

**FORMULASI *EDIBLE FILM* BERBASIS KITOSAN DENGAN FORTIFIKASI
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

FITRIANI B.

H311 16 011



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**FORMULASI *EDIBLE FILM* BERBASIS KITOSAN DENGAN FORTIFIKASI
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh:

FITRIANI B

H311 16 011



MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**FORMULASI *EDIBLE FILM* BERBASIS KITOSAN DENGAN
FORTIFIKASI EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*)
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Disusun dan diajukan oleh:

FITRIANI B.


H311160011


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Srajana Program Studi Kimia Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 26 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,


Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,


Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 19620320 198711 001


Dr. Abdur Rahman Arif, S.Si. M.Si
NIP. 19861008 201504 002

Ketua Departemen Kimia,


Dr. Abd. Karim, M.Si
NIP. 19620710 198803 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fitriani B.
NIM : H311 16 011
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul:

FORMULASI *EDIBLE FILM* BERBASIS KITOSAN DENGAN FORTIFIKASI
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN

adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 26 Juli 2021

Yang Menyatakan


Fitriani B.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“(Tuhan) telah menciptakan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuhan”

“Makanlah dan gembalakanlah hewan-hewanmu. Sungguh, pada yang demikian itu, terdapat tanda-tanda (Kebesaran Allah) bagi orang yang berakal”

(Q.S Thaha: 53-54)

Karya kecil teruntuk Ibu, Ayah dan Saudara-saudara Tercinta,

اللَّهُمَّ إِنِّي أَسْأَلُكَ عِلْمًا، نَافِعًا وَرِزْقًا، طَيِّبًا وَ عَمَلًا مُتَقَبَّلًا

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji bagi Allah *Subhana Wa Ta'ala* tuhan semesta alam yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Agung Muhammad SAW yang selalu kita nantikan syafa'atnya di akhirat nanti.

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah *Subhana Wa Ta'ala* atas limpahan nikmat kesehatan, baik sehat fisik maupun akal pikiran, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **Formulasi Edible Film Berbasis Kitosan dengan Fortifikasi Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) sebagai Antioksidan** disusun sebagai salah satu persyaratan akademik yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Banyak halangan serta hambatan yang penulis lewati selama menyelesaikan skripsi ini. Namun dengan bantuan, dukungan, doa, semangat dan kerja sama dari berbagai pihak sehingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan. Izinkan penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Dr. Hasna Natsir, M.Si** dan Bapak **Abdur Rahman Arif, M.Si** selaku pembimbing utama dan pertama, yang senantiasa memberikan pengarahan, bantuan, perhatian, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi ini.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus, penulis

persembahkan kepada orang tua Ayah dan Ibu tercinta, **Baharuddin** dan **Nurhana** yang hingga detik ini tidak pernah berhenti mendoakan dan mendukung segalanya. Saudara-saudari penulis **Mardiana**, **Suriadi** dan **Rusli** yang selalu memberi dukungan dan semangat. Keberhasilan penulis sampai pada tahap penulisan skripsi ini tak lepas dari bantuan, baik materil maupun spiritual dari orang-orang di lingkungan penulis. Karena itu penulis menghaturkan terima kasih kepada :

1. Ibu **Dr. Paulina Taba, M.Phill** yang juga selaku (ketua) dan Ibu **Syadzah Firdausia, M.Sc** (sekretaris), sebagai penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang sangat berharga.
2. Analis laboratorium kak Anti, kak Fibi, pak Sugeng, ibu Tini, kak Linda, pak Iqbal dan kak Akbar, terkhusus untuk kak akbar terima kasih atas bantuan dan kritikan serta sarannya pada saat penelitian sehingga sangat membantu menyelesaikan penelitian ini.
3. Seluruh **Dosen dan Staff Akademik Unhas** yang membimbing dan mengarahkan penulis hingga ketahap ini.
4. Teman-teman **Kromofor16** yang selama ini telah berjuang melewati masa studi dan yang masih berusaha untuk menyelesaikan studi di departemen Kimia FMIPA Unhas
5. Sahabat-sahabat terbaik penulis selama di Makassar, **Strong Woman** (Elya, Izzah, Ana, Mega, Dian, Mage dan Mayumi), **KKN WTB 102**, dan keluarga **pondok 3 putri** yang selalu menemani dan memberikan dukungan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Teman seperjuangan, tempat berbagi segala kesulitan dan kebahagiaan dalam menyelesaikan penelitian ini, saudari **Eka Nur Afiah**
7. Sahabat tercinta yang terhalang jarak namun selalu memberi dukungan serta doa dimanapun berada: Ani, Dian, Sarina, Isa, Rita, Sutri, Tika dan Angga.
8. Teman-teman sesama Peneliti Biokimia Departemen Kimia FMIPA Unhas yang selalu berbagai saran dan pendapat, saling menyemangati dan memotivasi selama berjalannya penelitian ini.
9. Warga serta Alumni KMK FMIPA UNHAS dan KMFMIPA UNHAS
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dalam kesempatan ini.

Semoga segala bentuk bantuan yaitu doa, saran, motivasi dan pengorbanan yang telah diberikan kepada penulis dapat bernilai ibadah dan diganjar pahala disisi Allah *Subhallahu wa Ta'ala*, Aamiin

Penulis sadar akan segala kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka penulis sangat menghargai bila ada kritik dan saran demi penyempurnaan isi skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membaca maupun bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, Juni 2021

Penulis

ABSTRAK

Edible film merupakan lapisan tipis yang terbuat dari biopolimer dan bahan tambahan pangan sebagai pengemas yang dapat dikonsumsi serta aman bagi lingkungan. Modifikasi *edible film* dapat dilakukan untuk meningkatkan karakteristik serta nilai tambah bagi *edible film*, salah satunya dengan penambahan bahan antioksidan. Sumber antioksidan dapat berupa ekstrak tanaman, minyak atsiri maupun senyawa murni. Kulit buah naga merah yang menyusun sekitar 30-35% dari buah naga tidak dimanfaatkan lebih lanjut dan menjadi limbah, memiliki potensi sebagai antioksidan. Pada penelitian ini telah dilakukan pembuatan *edible film* berbasis kitosan dengan penambahan ekstrak kulit buah naga (EKBN) dengan variasi konsentrasi 3 %, 5 % dan 7%. Pengaruh penambahan EKBN terhadap karakteristik *edible film* diamati melalui parameter ketebalan, laju transmisi uap air, sifat mekanik, biodegradasi, dan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DDPH. Hasil menunjukkan peningkatan EKBN meningkatkan ketebalan, laju transmisi uap air, aktivitas antioksidan serta kecepatan biodegradasi tetapi menurunkan kuat tarik. Elongasi *edible film* EKBN memiliki nilai yang lebih baik (maksimum $22,385 \pm 7,196$ %) dibandingkan *edible film* kontrol ($14,545 \pm 1,208$). Seluruh parameter uji menunjukkan *edible film* dengan karakteristik terbaik pada *edible film* dengan penambahan EKBN 3%

Kata kunci: kulit buah naga, kitosan, *edible film*, antioksidan.

ABSTRACT

Edible film is a thin layer made from biopolymers and food additives as a packaging that can be consumed and eco-friendly. Edible film modification can be done to improve the characteristics and added value for edible film, one of which is the addition of antioxidant. Sources of antioxidants can be in the form of plant extracts, essential oils or pure compounds. The red dragon fruit peel, which built about 30-35% of dragon fruit is untreated and became waste, has potential as an antioxidant. In this research, chitosan-based edible film was made with the addition of dragon fruit peel extract (EKBN) with various concentrations of 3%, 5% and 7%. The effect of adding EKBN on the characteristics of the edible film was observed through parameters of thickness, water vapor transmission rate, mechanical properties, biodegradation, and antioxidant activity. The antioxidant activity was tested by the DDPH method. The results showed that the increase in EKBN increased thickness, water vapor transmission rate, antioxidant activity and biodegradation rate but decreased tensile strength. EKBN edible film elongation had a better value (maximum 22.385 ± 7.196 %) than the control edible film (14.545 ± 1.208 %). All test parameters showed the edible film with the best characteristics on the edible film with the addition of 3% EKBN.

Keywords: *dragon fruit peel, chitosan, edible film, antioxidant.*

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Maksud Penelitian	6
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Kitosan	8
2.2 Kitosan sebagai <i>Edible Film</i>	10
2.3 Gliserol Sebagai <i>Plasticizer</i> Dalam <i>Edible Film</i>	14
2.4 Buah Naga	15
2.5 Tinjauan Umum Antioksidan	19
BAB III METODE PENELITIAN	25

3.1 Bahan Penelitian	25
3.2 Alat Penelitian.....	25
3.3 Waktu Dan Tempat Penelitian	25
3.4 ` Prosedur Penelitian	26
3.4.1 Preparasi Kulit Buah Naga	26
3.4.2 Ekstraksi Kulit Buah Naga	26
3.4.3 Uji Fitokimia	26
3.4.4 Uji Antioksidan dengan Reagen DPPH untuk Ekstrak Kulit Buah Naga	27
3.4.5.Pembuatan <i>Edible Film</i> dari Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga.....	29
3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan <i>Edible Film</i>	28
3.4.7 Karakterisasi <i>Edible Film</i>	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Ekstraksi Kulit Buah Naga	33
4.2 Uji Fitokimia Kulit Buah Naga.....	34
4.3 Aktifitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Naga.....	35
4.4 Pembuatan <i>Edible Film</i> dari Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga (EKBN).....	38
4.5 Uji Aktivitas Antioksidan <i>Edible Film</i>	40
4.6 Karakteristik <i>Edible Film</i>	41
4.6.1 Ketebalan	42
4.6.2 Laju Transmisi Uap Air	42
4.5 Sifat Mekanis	44
4.7 FTIR	46
4.7.1 FTIR Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga	46
4.7.2 FTIR <i>Edible Film</i>	48

4.8 Uji Biodegradabilitas <i>Edible Film</i>	49
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	52
4.1 Kesimpulan	52
4.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Penelitian <i>edible film</i> dengan penambahan senyawa antioksidan.....	12
2. Hasil penelitian aktivitas antioksidan kulit buah naga merah dengan metode DPPH dalam berbagai pelarut	19
3. Kategori antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	24
4. Hasil uji fitokimia kulit buah naga.....	34
5. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah naga.....	36
6. Karakteristik fisik <i>edible film</i>	41
7. Hasil FTIR ekstrak etanol kulit buah naga	47
8. Hasil uji biodegradasi <i>edible film</i>	49
9. Hasil perbandingan beberapa penelitian <i>edible film</i> antioksidan.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur kitosan.....	9
2. Struktus Gliserol	15
3. Buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	16
4. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	23
5. Reaksi antara tanin dan FeCl ₃	35
6. Reaksi Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl.....	36
7. Reaksi alkaloid dengan uji Dragendorff.....	37
8. Grafik % inhibisi ekstrak kulit buah naga pada berbagai variasi konsentrasi.....	38
9. (a) Struktur betasianin (b) Reaksi dehidrogenasi betanin menjadi neobetain.....	40
10. Penampakan <i>edible film</i> pada berbagai varsiasi penambahan EKBN.....	42
11. Grafik aktivitas antioksidan <i>edible film</i>	43
12. Grafik ketebalan <i>edible film</i>	44
13. Grafik laju transmisi uap air <i>edible film</i>	45
14. Grafik sifat mekanik <i>edible film</i>	46
15. Gambaran sederhana interaksi ikatan silang polisakarida kitosan-pati dengan EKBN	47
16. Spektra FTIR ekstrak kulit buah naga.....	48
17. Spektra FTIR.....	49

LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Umum Penelitian	67
2. Skema Kerja Penelitian	68
3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kulit Buah Naga	74
4. Data Analisis IC ₅₀ Antioksidan.....	75
5. Data Ketebalan Film.....	77
6. Data Laju Transmisi Uap Air.....	78
7. Data Kuat Tarik dan % Elongasi.....	79
8. Spektrum FTIR	83
9. Dokumentasi Penelitian.....	87
10. Biodegradabilitas <i>Edible Eilm</i>	90

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

DD	: Derajat Deastilasi
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrihidazil
EKBN	: Ekstrak Kulit Buah Naga
FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
IC ₅₀	: <i>Inbition Concentration</i>
LTUA	: Laju Transmisi Uap Air
ppm	: <i>part per million</i>
SD	: Standar Deviasi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemasan didefinisikan sebagai wadah atau tempat penyimpanan untuk mempertahankan mutu suatu produk dalam kondisi terbaiknya (Robertson, 2013). Sebagaimana yang dipaparkan oleh Yam (2009), kemasan memiliki empat fungsi utama yaitu sebagai penyimpanan, perlindungan, kenyamanan, dan informasi produk. Penggunaan kemasan dalam kehidupan sehari-hari merupakan hal yang sangat penting, salah satunya untuk melindungi produk pangan dari berbagai kerusakan sehingga dapat memperpanjang umur simpan, menjaga bentuk, rasa, serta kandungan nutrisi produk (Nwakaudu dkk., 2015; Mulyadi dkk., 2016).

Salah satu jenis kemasan makanan adalah jenis *flexible packaging* atau kemasan tipis elastis yang hanya sekali pakai. Kemasan ini, umumnya berbahan dasar plastik sintetik, yang memiliki kelebihan diantaranya tahan lama, fleksibel, dan harganya yang relatif murah. Disisi lain, kemasan jenis ini dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan karena limbah yang tidak dapat diurai oleh mikroorganisme (Sariningsih, 2018). Hal ini didukung oleh data yang menunjukkan bahwa limbah kemasan plastik pengemas makanan khususnya kemasan tipis, diperkirakan mencapai 22 juta ton pada tahun 2015 dan akan terus meningkat (Ebnesajjad, 2017). Ukurannya yang kecil serta ringan membuat limbah ini mudah terbawa udara, sehingga dapat tersebar dan mencemari lingkungan baik di darat maupun di lautan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan pengemas yang dapat menggantikan bahan pengemas plastik sintesis tetapi disisi lain bersifat ramah lingkungan. Salah satu

alternatif bahan kemasan yang banyak diteliti dan terus mengalami perkembangan adalah *edible film*.

Edible film merupakan bahan kemasan tipis yang terbuat dari biopolimer dan bahan tambahan pangan sebagai bahan pengemas yang aman dikonsumsi serta ramah lingkungan (Fatnasari dkk., 2018). Kelebihan *edible film* sebagai pengemas produk pangan antara lain dapat melindungi produk dari pengaruh lingkungan serta kontaminan, aman dikonsumsi, praktis dan bersifat *biodegradable*. Hal ini dapat berkontribusi untuk mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah kemasan plastik sintetik (Boutoom, 2008).

Penelitian mengenai *edible film* telah dilakukan dengan berbagai jenis bahan utama terutama pengembangan bahan ramah lingkungan yang terbuat dari polimer alami seperti protein, polisakarida, lemak dan komposit (Boutoom, 2008). Polisakarida yang sering dijadikan bahan utama misalnya derivat selulosa, derivat pektin, ekstrak rumput laut, pati dan kitosan (Krochta dan Mulder-Johnson, 1997; Mehdizadeh dkk., 2012). Pada penelitian ini dilakukan pembuatan *edible film* dengan menggunakan bahan baku utama kitosan. Film dengan bahan kitosan mempunyai sifat kuat, tahan lama, fleksibel dan sangat sulit robek. Ketika direndam dalam air, film kitosan akan menjadi kenyal tetapi tetap kuat (Butler dkk., 1996). Selain itu, film dari kitosan memiliki sifat transmisi uap air dan permeabilitas rendah terhadap oksigen, sifat mekaniknya sebanding dengan plastik komersial (Kittur dkk., 1998). Struktur kitosan memiliki muatan positif pada gugus amina, sehingga dapat berikatan dengan minyak dan lemak. Hal ini menjadikan kitosan berpotensi sebagai bahan kemasan makanan yang baik (Bajpai, 2019).

Pengembangan dan modifikasi *edible film* dengan bahan yang berasal dari sumber-sumber alam yang berlimpah yang secara tradisional dianggap sebagai bahan limbah terus dilakukan (Boutoom, 2008). Salah satu bentuk modifikasi dengan penambahan bahan yang mengandung antioksidan seperti seperti minyak atsiri dan ekstrak tumbuhan, serta senyawa murni, seperti asam askorbat dan tokoferol (Eca dan Sartori, 2014). Penambahan ini membantu meningkatkan kualitas makanan, menambah nilai produk makanan serta meningkatkan umur simpannya (Eca dan Sartori, 2014).

Ekstrak yang berasal dari tumbuhan seperti buah, sayur, biji-bijian, batang maupun akar diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi (Lim dkk., 2007). Salah satu contoh sumber antioksidan alami adalah buah naga. Buah naga merupakan salah satu jenis tanaman buah yang memiliki daya tarik tersendiri. Buah naga termasuk dalam buah yang eksotik karena penampilannya yang menarik, rasanya asam manis menyegarkan dan memiliki beragam manfaat untuk kesehatan. Buah ini mempunyai beberapa jenis varian dengan peluang yang baik untuk dikembangkan di Indonesia, salah satunya adalah buah naga dengan jenis buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Sudrajat dkk., 2019). Di Indonesia, jenis buah naga merah digemari konsumen sehingga banyak ditanam (Muas dkk., 2019). Secara keseluruhan buah naga merah mengandung protein, serat, karoten, kalsium dan fosfor serta berbagai vitamin seperti vitamin B dan C (Oktaviani, 2014).

Buah naga hanya dikonsumsi bagian dagingnya saja, sementara kulit buah yang menyusun sekitar 30-35% dari buah ini tidak dimanfaatkan lebih lanjut dan menjadi limbah (Lou dkk., 2014; Waladi dkk., 2015). Dalam penelitiannya Nurlyana dkk. (2010), melakukan perbandingan aktivitas antioksidan antara

daging dengan kulit buah naga. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kandungan fenolik dari kulit buah naga lebih tinggi dibandingkan dengan daging buahnya. Kulit buah naga merah mempunyai aktivitas antioksidan karena memiliki fitoalbumin, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, betasianin, polifenol dan karoten (Jaafar dkk., 2009).

Senyawa antioksidan pada kulit dapat buah naga merah dapat diekstraksi salah satunya melalui proses maserasi. Untuk menarik antioksidan kulit buah naga merah digunakan senyawa pengeksrak seperti metanol, etanol, klorofrm, n-heksana, dan akuades (Manihuruk, 2016; Pranata, 2013; Wahdaningsih dkk., 2018; Romdonah dkk., 2017; Mitasari, 2012; Budilaksono dkk., 2013). Meskipun dalam beberapa penelitian pelarut metanol memiliki nilai aktivitas yang paling tinggi, dalam penelitian ini tidak digunakan karena sifat metanol yang toksisitasnya tinggi dan dapat meninggalkan residu dalam proses ekstraksi (Mundkinajeddu dan Agarwal, 2014).

Salah satu senyawa yang memiliki antioksidan yang terkandung dalam kulit buah naga adalah betasianin. Zat warna betasianin adalah golongan senyawa betalain yang memberikan warna merah serta larut dalam pelarut polar, seperti air, metanol dan etanol. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi kulit buah naga yaitu pelarut etanol dan akuades. Etanol dipilih karena memiliki titik didih yang rendah dan memiliki kepolaran yang mendekati tingkat kepolaran betasianin serta toksisitasnya rendah (Lestari, 2016). Sedangkan air dipertimbangkan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, dan tidak beracun. Air dan etanol dapat melarutkan senyawa polar maupun semi polar seperti senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan, akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar (Saadah dan Nurhasnawati, 2015).

Penelitian untuk mengetahui aktifitas antioksidan dari ekstrak etanol dan air kulit buah naga merah telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Hasil ekstrak etanol kulit buah naga menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 51,35 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak air sebesar 59,12 $\mu\text{g/mL}$ (Manihuruk, 2016; Romdonah, 2017 dkk.). Meskipun demikian, analisis antioksidan dari ekstrak kulit buah naga dalam penelitian ini tetap dilakukan untuk membandingkan nilai yang diperoleh penelitian sebelumnya. Hal ini dikarenakan karakteristik dari buah naga sendiri sangat dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhannya. Sifat fenotip tanaman dapat dianggap sebagai bentuk adaptasi tanaman terhadap kondisi lingkungan. Ini tentunya dapat membuat perubahan pada spesies tertentu yang ditanam di lingkungan yang berbeda (Sudrajat dkk., 2019). Sehingga kemungkinan diperoleh aktivitas antioksidan yang berbeda pula pada tanaman dengan spesies sama.

Berdasarkan latar belakang, maka pada penelitian ini dilakukan formulasi dan karakterisasi *edible film* berbasis kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga. Pembuatan *edible film* dari kitosan dan ekstrak kulit naga ini diharapkan dapat memberikan informasi alternatif bahan pengemas sehingga dapat mengurangi/meminimalisir pencemaran limbah plastik kemasan dan meningkatkan nilai produk.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini yaitu:

1. bagaimana profil fitokimia dari ekstrak etanol dan akuades kulit buah naga?
2. bagaimana konsentrasi optimum ekstrak dalam pembuatan *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga?

3. bagaimana karakteristik *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga?
4. bagaimana aktivitas antioksidan *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga?

1.3 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini yaitu, untuk mensintesis *edible film* berbahan dasar kitosan dengan penambahan ekstrak kulit buah naga dan menganalisis karakteristik serta aktivitas antioksidannya.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari Penelitian ini yaitu:

1. mengetahui profil fitokimia dari ekstrak etanol dan akuades kulit buah naga
2. menentukan konsentrasi optimum ekstrak dalam pembuatan *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga.
3. menganalisis karakteristik *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga.
4. mengetahui aktivitas antioksidan *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. sebagai informasi karakteristik dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan *edible film* berbahan dasar kitosan dengan fortifikasi ekstrak kulit buah naga.

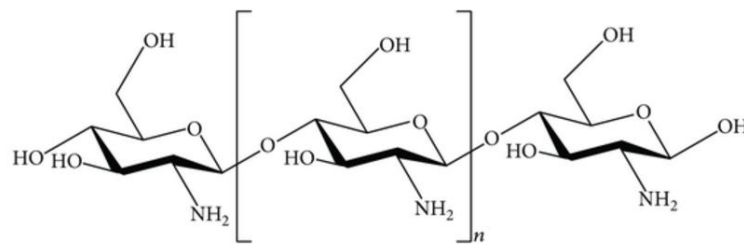
2. memperoleh alternatif pengemas yang alami dan aman dengan penambahan antioksidan
3. mengurangi pencemaran lingkungan dengan menyediakan alternatif plastik yang bersifat *biodegradable*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kitosan

Kitosan merupakan senyawa polisakarida linear polikationik alami yang berasal dari kitin. Kelarutan kitosan rendah dalam larutan netral dan basa. Kitosan dikenal sebagai biomaterial serba guna karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya nontoksik, alergenitas rendah, biokompatibilitas dan *biodegradable* (Cheung dkk., 2015). Kitosan sebagai hasil deasetilasi kitin disebut juga dengan β -1,4-2 amino-2-dioksi-D-glukosa. Struktur kitosan tersusun dari tiga jenis gugus fungsi yang menyebabkan kitosan memiliki reaktivitas kimia yang tinggi. Adapun gugus fungsi penyusun kitosan yaitu asam amino, gugus hidroksi primer dan sekunder (Rosida dkk., 2018). Struktur kitosan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kitosan (Li dkk., 2013).

Kitosan berasal dari deasetilasi dari kitin yang dapat diekstraksi dari serangga, ragi, jamur, dinding sel jamur, dan hewan laut seperti kepiting, lobster, krill, sotong, udang, dan tinta cumi-cumi (Yadav dkk., 2019). Pada kerang, kitin membentuk lapisan pelindung luar sebagai jaringan yang terikat secara kovalen

dengan protein dan beberapa logam serta karotenoid (Arbia dkk., 2013). Peningkatan konsumsi kerang dan perluasan budidaya telah menyebabkan peningkatan luar biasa karenanya dalam jumlah limbah yang tersedia untuk produksi kitin/kitosan juga semakin besar. Menggunakan limbah miselium dari proses fermentasi sebagai sumber kitin dan kitosan masih menjadi sumber potensial yang luas dan belum dimanfaatkan (Chawla dkk., 2014).

Parameter mutu yang digunakan untuk kitosan adalah derajat deasetilasi (DD). DD merupakan parameter penting yang menentukan banyak sifat fisiokimia dan biologis kitosan seperti kristalinitas, hidrofilisitas, degradasi, dan respons sel (Yuan dkk., 2011). Parameter ini menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari proses deasetilasi. Semakin tinggi DD kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah. sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat (Goosen, 1997). Berat molekul kitosan berkisar antara 300 sampai 1000kDa dengan DD antara 30% sampai 95% tergantung pada sumber dan prosedur preparasinya (Jennings dan Bumgardner, 2017).

Kitosan tidak larut dalam air dan pelarut organik yang umum. Namun, dapat dengan mudah dilarutkan dalam larutan asam pada pH di bawah 6,3. Larutan kitosan dalam air biasanya memiliki viskositas yang besar, bahkan dalam konsentrasi yang sangat kecil. Kitosan dengan DD 55-70% didefinisikan sebagai kitosan dengan tingkat deasetilasi yang rendah, yang hampir sepenuhnya tidak larut dalam air. DD 70-85% merupakan derajat deasetilasi menengah yang sebagian dapat larut dalam air, DD 85-95% memiliki kelarutan yang baik dalam air, dan 95-100% disebut tingkat deasetilasi yang sangat tinggi, serta sulit dicapai (Lv, 2016).

2.2 Kitosan Sebagai Bahan *Edible Film*

Edible film merupakan lapisan tipis yang terbuat dari biopolimer dan bahan tambahan pangan sebagai bahan pengemas yang aman dikonsumsi serta aman bagi lingkungan (Fatnasari dkk., 2018). *Edible film* dapat dibuat dari protein yang berasal dari hewan dan tumbuhan. *Edible film* berbasis protein dibuat dari larutan yang terdiri dari tiga komponen utama: protein, *plasticizer* dan pelarut. Sifat-sifat film dipengaruhi oleh komponen tersebut dan faktor pemrosesan (Embuscado dan Huber, 2009).

Edible film memiliki beberapa fungsi seperti menjaga kelembaban, oksigen, karbondioksida, aroma, lipid, dan kemampuan untuk mempertahankan makanan dari kontaminasi. Fungsi film ini serupa dengan film kemasan sintetik namun, penggunaan *edible film* harus diperhatikan secara khusus jenis produk makanan yang sesuai serta mekanisme utama penurunan kualitas makanan tersebut (Suput dkk., 2015). Menurut penelitian Saiful dkk. (2013), *edible film* yang diujikan pada buah apel dapat mencegah 30,7% pengurangan berat serta dapat mempertahankan kandungan asam askorbat sebesar 99,835%.

Karakteristik dari *edible film* meliputi ketebalan, kekuatan mekanik (kuat tarik (*tensile strength*) dan persen pemanjangan (% *elongation*), permeabilitas uap, dan karakteristik optik (kilap, transparansi dan warna) (Skurtys dkk., 2009). Kekuatan tarik biasanya mengacu pada tegangan tarik maksimum yang dapat dipertahankan oleh film. Karakteristik ini sangat dipengaruhi oleh jumlah *plasticizer* yang ditambahkan pada proses pembuatan film. Penambahan plastisizer pada jumlah tertentu, akan meningkatkan nilai *tensile strength* namun jika berlebihan justru diperoleh hasil yang lebih rendah (Lai dkk., 1997).

Kelarutan film merupakan faktor yang penting dalam menentukan biodegradabilitas film ketika digunakan sebagai pengemas. Ada film yang dikehendaki tingkat kelarutannya tinggi atau sebaliknya tergantung jenis produk yang dikemas (Nurjannah, 2004).

Edible film terus mengalami perkembangan tidak hanya sebagai kemasan alternatif yang aman dikonsumsi, tetapi juga dimodifikasi untuk meningkatkan kualitas makanan dan untuk memperpanjang umur simpannya. Generasi baru dari *Edible film* memiliki sifat aktif secara khusus setelah penambahan bahan lainnya seperti asam organik, enzim, protein antimikroba, senyawa fenolik, atau bahan fungsional lainnya seperti probiotik, perasa, dan vitamin. Senyawa aktif ini memiliki mekanisme aksi yang berbeda bergantung pada beberapa faktor seperti struktur, konsentrasi, proses penggabungan dalam jaringan film biopolimer (Benbettaieb dkk., 2018).

Sifat-sifat fungsional dari film sangat dipengaruhi oleh berbagai parameter, seperti cara pembuatan film, karakteristik pelarut, serta bahan aditif yang digunakan (Gontard dan Ring, 1996). Menurut Winarti dkk. (2012), Karakteristik fisik dan mekanik edible coating/film akan berubah seiring dengan penambahan gliserol, lemak (lipida), dan bahan tambahan lainnya. Komposit film dengan bahan yang bersifat hidrofobik seperti kitosan akan memperbaiki karakteristik mekanik *edible film*.

Penambahan senyawa aktif seperti antioksidan, untuk film dapat meningkatkan sifat fungsional film dan berpotensi untuk melindungi bahan makanan terhadap proses oksidasi (Gonzales dkk., 2011; Eca dan Sartori, 2014). Beberapa penelitian terkait pembuatan *edible film* dengan penambahan antioksidan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa penelitian *edible film* dengan penambahan senyawa antioksidan

No.	Bahan Film	Bahan Tambahan	Hasil	Referensi
1.	Pati jagung	Ekstrak jahe	Penambahan ekstrak jahe pada <i>edible film</i> menunjukkan kerusakan oksidatif lemak paling kecil dari uji TBA dan ALB selama penyimpanan adalah penambahan konsentrasi 10%	Estiningtyas, 2010
2.	Gelatin Kulit ikan	minyak atsiri lemon	Film dengan minyak atsiri lemon menunjukkan aktivitas daya antioksidan pereduksi besi (FRAP) $p < 0,05$, sedangkan film lainnya memiliki aktivitas lebih rendah.	Tongnuanchan dkk., 2012
3.	Kitosan	Minyak atsiri daun kayu manis dan asam oleat	Film yang mengandung minyak atsiri menunjukkan aktifitas antioksidan yang tinggi. Kombinasi terbaik kitosan dan <i>essensial oil</i> pada perbandingan 1: 0,5.	Perdones dkk., 2014
4.	Pati jagung	Perasan temu hitam	Peningkatan konsentrasi pati jagung akan menurunkan aktivitas antioksidan <i>edible film</i> . perlakuan terbaik adalah <i>Edible film</i> dengan konsentrasi pati jagung 3% dan perasan temu hitam 7%.	Kusumawati dan Putri, 2013.
5.	Pati Uwi	Minyak atsiri jahe	Aktivitas antioksidan film terbaik terjadi pada komposisi minyak atsiri 3% dengan persen reduksi DPPH sebesar 31,50 %	Miksusanti dkk., 2013
6.	Kitosan	Ekstrak kulit buah mangga	Penambahan ekstrak kulit buah mangga meningkatkan aktifitas antioksidan dan karakteristik film yang lebih baik. Kombinasi kitosan dengan konsentrasi ekstrak 5% menunjukkan karakterisasi film aktif yang paling baik.	Rambabu dkk., 2018

Menurut Wang dkk. (2014), mekanisme antioksidan dari sumber antioksidan alami dapat dikaitkan dengan kemampuan donor hidrogen, kemampuan pengkelat logam, dan efektivitasnya sebagai menetralkan hidrogen peroksida, superoksida dan radikal bebas. Struktur dan ikatan antioksidan aktif berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya. Ketika antioksidan dimasukkan ke dalam film kitosan, interaksi dengan kitosan juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, untuk menafsirkan aktivitas antioksidan dari film kitosan yang mengandung antioksidan, perlu informasi tidak hanya tentang struktur dan mekanisme antioksidan dari antioksidan yang ditambahkan tetapi juga interaksi antara kitosan dan antioksidan.

Film dengan bahan kitosan mempunyai sifat kuat, tahan lama, fleksibel dan sangat sulit robek. Ketika direndam dalam air, film kitosan akan menjadi kenyal tetapi tetap kuat (Butler dkk., 1996). Selain itu, film dari kitosan memiliki sifat transmisi uap air dan permeabilitas rendah terhadap oksigen. Sifat mekaniknya sebanding dengan plastik komersial (Kittur dkk., 1998). Struktur kitosan yang memiliki muatan positif pada gugus amina, sehingga dapat berikatan dengan minyak dan lemak. Hal ini menjadikan kitosan sebagai kandidat yang baik sebagai kemasan makanan (Bajpai, 2019).

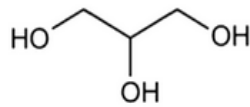
Parameter yang paling umum digunakan untuk menganalisis karakteristik dari suatu edible film diantaranya ketebalan, sifat mekanik terutama kuat tarik dan elongasi serta laju transmisi uap air. Salah satu standar yang sering digunakan untuk kemasan makanan adalah JIS Z 1707 (*Japanese Industrial Standard – General Rules of Plastics Film for Food Packaging*) (Tanjung dkk., 2020; Santoso dan Atma, 2020).

2.3 Gliserol sebagai *Plasticizer* dalam *Edible Film*

Penggunaan bahan tunggal pada edible film seperti polisakrida memiliki kekurangan yaitu sifatnya rapuh dan kaku. Sehingga dibutuhkan bahan tambahan yaitu *plasticizer*. *Plasticizer* merupakan salah satu bahan tambahan dalam pembuatan edible film yang berfungsi untuk menambah sifat elastisitas (Huri dan Nisa, 2014). Penggunaannya dapat meningkatkan permeabilitas, kekuatan tarik, dan ketahanan film (Garcia dkk., 2010; Souza dkk., 2012).

Plasticizer menghasilkan fleksibilitas yang lebih besar dalam struktur polimer dengan mengurangi gaya antar molekul dan meningkatkan mobilitas rantai polimer dalam film (Blick dkk., 2015). Yulianti dan Ginting (2012), mengemukakan bahwa karakteristik fisik *edible film* dipengaruhi oleh jenis bahan, jenis *plasticizer* dan konsentrasi *plasticizer*. Salah satu jenis *plasticizer* yang banyak digunakan selama ini adalah gliserol (Al-Awwaly dkk, 2010; Karbowiak dkk., 2006; McHugh dan Krochta, 1994). Gliserol memiliki keunggulan sebagai *plasticizer* karena kapasitas plastisitas yang tinggi dan stabilitas termal pada suhu pemrosesan (Blick dkk., 2015).

Gliserol atau 1,2,3-propanetriol memiliki ciri tidak berwarna, tidak berbau, rasanya manis, bentuknya cairan kental, meleleh pada suhu 17,8°C dan mendidih pada suhu 290°C pada tekanan atmosfer (Pagliaro dan Rossi, 2008). Gliserol memiliki sifat higroskopis, tidak beracun, mudah dicerna serta aman bagi lingkungan sehingga sering digunakan pada berbagai bahan makanan dan kosmetik (Fluhr dkk., 2002). Adapun struktur gliserol dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2. Struktur Gliserol (Pagliaro dan Rossi, 2008).

2.4 Buah Naga

2.4.1 Klasifikasi Buah Naga

Buah naga dihasilkan oleh tanaman sejenis kaktus merambat, yang termasuk dalam keluarga Cactaceae dan subfamili Cactoidae. Subfamili ini terdapat beberapa genus, dimana buah naga ini termasuk dalam genus *Hylocereus*. Genus ini pun terdiri dari sekitar 18 spesies. Dua di antaranya memiliki buah yang komersial, yaitu *Hylocereus undatus* (berdaging putih) dan *Hylocereus costaricensis* (berdaging merah).

Adapun klasifikasinya sebagai berikut buah naga berdaging merah adalah sebagai berikut (Gunasena, 2007):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Cactaceae
Suku	: Hylocerae
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Spesies	: <i>Hylocereus polyrhizus</i>

2.4.2 Morfologi

Buah naga juga dikenal sebagai pitaya atau pir strawberry berasal dari Meksiko, Amerika Tengah dan Selatan. Kaktus epifit ini juga ditemukan di

Taiwan dan juga dibudidayakan di Asia Tenggara seperti Malaysia, Vietnam, dan pantai tenggara Cina. Variasi daging merah diyakini kaya akan antioksidan dan memiliki kandungan serat larut yang sangat tinggi (Sekar dkk., 2016).

Tumbuhan buah naga tumbuh dengan batang dan ditangkarkan oleh akar udara. Buahnya memiliki kulit merah atau merah muda tanpa duri, sedangkan dagingnya berwarna putih atau magenta. Kulit ditutupi dengan *bracts* atau sisik. Berat buahnya bisa mencapai 900 gram, tetapi berat rata-rata antara 350 dan 450 gram. Berat tergantung pada penyerbukan serta pemilihan varietas. Saat matang, buah naga paling sering dikonsumsi segar. Di beberapa bagian Amerika Selatan, pulp digunakan sebagai minuman (Marten, 2003).

Bagian buah yang dapat dimakan terdiri dari mesokarp, yang memiliki tekstur berlendir dengan ribuan biji lunak kecil yang tersebar secara homogen ke seluruh daging. Daging buah mewakili (60 hingga 80)% dari berat buah matang. Mesokarp buah matang mengandung 82-88% air dengan total kandungan padatan terlarut khas antara 7-11 g/L (Le Bellec dkk., 2006). Variasi daging merah diyakini kaya akan antioksidan dan memiliki kandungan serat larut yang sangat tinggi (Sekar dkk., 2016).



Gambar 3. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Buah naga memiliki bentuk dan warna yang menarik serta kaya kandungan gizi. Spesies daging merah kaya akan betalain, memenuhi peningkatan minat perdagangan pada produk antioksidan dan pewarna makanan alami (Perween dkk., 2018). Di Indonesia, jenis buah naga merah lebih digemari konsumen sehingga banyak ditanam. Buah naga semakin banyak diminati bahkan di Indonesia, produksinya bukan saja untuk konsumsi dalam negeri namun juga telah diekspor ke berbagai negara lainnya (Muas dkk., 2019).

2.4.3 Kulit Buah Naga

Kulit buah sering dianggap sebagai produk limbah, padahal produk samping buah seperti kulit, biasanya mengandung lebih banyak senyawa bioaktif daripada bagian daging buahnya. Beberapa ekstrak kulit buah tropis ditemukan memiliki kandungan senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidan yang tinggi (Can-Cauch dkk., 2017; Hanani dkk., 2018). Salah satunya adalah kulit buah naga (Nurlyana dkk., 2010; Zaidel dkk., 2017).

Kulit buah naga berwarna merah menyala, merah gelap, atau kuning, tergantung dari jenisnya. Kulit buah agak tebal, yaitu sekitar 3–4 mm. Di sekujur kulitnya dihiasi dengan jumbai-jumbai (Winarsih, 2007). Kulit buah terdiri sekitar 20% dari berat buah utuh, yang biasanya dibuang (Jamilah dkk., 2011). Menurut Raharjo dkk. (2017), Ekstrak kulit buah naga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan.

Buah naga daging merah baik daging maupun kulitnya, mengandung betasianin yang dikenal sebagai pigmen antioksidan kuat (Phebe dkk., 2009). Menurut penelitian Jamilah dkk. (2011), kulit buah naga memiliki kandungan air sekitar 92,7%, rendah dalam total padatan terlarut, protein, abu dan kadar lemak,

namun mengandung pigmen betasianin dan pektin yang tinggi. Glukosa, maltosa dan fruktosa juga terdeteksi dalam kulit buah, serta mengandung serat yang sangat tinggi. Choo dan Yong (2011), juga melaporkan bahwa kulit buah naga baik spesies buah naga merah maupun putih keduanya memiliki potensi sebagai antioksidan.

Kandungan senyawa fenol dalam kulit buah naga merah memiliki sifat mudah teroksidasi dan sensitif terhadap perlakuan panas. Proses pengeringan mengakibatkan penurunan senyawa fenol dalam seduhan kulit buah naga m. Suhu optimum pengeringan untuk mendapatkan kadar total fenol maksimum 60 °C. Pengeringan lebih tinggi dari 60 °C setelah 4 menit maka fenol akan rusak dan kadarnya cenderung menurun (Irmayanti dan Ardiaria, 2016). Selain itu, pada proses ekstraksi kulit buah naga kadar antosianin sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kadar air, ukuran dan homogenitas (Harjanti, 2016). Ekstrak kulit buah naga merah yang diteliti oleh Wu dkk. (2006), mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak buahnya karena kandungan fenoliknya lebih tinggi.

Berdasarkan penelitian Luo dkk. (2014), yang melakukan ekstraksi kulit buah naga dengan metode ekstraksi superkritis CO₂ serta analisis GC-MS menunjukkan bahwa setidaknya kulit buah naga memiliki 24 komponen utama. Ekstrak *H. polyrhizus*, mewakili 90,66% dari total komposisi, di mana 29,77% adalah triterpenoid dan 16,46% adalah steroid. Ekstraknya ditandai oleh kandungan β-amirin yang tinggi (15,87%), α-amirin (13,90%), oktakosan (12,2%), γ-sitosterol (9,35%), oktadekana (6,27%), 1-tetrakosanol (5,19%), stigmast-4-en-3-one (4,65%), dan kampesterol (4,16%). Kulit buah naga merah

telah banyak diuji aktivitas antioksidannya. Adapun data beberapa penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penelitian aktivitas antioksidan kulit buah naga merah dengan metode DPPH dalam berbagai pelarut dari beberapa penelitian sebelumnya.

No.	Pelarut	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Referensi
1.	Akuades	261,520	Lourith dan Kanlayavattanakul, 2013
3.	Metanol	2952,14	Wahdaningsih dkk., 2018
4.	Etanol	397,64	Rahmawati., 2016
5.	Kloroform	43,83	Mitasari, 2012
6.	n-Heksana	206,59	Budilaksono dkk., 2013

2.5 Tinjauan Umum Antioksidan

2.5.1 Senyawa Antioksidan

Sel terus-menerus terpapar agen toksik, mutagenik, dan karsinogenik yang membentuk zat antara reaktif, seperti spesies oksigen reaktif (ROS), spesies nitrogen reaktif (RNS), dan metabolit elektrofilik reaktif lainnya yang mengakibatkan rusaknya fungsi fisiologis. Strategi perlindungan utama terhadap zat pengoksidasi yang mampu merusak sel dan memulai karsinogenesis adalah melalui induksi enzim detoksifikasi dan antioksidan (Weng dan Yen, 2015).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor (Winarsi, 2007). Antioksidan merupakan zat yang jika terdapat dalam konsentrasi rendah

dibandingkan dengan substrat yang teroksidasi, secara signifikan akan menunda atau menghambat oksidasi substrat (Young and Woodside, 2011). Sadikin (2001), berpendapat bahwa serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker.

Senyawa fenolik atau polifenol berperan sebagai penangkal radikal karena fenol memiliki struktur cincin aromatik dan gugus hidroksil yang dapat mendonorkan hidrogen. Fenol juga dapat mengurangi radikal bebas melalui pembentukan kelat dengan ion-ion bervalensi dua yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Yuslianti, 2018).

2.5.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi menurut (Sayuti dan Yenrina, 2015) yaitu:

- a. pelepasan hidrogen dari antioksidan
- b. pelepasan elektron dari antioksidan
- c. asidi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan
- d. pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi

berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah *chain breaking antioxidant* (Winarsi, 2007).

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalam antioksidan alami ini adalah asam askorbat, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsih, 2007).

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada didalam tubuh. Ada dua macam antioksidan, antioksidan internal dan eksternal. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri, akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh memproduksi antioksidan alami akan semakin berkurang dengan bertambahnya usia (Sayuti dan Yenrina, 2015).

2.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan non enzimatis pada tanaman dan bahan pangan umumnya dapat menggunakan metode yang berbasis air 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (reaksi dengan radikal bebas), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) (reaksi reduksi-oksidasi), Ferrous Ion Chelating (FIC) (reaksi kelat atau melalui pembentukan kompleks), dan pengukuran kadar fenolik total (Rajurkar dan Rander, 2011; Adnan dkk., 2011).

Salah satu metode yang digunakan untuk menganalisis aktivitas antioksidan yakni didasarkan pada reagen Folin-Ciocalteu umumnya digunakan untuk menentukan dan mengukur kadat fenol total. Metode ini mengevaluasi kemampuan fenol untuk bereaksi dengan zat pengoksidasi. Reagen Folin-Ciocalteu mengandung natrium molibdat dan tungstat, yang bereaksi dengan semua jenis fenol. Pemindahan elektron pada pH basa mengurangi natrium molibdat dan tungstat dalam oksida tungsten (W_8O_{23}) dan molibdenum (Mo_8O_{23}), yang memiliki warna biru cerah dalam larutan. Intensitas warna ini sebanding dengan jumlah gugus hidroksil dari molekul (Santos-Sánchez, 2019).

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrihidazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas, DPPH cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Tristantini dkk., 2016).

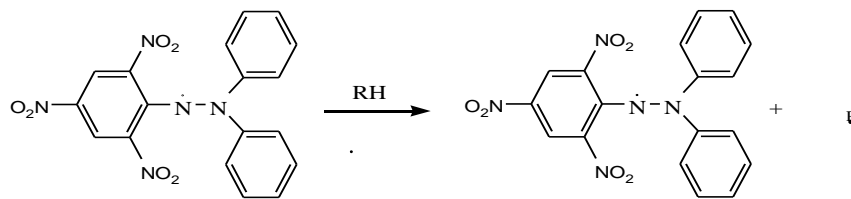
Menurut Richa (2009), metode DPPH berfungsi untuk mengukut elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dengan reaksi:



Metode DPPH merupakan penukuran antioksidan yang memiliki keunggulan dibanding dengan metode lain yaitu sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran radikal DPPH

oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas inhibisi radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration*).

Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50% (Shahidi, 2018). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktifitas inhibisi radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH melalui mekanisme donor atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Tristantini dkk., 2016). Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Yuhernita, 2011).

Persentase hambatan radikal bebas ditentukan dengan persamaan berikut (Genwali dkk., 2013):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (2)$$

Nilai IC₅₀ dihitung dari grafik aktivitas inhibisi radikal terhadap konsentrasi ekstrak. Secara statistik, korelasi antara aktivitas antioksidan dan total konten fenolik ditentukan dengan memplot IC₅₀ (µg/ml) terhadap TPC (mg/g) (Genwali dkk., 2013). Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kategori antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ (Fatmawati dkk., 2019)

Kategori	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	101-250
Lemah	250-500