2002).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan ekstrak etanol kulit jeruk manis memiliki IC₅₀ 0,564 mg/mL dan kadar fenolik total adalah 277 mg/g GAE dan jumlah flavonoid 777,23 mg/100 g (Zulkifli et al, 2012). Ekstrak etanol kulit rambutan, durian, kelengkeng dan biji kelengkeng memiliki IC₅₀ secara berurutan adalah 7,74, 28,83, 8,08, dan 13,41 μ g/mL. Kadar fenolik total ekstrak etanol kulit rambutan, durian, kelengkeng dan biji kelengkeng secara berurutan 158,58, 79,49, 464 dan 273,87 mg/g GAE. Kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit rambutan, durian, kelengkeng dan biji kelengkeng secara berurutan 166,57, 82,77, 477,64 dan 160,99 RE (Rutin Equivalent) (Aninda, 2011; Batubara, 2011; Khasanah, 2011).

Penelitian ini dilakukan dengan metode FTC (ferri tiosianat) yang mengukur jumlah peroksida pada proses awal peroksidasi lemak dan kompleks reaksi feri-tiosianat yang terbentuk dibaca pada panjang gelombang

500 nm (Aris et al, 2009). Pada metode FTC, lemak tak jenuh akan kehilangan atom hydrogen pada gugus (CH₂) sehingga menghasilkan atom karbon yang tak berpasangan (CH[•]) kemudian terjadi reaksi berantai dan antioksidan memecah reaksi berantai dengan mendonorkan atom hidrogen (Devasagayam et al. 2004). Sedangkan DPPH merupakan radikal yang stabil dan bereaksi dengan antioksidan sebagai pendonor hidrogen membentuk DPPHH sehingga absorbansi dari DPPH akan berkurang (Rajesh M. & Natvar J., 2011). Penggunaan metode FTC (ferri tiosianat) sebagai pengganti metode DPPH dikarenakan DPPH adalah radikal nitrogen stabil yang berbeda terhadap radikal peroksil yang ada di peroksidasi lemak. Antioksidan bereaksi cepat dengan radikal peroksil namun bereaksi lambat atau bahkan netral terhadap radikal DPPH (Prior et al. 2005).

Pengujian aktivitas antioksidan dibandingkan dengan suatu senyawa pembanding yang memiliki aktivitas untuk menghambat pembentukan radikal selama peroksidasi lemak. Vitamin E dipilih sebagai senyawa pembanding dalam peroksidasi lemak karena memiliki sifat yang menguntungkan sehingga banyak digunakan sebagai suplemen kesehatan, produk farmasi dan kosmetik, juga dapat menghambat pembentukan radikal peroksida yang dihasilkan selama oksidasi lemak yang dapat diaplikasikan dalam sistem tubuh atau makanan (Sroynak et al. 2013).

Radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif (ROS) terlibat dalam proses biologis alami (Suryohudoyo, 1993) sehingga jaringan tubuh perlu perlindungan terhadap radikal bebas karena dapat mengalami proses penuan jaringan seperti kanker dan penyakit kardiovaskular (Bondet et al. 1997). Pengujian kembali aktivitas antioksidan menggunakan metode FTC dengan sumber radikal yang relevan secara biologi yang dibandingkan menggunakan vitamin E. Kadar fenolik dan flavonoid total juga diujikan untuk mengetahui hubungan antara kadar senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak dengan aktivitas antioksidannya.

Bahan dan Metode Penelitian

1. Alat

Glassware (Pyrex), Spektrofotometer UV-Vis (UV-Mini SHIMADZU), lampu UV, vortex, mikropipet (Socorex), *vaccum rottary evaporator*, *yellow tips*, *blue tips*, neraca analitik (A&D Co. Ltd) dan oven.

2. Bahan

Kulit rambutan, durian, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng, natrium dihidrogen monofosfat, dinatrium hidrogen fosfat, etanol p.a, methanol p.a, lempeng silika gel GF254, Folin-Ciocalteu, ferro klorida, ferri klorida, asam oleat, amonium tiosianat, asam klorida 37%, natrium karbonat, alumunium klorida, heksan, etil asetat dan kalium asetat dari Merck. Vitamin E, asam galat dan kuersetin dari sigma, aqua destilata, dan reagen sitoborat.

3. Pembuatan Ekstrak

Kulit rambutan, durian, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng sebanyak 1 kg yang sudah dihaluskan diekstraksi menggunakan 5 L etanol 96% dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Filtrat diambil melalui penyaringan kemudian diuapkan menggunakan *vaccum rottary evaporator* dengan suhu 60°C kemudian diuapkan diatas waterbath sampai diperoleh ekstrak kental.

4. Identikasi Senyawa Antioksidan

Sampel ditotolkan pada silika GF254 kemudian dielusi dengan heksan:etil asetat (4:6 v/v) kemudian :

a. Uji fenolik menggunakan FeCl₃

Senyawa pembanding yang digunakan asam galat dengan kadar 1% dan disemprot menggunakan FeCl₃. Bercak positif berupa fenolik apabila berwarna hijau, merah ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne. 1987).

b. Uji flavonoid menggunakan sitoborat

Senyawa pembanding yang digunakan kuersetin dengan kadar 1% dan bercak positif berupa flavonoid apabila berflurosensi kuning, gelap, hijau atau biru di bawah sinar UV 366 (Wagner & Bladt, 1995). Plat kemudian disemprot menggunakan sitoborat lalu dipanaskan dalam oven selama 10 menit dengan suhu 105°C, bercak positif mengandung flavonoid bila berwarna kuning (Mulyani & Laksana, 2011).

5. Penetapan Kadar Fenolik Total

Larutan sampel dibuat dengan mengambil 0,1 mL dari konsentrasi 10 mg/mL lalu tambahkan metanol p.a. sampai 1 mL kemudian sebanyak 0,2 mL larutan sampel dicampur dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu kemudian diinkubasi selama 5 menit dan ditambahkan 4 mL larutan Na₂CO₃ 1 M add 10 mL aqua destilata kemudian diinkubasi selama 33-37 menit dan dibaca pada panjang gelombang 756,5 nm. Kurva baku asam galat dibuat dengan konsentrasi 0,5, 2,5, 5, 7,5 dan 10 µg/mL. Hasil dinyatakan sebagai GAE (gallic acid equivalent)/g ekstrak (Ghasemi et al, 2009).

6. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Larutan sampel dibuat dengan menimbang ekstrak sebanyak 50,0 mg lalu dilarutkan dengan metanol p.a. sampai 5 mL kemudian larutan sampel sebanyak 0,2 mL diambil dan ditambahkan 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL 10% ammonium klorida, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan tambahkan aqua destilata sampai 5,0 mL kemudian

diinkubasi dalam suhu ruang selama 23-27 menit dan dibaca pada panjang gelombang 427 nm. Kurva baku kuersetin dibuat dengan konsentrasi 1, 5, 10, 15 dan 20 µg/mL. Hasil dinyatakan sebagai QE (quercetin equivalent)/g ekstrak (Chang et al. 2002).

7. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FTC (ferri-tiosianat)

Ekstrak kulit dan biji ditimbang sebanyak 10,0 mg ditambah etanol p.a. sampai 10 mL. Sampel dibuat dari larutan ekstrak kulit dan biji sebanyak 4 mL dengan konsentrasi 1 mg/mL, 4,1 mL asam oleat 2,52%, 8 mL buffer fosfat 0,02 M dan air sebanyak 3,9 mL diinkubasi pada suhu 40°C dan dibaca tiap 24 jam sampai diperoleh absorbansi maksimum dari kontrol negatif (campuran asam oleat, buffer fosfat, air dan pelarut ekstrak). Selama inkubasi, 0,1 mL larutan sampel yang diinkubasi diambil kemudian ditambah 9,7 mL etanol 75%, 0,1 mL ammonium tiosianat 30%, dan 0,1 mL ferro klorida 0,02 M diinkubasi selama 3 menit kemudian dibaca pada panjang gelombang 500 nm (Rezaeizadeh et al, 2011).

Hasil dan Pembahasan

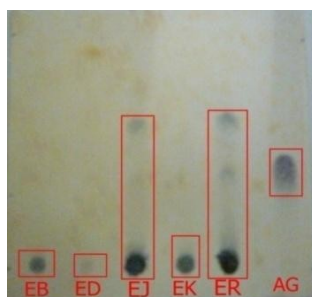
Rendemen yang diperoleh dari proses ekstraksi untuk ekstrak kulit rambutan, durian, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng ditunjukkan pada Tabel 1 beserta hasil organoleptis.

Tabel 1. Hasil organoleptis dan rendemen

Sampel	Warna	Tekstur	Rasa	Rendemen (%) b/b
Ekstrak biji kelengkeng	Coklat kekuningan	Lengket	Pahit	4,19
Ekstrak kulit durian	Coklat kekuningan	Lengket	Pahit	16,93
Ekstrak kulit jeruk manis	Coklat	Lengket	Pahit	25,49
Ekstrak kulit kelengkeng	Coklat kekuningan	Lengket	Pahit	13,11
Ekstrak kulit rambutan	Coklat kemerahan	Keras	Pahit	27,16

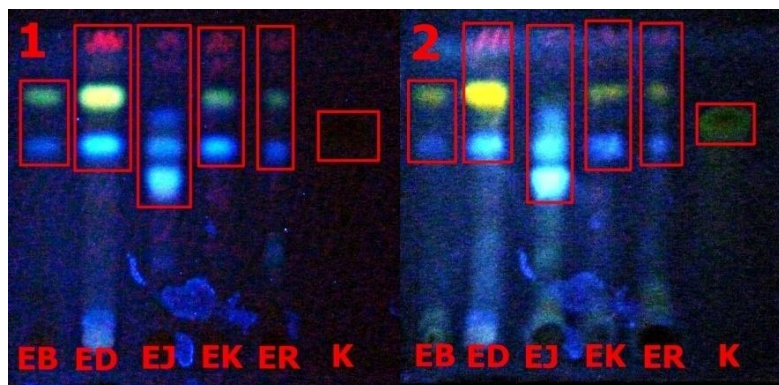
1. Identifikasi Senyawa Antioksidan

Hasil pemisahan menunjukkan pemataman pada UV 254 dan UV 366 menunjukkan pemisahan dengan bercak yang fluoresensinya berwarna biru, hijau dan merah.



Gambar 1. Hasil identifikasi ekstrak biji kelengkeng (EB), ekstrak kulit durian (ED), ekstrak kulit jeruk manis (EJ), ekstrak kulit kelengkeng (EK) dan ekstrak kulit rambutan (ER) secara tampak senyawa fenolik dengan pembandingan asam galat (AG) menggunakan reagen FeCl₃

Pada percobaan ekstrak kulit rambutan, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng positif mengandung senyawa fenolik yang ditunjukkan dengan warna bercak hitam pada awal penotolan (Gambar 1). Ekstrak kulit durian hanya menunjukkan sedikit intensitas warna bercak hitam sehingga ekstrak kulit durian mengandung senyawa fenolik dalam jumlah sedikit. Sedangkan ekstrak kulit rambutan menunjukkan intensitas warna yang paling gelap daripada ekstrak yang lainnya. Pada ekstrak kulit rambutan terdapat bercak yang Rfnya sama dengan Rf asam galat Juga terdapat bercak yang lebih besar Rfnya daripada Rf asam galat pada ekstrak kulit rambutan dan kelengkeng.



Gambar 2. Hasil identifikasi pada senyawa flavonoid dengan pembandingan kuersetin (K) pada sinar UV 366 sebelum disemprot dengan reagen sitroborat (1) dan sesudah disemprot dengan reagen sitroborat (2)

Identifikasi senyawa flavonoid (Gambar 2) menunjukkan semua bercak hasil pemisahan tidak satupun yang menunjukkan Rf yang sama dengan kuersetin. Ini menunjukkan bahwa semua bercak hasil pemisahan tidak memiliki senyawa yang mirip dengan kuersetin. Warna bercak pada ekstrak setelah disemprot dengan reagen sitroborat terjadi perubahan warna sedikit lebih intens daripada warna sebelumnya (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa flavonoid setelah disemprot reagen sitroborat pada sinar UV 366

Sampel	Rf	Warna bercak		Intensitas bercak
		Sebelum disemprot sitroborat	Sesudah disemprot sitroborat	
Ekstrak biji kelengkeng	0,78	Hijau	Kuning	+
Ekstrak kulit durian	0,78	Hijau	Kuning	+++++
Ekstrak kulit kelengkeng	0,78	Hijau	Kuning	++
Ekstrak kulit rambutan	0,78	Hijau	Kuning	++

Bercak sebelum disemprot dengan reagen sitroborat berwarna merah, hijau dan biru kemudian bercak setelah disemprot berwarna merah, kuning dan biru (Gambar 2). Bercak positif mengandung flavonoid setelah disemprot sitroborat bila berwarna kuning (Mulyani & Laksana, 2011). Ekstrak kulit durian (Gambar 2) menunjukkan bercak fluoresensi kuning yang intensitasnya kuat diantara semua ekstrak setelah disemprot menggunakan sitroborat kemudian diikuti ekstrak kulit kelengkeng, rambutan dan biji kelengkeng.

2. Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri Folin-Ciocalteu. Metode Folin Ciocalteu awalnya berasal dari reagen kimia yang digunakan untuk analisis tirosin dimana fenol yang teroksidasi oleh reagen molibdotungstat akan menghasilkan produk berwarna pada panjang gelombang 745-750 nm. Reaksi yang terjadi sebagai berikut :



Namun, reaksi diatas berjalan lambat pada pH asam dan kurang spesifik sehingga metode ini diperbaiki dengan penggunaan reagen molybdotungsto-phosporic heteroplyanion yang mereduksi fenol secara spesifik dan produk hasil reduksi dibaca pada panjang gelombang 765 nm (Prior et al. 2005). Absorbansi maksimum dari hasil reaksi fenol dengan fosfotungstat-fosfomolibdenum tergantung dari larutan alkali dan konsentrasi senyawa fenolik (Blainski et al. 2013).

Operating time dibutuhkan agar reaksi antara gugus hidroksi dari senyawa fenolik dan reagen Folin-Ciocalteu dapat berjalan maksimal sehingga dilakukan penetapan operating time. Penentuan operating time dilakukan menggunakan asam galat sebagai senyawa pembandingan pada panjang gelombang 760 nm dan didapatkan waktunya adalah 33-37 menit. Panjang gelombang maksimal dari asam galat didapatkan di 756,5 nm. Persamaan regresi linier yang didapat $y = 0,114x + 0,004$ ($R^2 = 0,999$) dari konsentrasi 0,5-10 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil percobaan sampel (Tabel 3) menunjukkan ekstrak rambutan memiliki kadar fenolik paling besar yaitu 373,19 GAE yang diikuti ekstrak kulit jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng. Terakhir ekstrak kulit durian yang memiliki kadar fenolik paling sedikit yaitu 64,27 GAE.

Tabel 3. Kadar fenolik total yang dinyatakan sebagai GAE (*gallic acid equivalent*)

Sampel	Kadar fenolik total			Rata-rata kadar fenolik mg/g (GAE/ekstrak)
	1	2	3	
Ekstrak kulit durian	67,35	66,90	58,55	64,27
Ekstrak kulit jeruk manis	298,05	281,40	307,25	295,57
Ekstrak kulit kelengkeng	267,80	268,84	222,16	252,93
Ekstrak kulit rambutan	378,71	358,85	382,01	373,19
Ekstrak biji Kelengkeng	104,20	112,53	104,19	106,97

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian kadar fenolik total sebelumnya. Ekstrak kulit durian, kulit kelengkeng dan biji kelengkeng menunjukkan kadar fenolik total yang lebih rendah daripada hasil penelitian yang sebelumnya. Sebaliknya untuk ekstrak kulit rambutan dan jeruk manis menunjukkan kadar fenolik total yang lebih tinggi dari penelitian sebelumnya.

3. Penetapan kadar Flavonoid Total

Pengujian dilakukan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dimana aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus keto C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari flavones dan flavanol. Sedangkan aluminium klorida membentuk ikatan yang labil dengan gugus orto dihidroksi di cincin A atau B pada flavonoid (Chang et al. 2002). Operating time menggunakan kuersetin waktunya adalah 23-27 menit dan panjang gelombang maksimalnya adalah 427 nm.

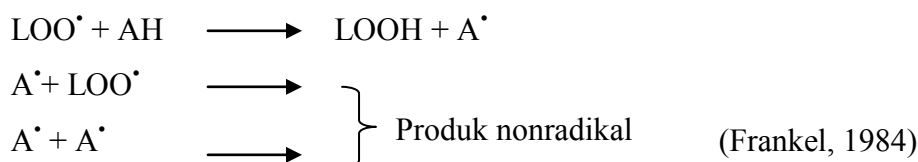
Operating time menggunakan kuersetin waktunya adalah 23-27 menit dan panjang gelombang maksimalnya adalah 427 nm. Persamaan regresi linier yang didapat $y = 0,068x - 0,007$ ($R^2 = 0,999$) dari konsentrasi 1-20 µg/mL. Hasil percobaan pengujian kadar flavonoid total (Tabel 4) menunjukkan ekstrak kulit durian memiliki kadar flavonoid yang paling besar dibanding ekstrak yang lain yaitu 46,03 QE kemudian diikuti dengan ekstrak kulit rambutan, jeruk manis, kelengkeng dan biji kelengkeng memiliki kadar flavanoid yang paling sedikit yaitu 5,21 QE.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian kadar flavonoid total sebelumnya karena perbedaan senyawa pembanding. Penelitian sebelumnya menggunakan flavonoid rutin sebagai senyawa pembanding sedangkan penelitian sekarang menggunakan flavonoid kuersetin. Kadar flavonoid total pada penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak kulit kelengkeng memiliki kadar flavonoid total yang paling tinggi diikuti ekstrak kulit rambutan, biji kelengkeng, kulit durian dan kulit jeruk manis.

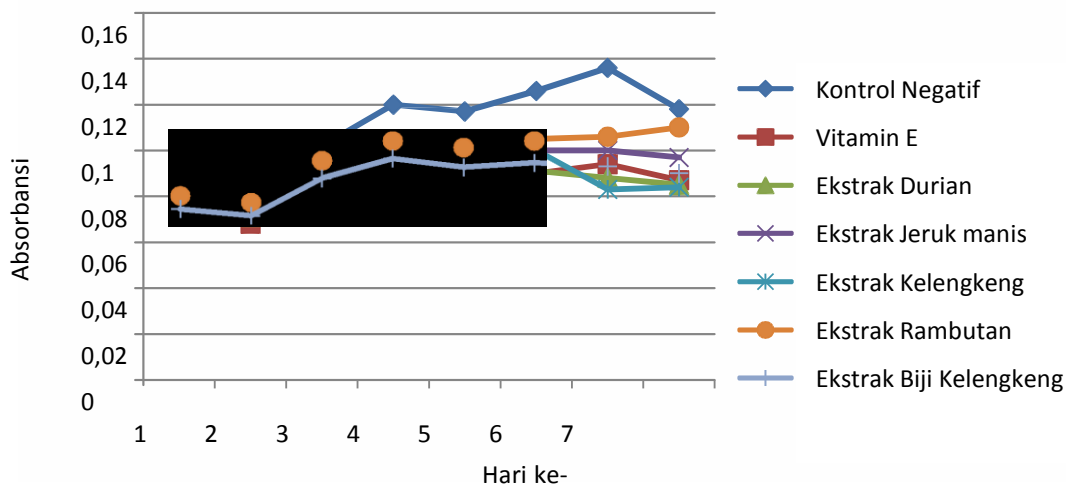
4. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FTC (ferri-tiosianat)

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan pendonor hidrogen bagi radikal bebas terbentuk selama proses peroksidasi lemak. Antioksidan menekan pembentukan radikal hidroperoksi pada fase awal peroksidasi lemak melalui pemecahan reaksi berantai (Yusri et al. 2012). Absorbansi yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dikarenakan radikal yang terbentuk selama peroksidasi lemak membentuk produk akhir yang stabil. Radikal yang terbentuk relatif stabil karena resonansi dan tidak mudah untuk ikut dalam reaksi berantai (Nijveldt et al. 2001; Zou et al. 2004; Dai et al. 2010).

Antioksidan (AH) dapat memecah reaksi berantai dengan bereaksi dengan LOO^* yang membentuk radikal yang stabil (A^*) dimana tidak reaktif atau produk nonradikal.

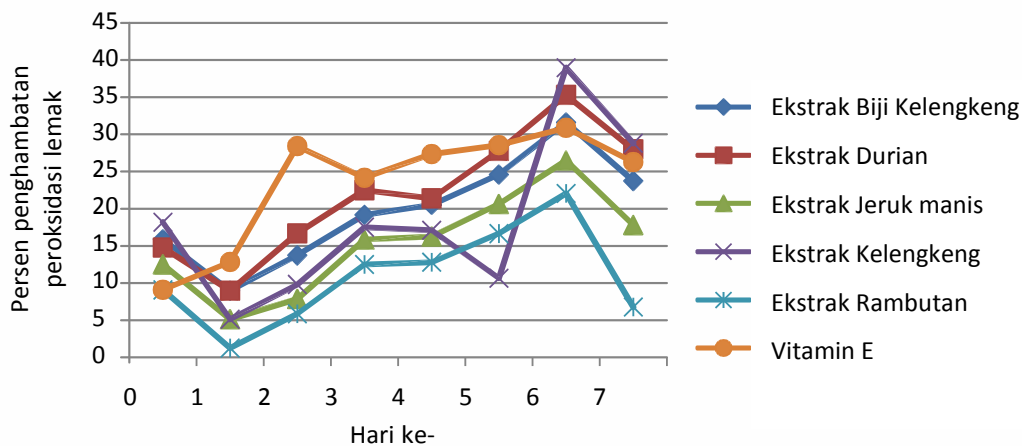


Pembacaan proses peroksidasi lemak dilakukan sampai didapat absorbansi maksimum dari kontrol negatif dan pada percobaan absorbansi maksimum kontrol negatif didapat pada hari ke 6 (gambar 4).



Gambar 4. Profil kenaikan absorbansi metode FTC (ferri tiosianat) dalam waktu 7 hari

Kenaikan jumlah peroksida pada proses awal peroksidasi lemak (gambar 4) yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi pada sampel dan kontrol negatif dari hari ke 0 sampai ke 7. Sampel menunjukkan positif memiliki aktivitas antioksidan apabila absorbansi sampel berada dibawah absorbansi kontrol negatif.



Gambar 5. Profil kenaikan persen penghambatan peroksidasi lemak dalam waktu 7 hari

Gambar 5 menunjukkan aktivitas penghambatan vitamin E lebih tinggi daripada sampel sampai hari ke 1-5. Pada hari ke 6, persen penghambatan peroksidasi lemak ekstrak kulit buah durian, kelengkeng dan biji kelengkeng lebih besar daripada vitamin E.

Tabel 5. Persen penghambatan peroksidasi lemak pada hari ke 6

Sampel	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol negatif	Aktivitas antioksidan (%)
Ekstrak kulit durian	0,088	0,136	35,29
Ekstrak kulit rambutan	0,106		22,06
Ekstrak kulit jeruk manis	0,100		26,47
Ekstrak kulit kelengkeng	0,083		38,97
Ekstrak biji Kelengkeng	0,093		31,62
VitaminE	0,094		30,88

Pada Tabel 5 menunjukkan persen penghambatan peroksidasi lemak semua sampel pada hari ke 6. Persen penghambatan peroksidasi lemak ekstrak kulit kelengkeng menunjukkan aktivitas yang paling besar yaitu 38,97% dan ekstrak kulit rambutan menunjukkan aktivitas paling kecil yaitu 22,06%. Persen penghambatan peroksidasi lemak ekstrak kulit kelengkeng > ekstrak kulit durian > ekstrak biji kelengkeng > vitamin E > ekstrak kulit jeruk manis > ekstrak kulit rambutan.

Aktivitas antioksidan berbeda untuk tiap ekstrak dikarenakan kandungan senyawa yang berbeda. Aktivitas antioksidan berhubungan dengan senyawa fenolik dan flavonoid yang ada dalam ekstrak. Penelitian Thitilertdecha *et al.* (2010) kulit buah rambutan mengandung asam ellagat, geraniin, dan corilagin. Kulit buah durian mengandung flavonoid, saponin, lignin, polifenol yang berupa kafeat, asam ferulat, apigenin, asam p-hidroksibenzoat, asam anisat dan asam vanilat (Poovarodom *et al.* 2010). Kulit kelengkeng mengandung kelompok asam ellagat, flavonol kuersetin dan kaempferol serta kompleks hidroksisinamat (Jaitrong *et al.* 2006). Kulit buah jeruk mengandung glikosida flavon hesperidin, neohesperidin, narirutin, nariginin, triterpen limonen dan sitrol, antosianin, zeaxanthin, kriptoxantin, rutin, eriositrin, beta-kriptoxantin, tangeretin dan nobiletin (Milind & Dey, 2012). Biji kelengkeng mengandung asam galat, etil galat, corilagin, asam ellagat, 1-O-galloyl- β -D-glucopyranoside dan 4-O- α -L-rhamnopyranosyl ellagic acid (Panyathep *et al.* 2013). Senyawa-senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa fenolik dan flavonoid.

Tabel 6. Kadar fenolik, flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit

Sampel	Kadar fenolik (mg/g GAE)	Kadar flavonoid (mg/g QE)	Aktivitas antioksidan (%)
Ekstrak kulit durian	64,27	46,03	35,29
Ekstrak kulit jeruk manis	295,57	9,34	26,47
Ekstrak kulit kelengkeng	252,93	8,82	38,97
Ekstrak kulit rambutan	373,19	12,26	22,06
Ekstrak biji Kelengkeng	106,97	5,21	31,62

Pada percobaan (Tabel 6) semakin tinggi kadar fenolik tidak menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat dalam peroksidasi lemak. Ekstrak kulit rambutan yang memiliki kadar fenolik yang paling tinggi tidak menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi justru aktivitas antioksidannya paling rendah dari semua ekstrak. Ekstrak kulit durian memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi diikuti dengan ekstrak kulit kelengkeng dan biji kelengkeng. Ekstrak kulit durian memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena kadar flavonoid yang tinggi namun ekstrak kulit kelengkeng dan biji kelengkeng memiliki kadar flavonoid yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Pada percobaan Thitilertdecha *et al.* (2008) pada kulit rambutan dengan pelarut metanol menunjukkan linieritas antara kadar fenolik dan aktivitas antioksidan dengan metode FTC ($R^2 = 0,68$) dan DPPH ($R^2 = 0,96$). Aktivitas antioksidan dengan metode FTC pada percobaan kurang menunjukkan linieritas terhadap senyawa fenolik bila dibandingkan dengan linieritas DPPH. Hal ini dapat disebabkan oleh metode FTC memiliki sensitifitas yang tinggi dengan kelemahan pada pembentukan kompleks warna yang harus dilakukan tidak lebih dari 3 menit setelah dilakukan pencampuran dikarenakan kompleks warna cenderung memudar sehingga dapat mempengaruhi akurasi (Yamaguchi *et al.* 1983). Selain itu, cara kerja yang berbeda pada metode FTC dan DPPH. Reaksi pada metode DPPH dilakukan hanya sekali antara radikal DPPH dengan larutan ekstrak. Sedangkan pada metode FTC, asam oleat sebagai asam lemak tak jenuh yang akan diubah menjadi radikal harus dibentuk terlebih kemudian direaksikan dengan ferri agar berubah menjadi ferro lalu ditambahkan tiosianat agar terbentuk kompleks ferro tiosianat yang dibaca pada panjang gelombang 500 nm. Langkah kerja yang terlalu panjang pada metode FTC dapat mempengaruhi validasi pada metode ferro tiosianat. Juga aktivitas antioksidan yang tergantung pada mekanisme donor hidrogen, jumlah dan reaktivitas gugus fungsional senyawa antioksidan (Heim *et al.* 2002; Shahwar & Raza, 2012). Metode FTC yang memiliki kelemahan pada proses pembentukan kompleks warna yang dapat mempengaruhi akurasi sehingga metode ini memerlukan keterampilan yang tinggi serta waktu dan pekerja diharuskan untuk menentukan perbandingan pengenceran dikarenakan jarak pengukuran yang sempit (Yamaguchi *et al.* 1983).

Kesimpulan

Kadar fenolik total dari ekstrak kulit rambutan, durian, jeruk manis kelengkeng dan biji kelengkeng secara berturut-turut adalah 373,19, 64,27, 295,57, 252,93 dan 106,97 mg/g GAE (*gallic acid equivalent*). Kadar flavonoid secara berurutan adalah 12,26, 46,03, 9,34, 8,82, dan 5,21 mg/g QE (*quercetin equivalent*). Aktivitas antioksidan ekstrak kulit rambutan, durian, jeruk manis kelengkeng dan biji kelengkeng secara berurutan adalah 22,06%, 35,29%, 26,47%, 38,97%, dan 31,62%. Ekstrak kulit durian, kelengkeng dan biji kelengkeng memiliki persen penghambatan peroksidasi lemak yang lebih besar dari pada vitamin E.

Daftar Pustaka

- A., Rezaeizadeh, Zuki, A.B.C., M., Abdollahi, Goh, Y.M., Noordin, M.M.m Hamid, M., and Azmi, T.I., (2011), Determination of Antioxidant Activity in Methanolic and Chloroformic extract of *Momordica Charantia*, *Academic Journal*, 4932-4950
- Annida, Rifka., (2011), Korelasi Aktivitas Antioksidan Dengan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Kelengkeng Total (*Euphorbia longan* Lour. Steud) Beserta Fraksi-Fraksinya, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Aris, S. R. S., Mustafa, S., Ahmat, N., Jaafar, F. Moh. & Ahmad, R., (2009), Phenolic Content and Ntioxidant Activity of Fruits of *Ficus dettoidea* var. *Angustifolis* sp., *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 13(2), 146-150
- Batubara, Risa W., (2011), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Lokal Dan Fraksi-Fraksinya Dengan Metode DPPH Serta Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Totalnya, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Blainski, A., Lopes, G.C. & Mello, C.P., (2013), Application and Analysis of The Folin Ciocalteu Method for The Determination of The Total Phenolic Content from *limonium Brasiliense* L., *Molecules*, 18, 6852-6865
- Bondet, V., Brand-Williams, W. & Berset, C., (1997), Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity Using The DPPH Free Radical Method, *Lebensm-Wiss u Technol*, 30, 609-615
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., (2002), Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colometric Method, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, Ketaki S., Ghaskadbi, Saroj S. & Lele, R.D., (2004), Free Radical and Antioxidants in Human health: Current Status and Future Prospects, *JAPI*, 52, 794-804
- Frankel, E.N., (1984), Lipid Oxidation: Mechanisms, Products, and Biological Significance, *JAOCs*, 61(12), 1908-1977
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y. & Ebrahimzadeh, M.A., (2009), Antioxidant Activity, Fenol and Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels and Tissues, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22, 277- 281
- Harborne, J.B., (1987), *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, 49, Bandung, ITB Press
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J., (2002), Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolisme and Structure-Activity Relationship, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584
- Jaitrong, S., Rattanapanone, N. & Manthey, J.A., (2006), Analysis of the Phenolic Coumpounds in *Longan* (*Dimocarpus longan* Lour.) Peel, *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 119:371-375
- Khamoek, P., Boottayote, K. & Sutti, N., (2012), Antioxidant Activity and Chemical Constituents of Rambutan Peel, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 65
- Kahkonen, Marja P., Hopis, Anu I., Vourela, Heikki J., Rauha, Jessi-Pekka., Pihlaja, Kalevi., Kujala, Tytti S. & Heinonen, Marina., (1999), Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem*, 47, 3954-3962
- Khasanah, Atina N., (2011), Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Etanol, Fraksi- Fraksinya Dari Kulit Buah Dan Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Serta Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Totalnya, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Milind, Parle. & Dey, Chaturvedi., (2012), Orange: Range of Benefit, *International Reasearch Journal of Pharmacy*, 3(7), 59-63
- Mulyani, S. & Laksana, T., (2011), Analisis Flavonoid dan Tannin Dengan Metode Mikroskopi-Mikrokimiawi, *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 109-114
- Nijveldt, R., Nood, E.V., Hoorn, D.E.C.V., Boelens, P.G., Norren, K.V. & Leeuwen, P.A.M.V., (2001), Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Application, *Am J Clin Nutr*, 74:418-25

- Panyathep, A., Chewonarin, T., Taneyhill, K. & Vinitkekumnuen, U., (2013), Antioxidant and Antimatrix Metalloproteinase Activities of Dried Longan (*Euphoria longana*) Seed Extract, *Science Asia*, 1513-1874
- Poovarodom, S., Harvenkit, R., Vearasilip, S., Nemiesnik, J., Cvikrova, M., Martincova, O., Erza, A., Suhaj, M., Raumsuke, P., & Gorinstein, (2010), Comparative Characterisation of Durian, Manggo, Avocado, *International journal of Food Sceince and Technology*, 45, 921-929
- Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K., (2005), Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302
- Rajesh M., P. & Natvar J., P., (2011), In Vitro Antioxidant Activity of Coumarin Compounds by DPPH, Super Oxide and Nitric Oxide Free Radical Scavenging Methods, *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 1, 52-68
- Rekha, C., Poornima, G., Manasa, M., Abhipsa, V., Devi, J.P., Kumar, H.T.V. & Kekuda, T.R.P., (2012), Ascorbic Acid, Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Fresh Juices of Four Ripe and Unripe Citrus Fruits, *Chem Sci Trans*, 1(2), 303-310
- Samatha, T., Rachary, R.S., Srinivas, P. & Swamy, N.R., (2012), Quantification of Total Phenolic and Total Flavonoid Contents in Extracts of *Oroxylum indicum* L., *Kurz.*, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5, 178-180
- Shahwar, D & Raza, M.A., (2012), Antioksidan Potential of Phenolic Extract of *Mimusops elengi*, *Asian Pacific Journal*, 547-550
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C., Jayaprakash, G.K., (2002), Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extract Using in vitro Models, *J. Agric. Food Chem*, 50, 81-86
- Sroynak, R., Srikalong, P. & Raviyan, P., (2013), Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Vitamin E Extracted From Palm Fatty Acid Distillate by Sequential Cooling Hexane, *Journal of Agriculture Science*, 5, 4, 224-237
- Suryohudoyo, P., (1993), Oksidan, Antioksidan Dan Radikal Bebas, 3, Surabaya, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair
- Thitilertdecha, N., Teerawutgulrag, A. & Rakariyatham, N., (2008), Antioxidant and Antibacterial Activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts, *Swiss Society and Technology*, 41, 2029-2035
- Thitilertdecha, N., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J. D. & Rakariyatham, N., (2010), Identification of Major Phenolic Compound from *Nephelium lappaceum* L. and Their Antioxidant Activities, *Molecules*, 15, 1453-1465
- Yamaguchi, T., Misaki, H. & Shizouka, (1983), Assaying Lipid Peroxide in Lipid Compositions, United States Patent, Japan
- Zulkifli, K.S., Abdullah, N., Abdullah, A., Aziman, N. & Kamarudin S.S.W., (2012), Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activitu of Selected Fruits Peels, *International Conference on Environment, Chemistry and Biology*, 49, 66-70