

Antioxidant Activity of Mesocarp Extract of Watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai) Using ABTS Method

Astuti Amin, Radhia Riski, Nuning Rindam Sutamanggala
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, 90241, Indonesia

Artikel info

Diterima : 12 Mei 2021
Direvisi : 18 Mei 2021
Disetujui : 17 Juni 2021

Keyword

Antioxidants
Mesocarp of watermelon
ABTS method

ABSTRACT

Watermelon mesocarp is a layer of watermelon skin between endocarp and mesocarp, which is white in color which has many compounds, one of which is flavonoids which can act as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant potential of the ethanol extract of watermelon mesocarp by looking at the IC₅₀ value. Mesocarp of watermelon was extracted by maceration using ethano 70% solvent. The results of the antioxidant activity test using the ABTS method (2,2-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) showed very strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 31.42 µg/ml antioxidants with a very strong category against ABTS free radicals.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Mesokarp Buah Semangka (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai) dengan Metode ABTS

ABSTRAK

Kata kunci

Antioksidan
Mesokarp buah semangka
ABTS

Mesokarp buah semangka adalah lapisan kulit semangka antara endokarp dan mesokarp berwarna putih yang memiliki banyak kandungan senyawa, salah satunya adalah flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol mesokarp buah semangka dengan melihat nilai IC₅₀. Mesokarp buah semangka diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic acid) menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 31,42 µg/ml. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa mesokarp buah semangka memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat terhadap radikal bebas ABTS.

Koresponden author

Astuti Amin
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
Email: amin.astuti@gmail.com

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut berpasangan, dengan cara mengikat elektron yang berada di sekitarnya. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stres, radiasi, asap rokok dan polusi (Alkadi, 2020; Edge & Truscott, 2018; Khan *et al.*, 2018). Salah satu efek yang ditimbulkan dengan meningkatnya radikal bebas dalam tubuh yaitu penuaan dini (Buehler, 2012).

Penuaan dini dipicu oleh adanya penurunan jumlah kolagen dan elastase pada kulit yang rusak akibat paparan radikal bebas sehingga kulit akan menjadi keriput. Maka dari itu dibutuhkan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif disebut antioksidan (Azmi *et al.*, 2014; Pientaweeratch *et al.*, 2016).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas reaktif, sehingga membentuk radikal bebas yang tidak reaktif dan relatif lebih stabil. Antioksidan dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai, menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh (Brewer, 2011).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan banyak dijumpai dilingkungan sekitar kita adalah semangka. Kebanyakan orang di Indonesia hanya mengonsumsi bagian daging buah semangka, sedangkan bagian kulit semangka hanya dijadikan sebagai limbah yang kurang dimanfaatkan. Padahal, pada mesokarp semangka pun mempunyai kadar antioksidan yang tinggi sebagai penetral radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel dalam tubuh (Tahir *et al.*, 2016). Penelitian Mariani (2018) uji aktivitas antioksidan ekstrak buah semangka menyatakan sampel yang digunakan yakni mesokarp semangka merah, kulit putih semangka kuning, daging semangka merah dan daging semangka kuning tergolong sebagai antioksidan alami yang sangat kuat (Mariani *et al.*, 2018).

Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa berdasarkan hasil skrining fitokimia jus mesokarp buah semangka mengandung senyawa fenolik. Senyawa fenolik adalah fitonutrien yang memiliki sifat antioksidan. Kandungan senyawa fenolik berkhasiat sebagai antioksidan dengan cara menghambat proses oksidasi oleh radikal bebas dengan menghambat inisiasi atau proses propagasi (Ismayanti *et al.*, 2013). Sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif dalam tubuh manusia (Nirwana & Mutakin, 2019). Latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak mesokarp buah semangka dengan metode 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS).

METODE PENELITIAN

Pengolahan Sampel

Mesokarp buah semangka dengan buah yang segar dan tidak termakan ulat dibersihkan, kemudian di potong-potong diletakkan di atas tempat pengeringan dan ditutup dengan menggunakan kain hitam dijemur pada panas matahari sambil dibalik hingga menjadi kering. Pengeringan berlangsung 5-6 hari, lalu dihancurkan menggunakan blender. Kemudian ditimbang 200 g mesokarp semangka yang telah halus dimaserasi dengan 2000 ml etanol 70%. Didiamkan selama 2 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring dengan kertas saring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Kemudian residunya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% kemudian setiap filtrat hasil maserasi digabungkan lalu diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak pekat pada mesokarp semangka.

Skrining fitokimia ekstrak

Uji alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak uji diuapkan di atas cawan porselen hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat kemudian di bagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan asam encer yang berfungsi sebagai blangko. Tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Wardhani & Supartono, 2015).

Uji flavonoid

Sejumlah sampel diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan pada sampel serbuk magnesium 2 mg dan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya flavonoid (Muthmainnah, 2017; Syukur *et al.*, 2014).

Uji tanin

Sebanyak 1 g ekstrak dididihkan selama 3 menit dalam 10 mL aquadest lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan dengan aquadest sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%, jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Fu & Chen, 2019).

Uji saponin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas sebanyak 10 mL, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.

Uji steroid dan terpenoid

Ekstrak dimasukkan sedikit dalam tabung reaksi, lalu dikocok dengan sedikit eter. Lapisan eter diambil lalu diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan dua tetes asam

asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna oranye, merah atau kuning berarti positif terpenoid. Tetapi apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid

Uji fenolik

Sebanyak 5 mL ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%, hasil positif ditandai dengan warna hijau sampai biru kehitaman (Fu & Chen, 2019).

Pembuatan larutan ABTS

Larutan stok ABTS dibuat dengan cara membuat larutan (A) dengan menimbang 7,1015 mg ABTS dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Diinkubasi selama 12 jam, kemudian dibuat larutan (B) dengan 3,500 mg $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Diinkubasi selama 12 jam kemudian larutan A dan B dicampur dalam ruang gelap dan dicukupkan volumenya dengan etanol pro analisis sampai 25 ml.

Pembuatan larutan stok

Ditimbang 50 mg ekstrak mesokarp buah semangka dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan, volume akhir dicukupkan dengan etanol p.a sampai 50 ml dalam labu ukur. Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg vitamin C murni dan dilarutkan dengan etanol p.a volume akhir dicukupkan hingga 50 ml labu ukur.

Pengukuran serapan larutan blanko

Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan etanol absolut dalam vial. Larutan ini kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 400-800 nm.

Pengukuran aktivitas pengikatan

Larutan stok konsentrasi 1000 ppm dipipet masing-masing 100 μL , 150 μL , 200 μL , 250 μL , dan 300 μL , campuran masing-masing ditambah 1 mL larutan ABTS cukupkan volumenya 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; 50 ppm dan 60 ppm. Larutan dihomogenkan lalu diukur serapan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Larutan induk Vitamin C 1000 ppm di encerkan 200 ppm, kemudian dipipet masing-masing 25 μL , 31 μL , 37 μL , 43 μL dan 50 μL , campuran masing-masing ditambah 1 mL Larutan ABTS lalu dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan etanol pro analisis sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 ppm, 1,25 ppm, 1,5 ppm, 1,75 ppm dan 2 ppm. Selanjutnya larutan dihomogenkan lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia mesokarp buah semangka diekstraksi dengan metode Maserasi. Metode ini digunakan karena metode ini merupakan metode dingin sehingga dapat mencegah rusaknya zat aktif akibat pemanasan yang tinggi (Edge & Truscott, 2018). Pada metode maserasi sampel direndam dengan penyari etanol 70%. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam hal ini senyawa fenolik dengan mendegradasi dinding sel sehingga senyawa aktif keluar dari sel. Zat aktif akan larut dalam cairan penyari karena adanya perbedaan

Tabel 1 Hasil uji identifikasi kimia

Golongan senyawa	Hasil pengujian
Alkaloid	+
Fenolik	+
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	-
Steroid dan Terpenoid	-

konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Chemat *et al.*, 2020; Daniels *et al.*, 2020). Untuk mengoptimalkan proses ini maka dilakukan sebanyak 2 kali (remaserasi), ampas dari ekstraksi pertama dimaserasi kembali. Ekstrak etanol 70% diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Sehingga didapatkan rendemen 34 % dapat dilihat pada Tabel 1. Rendemen ekstrak dihitung dengan perbandingan berat ekstrak dengan berat simplisia dikalikan 100% maka diperoleh hasil rendemen ekstrak mesokarp buah semangka sebesar 34%.

Uji identifikasi kimia ekstrak dilakukan meliputi uji senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid. Hasil uji identifikasi kimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pengukuran daya antioksidan ekstrak mesokarp buah semangka dan Vitamin C dengan metode ABTS dapat dilihat pada Tabel 3. Ekstrak mesokarp buah semangka diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode ABTS. Metode ini dipilih karena memiliki keunggulan memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visibel dan waktu reaksi yang lebih cepat. Selain itu ABTS dapat dilarutkan dengan pelarut organik maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik. Senyawa antioksidan dapat bereaksi dengan radikal ABTS melalui mekanisme gugus hidroksil dalam fenolik berkontribusi dengan mendonorkan atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna ABTS dari biru hijau menjadi tidak berwarna yang diukur pada panjang gelombang 750 nm. Pengujian masing-masing dilakukan terhadap 5 konsentrasi yaitu ekstrak mesokarp buah semangka 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer visibel dengan vitamin C sebagai pembanding (kontrol positif).

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS menunjukkan perubahan warna dari biru kehijauan yang perlahan hilang ini menandakan terjadi reaksi antara antioksidan dan radikal ABTS pada Gambar 1.

Pengujian aktivitas antioksidan diperoleh hasil bahwa ekstrak mesokarp buah semangka mempunyai nilai IC_{50} sebesar 31,42. Berdasarkan nilai IC_{50} yang dihasilkan maka ekstrak mesokarp buah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai < 50 ppm. Menurut Siddiq *et al.*, tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat (< 50 ppm), kuat (50 - 100 ppm), sedang (101 - 150 ppm), lemah (> 150 -200 ppm), sangat lemah

Tabel 3 Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak mesokarp buah semangka terhadap radikal ABTS

Sampel	Konsentrasi	% inhibisi	Persamaan Garis Linear	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Mesokarp Buah Semangka	20 ppm	29,5238	$y = 1,042x + 17,26$	31,42
	30 ppm	61,6108		
	40 ppm	56,7822		
	50 ppm	68,8301		
	60 ppm	78,0207		
Vitamin C	1 ppm	31,9615	$Y = 44,80x - 11,87$	1,38
	1,25 ppm	45,9141		
	1,5 ppm	54,8109		
	1,75 ppm	66,1375		
	2 ppm	77,8561		

(>200 ppm) (Salusu *et al.*, 2017). Berdasarkan nilai yang dihasilkan maka ekstrak mesokarp buah semangka dan Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat.

KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman ABTS menunjukkan bahwa ekstrak mesokarp buah semangka memiliki aktivitas antioksidan kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 31,42 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkadi H. A review on free radicals and antioxidants. *Infect Disord Drug Targets*. **2020**;20(1); 16-26
- Azmi N, Hashim P, Hashim DM, Halimoon N, Majid NMN. Anti-elastase, anti-tyrosinase and matrix metalloproteinase-1 inhibitory activity of earthworm extracts as potential new anti-aging agent. *Asian Pac J Trop Biomed*. **2014**;4(Suppl 1); S348-S52
- Brewer MS. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. **2011**;10(4); 221-47
- Buehler BA. The free radical theory of aging and antioxidant supplements: A systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med*. **2012**;17(3); 218-20
- Chemat F, Abert Vian M, Fabiano-Tixier A-S, Nutrizio M, Rezek Jambrak A, Muneke PES, Lorenzo JM, Barba FJ, Binello A, Cravotto G. A review of sustainable

- and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chem*. **2020**;22(8); 2325-53
- Daniels KD, Park M, Huang Z, Jia A, Flores GS, Lee HK, Snyder SA. A review of extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in environmental waters. *Crit Rev Environ Sci Technol*. **2020**;50(21); 2271-99
- Edge R, Truscott TG. Singlet oxygen and free radical reactions of retinoids and carotenoids - A review. *Antioxidants*. **2018**;7(1); e5
- Fu Z, Chen R. Study of complexes of tannic acid with Fe(III) and Fe(II). *J Anal Methods Chem*. **2019**; e3894571
- Ismayanti, Bahri S, Nurhaeni. Kajian kadar fenolat dan aktivitas antiosidan jus kulit buah semangka (*Citrullus lanatus*). *J Natural Sci*. **2013**;2(2); 36-45
- Khan F, Garg V, Singh A, Tinku T. Role of free radicals and certain antioxidants in the management of huntington's disease: A review. *J Anal Pharm Res*. **2018**;7(4); 386-92
- Mariani S, Rahman N, Supriadi. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*). *J Akademika Kim*. **2018**;7(2); 96-101
- Muthmainnah B. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum* L.) dengan metode uji warna. *Media Farmasi*. **2017**;2(1); 23-28
- Nirwana AC, Mutakin M. Review artikel: Aktivitas antioksidan dari suku Rutaceae. *Farmaka*. **2019**;17(1); 66-76
- Pientaweeratch S, Panapisal V, Tansirikongkol A. Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: An in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharm Biol*. **2016**;54(9); 1865-72
- Salusu HD, Ariani F, Obeth E, Rayment M, Budiarto E, Kusuma IW, Arung ET. Phytochemical screening and antioxidant activity of selekop (*Lepisanthes amoena*) fruit. *Agrivita*. **2017**;39(2); 214-18
- Syukur R, Wahyudin E, Alam G, Lukman M. Physicochemical and phytochemical evaluation of the aqueous extract of safflower (*Carthamus tinctorius* Linn.). *J Chem Pharm Res*. **2014**;6(12); 100-04
- Tahir M, Heluth AC, Widiastuti H. Uji aktivitas antioksidan buah semangka (*Citrullus lanatus*) dengan metode FRAP. *As-Syifaa*. **2016**;8(1); 31-38



Gambar 1 Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak mesokarp semangka

Wardhani RAP, Supartono. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada bakteri. Indo J Chem Sci. **2015**;4(1); 46-51