BAB I
PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Perkembangan global yang pesat di berbagai bidang turut memengaruhi pola kesehatan masyarakat. Gaya hidup modern yang kurang sehat, disertai dengan tingkat stres yang tinggi, menjadi salah satu faktor utama penyebab meningkatnya insiden penyakit degeneratif. Gaya hidup yang diterapkan masyarakat jaman sekarang seperti makan makanan cepat saji, tinggi karbohidrat, lemak dan kurang serat, ditambah lagi dengan kurang olahraga dan gerak memicu terjadinya obesitas. Selain itu, dominasi promosi makanan cepat saji dan makanan yang tidak sehat kerap mengambil perhatian cukup banyak sehingga tingkat konsumsi makanan tersebut juga meningkat. Obesitas merupakan faktor resiko berbagai penyakit seperti diabetes, cardiovaskular, dan kanker. Study menggunakan literatur mulai tahun 2019-2024 menunjukkan bahwa makanan cepat saji sangat berkaitan dengan peningkatan prevalensi obesitas, sindrom metabolik, dan gangguan psikologis seperti stres dan perasaan tidak bahagia (Firayani, 2024)

Beberapa penyakit lainnya yang timbul akibat gaya hidup yang salah seperti alzheimer, penyakit ginjal kronis, penuaan dan inflamasi. Stres oksidatif yang terjadi pada tingkat selular memicu kondisi penyakit tersebut. Pada kondisi alzheimer terjadi penurunan enzim antioksidan dalam tubuh (antara lain superoksida dismutase, katalase, dan glutation). Pada kondisi gangguan kardiovaskular, tingginya spesies oksigen reaktif menyebabkan penurunan bioavailabilitas *nitric oxide* (NO) yang menhasilkan disfungsi endotel dan aterosklerosis. Pada kondisi diabetes melitus, hiperglikemia menyebabkan aktivasi NOX dan meningkatkan aktivitas mitokonria sehingga terbentuk banyak spesies oksigen reaktif (ROS). Meningkatkan spesies oksigen reaktif berdampak pada kerusakan sel beta pankreas dan resistensi insulin sehingga memperparah kondisi diabetes melitus. Begitu pula pada kondisi penyakit ginjal kronis, dimana pembentukan ROS berlebih pada mitokondria menyebabkan penurunan fungsi filtrasi ginjal, fibrosis dan kerusakan nefron (Chaudhary et al., 2023; Leyane et al., 2022). Stres oksidatif juga berperan dalam proses inflamasi kronis seperti artritis reumatoid dan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK). Peningkatan radikal bebas yang tidak diimbangi dengan sistem pertahanan antioksidan juga dapat memicu penuaan dini, gangguan kulit, serta perkembangan berbagai jenis kanker akibat terjadinya kerusakan DNA oksidatif yang berpotensi menimbulkan mutasi dan transformasi sel ganas (Domanskyi & Parlato, 2022; Jin & Kang, 2024; Liu et al., 2023; Muscolo et al., 2024)

Pemanfaatan bahan alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan sudah banyak dibuktikan melalui berbagai penelitian untuk mencegah dan menangani penyakit infeksi dan non-infeksi. Lebih spesifik lagi, senyawa bioaktif yang bersumber dari limbah buah-buahan juga telah terbukti bermanfaat mengahambat berbagai jalur potologi penyakit dengan mekanisme yang berbeda-beda (Hussain et al., 2023; Rahaman et al., 2023). Resveratrol yang ditemukan pada kacang tanah, murbei, dan anggur eropa telah dilaporkan memiliki aktivitas (Hoca et al., 2023; Jeon et al., 2023;

Su et al., 2022; Yi et al., 2022). Dalam sebuah penelitian yang melakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap 20 jenis kulit buah, ditemukan bahwa kulit buah mangga mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang terbanyak yaitu 27.51 ± 0.63 mg GAE/g dan 1.75 ± 0.08 mg QE/g. Diantara kulit buah yang diuji, kulit buah anggur menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat terhadap DPPH (IC_{50} 9.17 ± 0.19 mg ascorbic acid equivalen (AAE)/g), ABTS (10.79 ± 0.56 mg AAE/g), ferric reducing capacity in FRAP (9.22 ± 0.25 mg AA/g), dan kapasitas antioksidan total, KAT (8.77 ± 0.34 mg AAE/g). Dari 20 sampel kulit buah tersebut, ditemukan senyawa asam fenolat, flavonoid, lignan, stilben, dan senyawa polifenol yang lainnya (Suleria et al., 2020).

Tingkat konsumsi buah-buahan terus mengalami peningkatan dari waktu ke waktu. *Food and Agriculture Organization* (FAO) melaporkan bahwa produksi alpukat dunia telah mencapai sekitar 6 juta ton per tahun, yang sejalan dengan meningkatnya volume limbah hasil pengolahan buah. Berbagai penelitian dan bukti empiris menunjukkan bahwa kulit kakao, kulit alpukat, kulit rambutan, kulit matoa, dan kulit apel sebagai limbah agroindustri maupun rumah tangga berpotensi menimbulkan masalah kesehatan serta menurunkan kebersihan lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik. Limbah kulit buah yang kaya akan bahan organik dan memiliki kadar air tinggi mudah mengalami pembusukan, sehingga berpotensi menghasilkan gas berbau, lindi, serta menjadi media pertumbuhan mikroorganisme patogen. Kondisi tersebut dapat mencemari tanah dan air serta meningkatkan risiko gangguan kesehatan masyarakat di sekitar lingkungan pembuangan limbah (Harefa et al., 2025) Sehingga pada penelitian ini, limbah buah-buahan tersebut ingin di teliti efek antioksidannya yang berpotensi dijadikan sebagai suplemen Kesehatan

Dalam penelitian ini, limbah buah-buahan yang diteliti yaitu kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*). Upaya ini sejalan dengan Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (*Sustainable Development Goals*/SDGs) poin ke-3, yaitu menjamin kehidupan yang sehat dan meningkatkan kesejahteraan bagi semua orang di segala usia. Selain itu, penelitian ini juga mendukung pencapaian SDG poin ke-12, yaitu memastikan pola konsumsi dan produksi yang berkelanjutan melalui pemanfaatan limbah sebagai bahan baku alami bernilai guna tinggi dalam pencegahan berbagai penyakit (United Nations, 2015)

Salah satu hal yang menjadi kebaruan dalam penelitian ini adalah penggunaan kombinasi ekstrak limbah buah-buahan sebagai sumber antioksidan. Di masyarakat telah diperjualbelikan suplemen kesehatan yang mengandung antioksidan seperti Magozai, yang berisi kombinasi kulit manggis, berry, dan wortel. Akan tetapi, suplemen-tersebut belum ada yang memanfaatkan kombinasi limbah dari buah-buahan, padahal limbah-limbah tersebut mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi untuk dikembangkan (Nirmal et al., 2023; Sagar *et al*., 2018). Beberapa produk kesehatan seperti Citrobiotic® produksi Sanitas (mengandung biji buah anggur), Mandarin® produksi Hawaii Pharm (mengandung tingtur kulit jeruk), Papaya Gold® produksi Enzymedica (mengandung enzym pepaya), Garcinia Cambogia® produksi Sport Research (mengandung ekstrak kulit buah manggis), Pomegranate Extract® produksi Source Natural (mengandung ekstrak kulit delima) merupakan

beberapa produk kesehatan yang diperjualbelikan dengan harga berkisar 300 hingga 750 ribu rupiah telah banyak dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh dunia. Ini merupakan salah satu latar belakang kuat yang menginspirasi peneliti untuk melakukan pengujian profil fitokimia dan aktivitas antioksidan dari beberapa ekstrak kulit buah dan kombinasinya.

Melalui penelitian ini diharapkan ditemukan data mengenai manfaat ekstrak kulit buah sebagai sumber aktioksidan yang kelak dapat dikembangkan sebagai suplemen kesehatan serta dapat mengurangi masalah limbah di linkungan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak limbah kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*) berdasarkan uji penghambatan radikal bebas DPPH?
2. Berapa kadar fenolik total dan flavonoid total dari kombinasi ekstrak kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*).

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak limbah kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*) berdasarkan uji penghambatan radikal bebas DPPH?
2. Untuk mengetahui berapa kadar fenolik total dan flavonoid total dari kombinasi kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, botol kakao, cawan porselen, corong, filtrasi vakum, elisa *reader*, freeze drying L-200 (Buchi®), gelas beaker (Pyrex®), gunting, labu ukur (Pyrex®), mikropipet (Socorex®), oven, rotary evaporator R-220 (Buchi®), sendok tanduk, sonikator (VWR®), spektrofotometer UV Vis, timbangan analitik (Ohaus®), tip, toples, tabung reaksi, vial.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, Kulit matoa (*Pometia pinnata*), Kulit kakao (*Theobroma cacao*), Kulit apel (*Malus domestica*), kulit alpukat (*Persea Americana*), etanol 96%, kertas saring, $AICI_3$, natrium asetat, aquadest dan metanol P. a, DPPH.

2.2 Metode Ekstraksi Sampel

2.2.1 Pengambilan sampel

Sampel kulit rambutan (*Nephelium lappaceum*), kulit matoa (*Pometia pinnata*), kulit kakao (*Theobroma cacao*), kulit apel (*Malus domestica*), dan kulit alpukat (*Persea americana*) diambil dari dataran rendah, Kelurahan Macanang, Kecamatan Taneteriattang, Kabupaten Bone, Provinsi Sulawesi Selatan

2.2.2 Penyiapan sampel

Untuk sampel yang tidak mudah rusak yaitu kulit matoa di siapkan dengan cara sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan benda asing pada sampel kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan zat kotor yang menempel pada sampel. Setelah itu sampel dimasukkan di oven pada suhu 60˚C lalu dilanjutkan dengan sortasi kering kemudian dilakukan perajangan. sedangkan sampel yang mudah rusak saat dikeringkan yaitu kulit rambutan, kulit alpukat, kulit apel dan kulit kakao dilakukan dengan cara dirajang dan ekstraksi dalam keadaan segar (Mardiyah *et al*., 2024).

2.2.3 Ekstraksi simplisia

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode sonikasi, dimulai dengan menimbang simplisia 10 g dalam 200 mL pelarut etanol 70%. Dilanjutkan dengan proses sonikasi selama 30 menit yang dan dilanjutkan dengan maserasi selama 24 jam. Hasil ekstraksi selanjutnya disaring dalam dua tahap, dimana tahap awal menggunakan kain saring untuk memisahkan residu kasar. Residu yang diperoleh kemudian diekstraksi kembali menggunakan metode UAE dengan kondisi yang sama seperti tahap sebelumnya. Proses ekstraksi diulang hingga filtrat yang dihasilkan tampak jernih. Seluruh filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan didiamkan semalaman untuk mengendapkan partikel-partikel halus, kemudian dilakukan penyaringan ulang secara perlahan menggunakan dua lapis kertas saring dengan bantuan pompa vakum. Filtrat hasil penyaringan kembali didiamkan semalaman guna memastikan pengendapan partikel halus secara optimal. Tahap penguapan pelarut dilakukan

dalam dua langkah, yaitu pertama menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 20 rpm untuk menguapkan sebagian besar pelarut. Selanjutnya, ekstrak kental yang diperoleh dibekukan dan dikeringkan menggunakan *freeze dryer* pada suhu sekitar −51°C hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari paparan cahaya (Kartikawati & Deswati, 2020).

2.3 Penentuan Kadar Flavonoid Total

2.3.1 Pembuatan larutan stok kuarsetin

Sebanyak 10 mg baku standar quercetin ditimbang dan dilarutkan dalam etanol hingga mencapai volume 10 mL menggunakan labu takar, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan ini kemudian disiapkan empat seri larutan kerja dengan konsentrasi 2,5, 5,0, 7,5, dan 10,0 ppm. Masing-masing larutan diambil sebanyak 500 µL, lalu ditambahkan 1,5 mL etanol p.a., 100 µL larutan $AlCl_3$ 10%, dan 100 µL larutan natrium asetat 1 M. Setelah dikocok merata, volume larutan ditambah hingga 5 mL menggunakan labu takar. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 428 nm, dimulai dari konsentrasi 0; 2,5; 5; 7,5; dan 10 ppm. (Farmakope Herba edisi II, 2017).

2.3.2 Pembuatan larutan uji sampel

Timbang masing masing ekstrak kulit alpukat, kulit rambutan, kulit matoa, kulit apel dan kulit kakao sebanyak 50 mg larutkan dalam etanol 5 ml hingga mencapai konsentrasi 10.000 ppm, selanjutnya dipipet dari stok ekstrak kulit alpukat 500 µL, ekstrak kulit rambutan 300 µL, ekstrak kulit matoa 500 µL, kulit apel 300 µL dan kulit kakao 500 µL, lalu ditambahkan 1,5 mL etanol p.a., 100 µL larutan $AlCl_3$ 10%, dan 100 µL larutan natrium asetat 1 M. Campuran dikocok hingga homogen, kemudian ditambah dengan etanol hingga mencapai 5 mL. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 30 menit dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 428 nm (Farmakope Herba edisi II, 2017).

2.3.4 Pembuatan larutan uji kombinasi sampel

Timbang masing masing ekstrak kulit alpukat, kulit rambutan, kulit matoa, kulit apel dan kulit kakao sebanyak 10 mg larutkan dalam 10 ml etanol hingga mencapai konsentrasi 1.000 ppm, campur semua larutan. selanjutnya dipipet dari stok 500 µL, lalu ditambahkan 1,5 mL etanol p.a., 100 µL larutan $AlCl_3$ 10%, dan 100 µL larutan natrium asetat 1 M. Campuran dikocok hingga homogen, kemudian ditambah dengan etanol hingga mencapai 5 mL. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 30 menit dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 428 nm (Farmakope Herba edisi II, 2017).

2.4 Penentuan Kadar Fenolik Total

2.4.1 Pembuatan larutan standar asam galat

Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 10 mL air hingga menghasilkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk ini dibuat enam larutan standar dengan konsentrasi berbeda, yaitu 0,5, 1,5, 3,0, 5,0, 7,0, dan 10,0 ppm. Masing-masing konsentrasi dibuat dengan cara memipet larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,05; 0,15; 0,3; 0,5; 0,7; dan 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian volumenya ditambahkan air hingga mencapai tanda batas. Dari setiap larutan standar asam galat tersebut, diambil 500 µL dan ditambahkan 2,5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5%. Campuran kemudian dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 8 menit di tempat gelap. Setelah itu, ditambahkan 2 mL larutan natrium hidroksida 1%, lalu diinkubasi kembali selama 1 jam pada suhu kamar dalam kondisi tanpa cahaya (Farmakope Herba edisi II, 2017).

2.4.2 Pembuatan larutan uji sampel

Untuk larutan stok kulit rambutan, ditimbang 50 mg dilarutkan dalam 5 ml etanol, kemudian diencerkan dengan memipet 100 µL dilarutkan dalam 10 ml hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian untuk ekstrak kering kulit alpukat, kulit matoa, kulit apel dan kulit kakao masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dalam 5 mL pelarut etanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10.000 ppm. Dari larutan stok, dipipet ekstrak kulit alpukat 20 µL, ekstrak kulit rambutan 100 µL, ekstrak kulit matoa 20 µL, kulit apel 20 µL dan ekstrak kulit kakao 20 µL, kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5%. Selanjutnya, ditambahkan 2 mL larutan natrium hidroksida 1%, kemudian campuran diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dalam kondisi gelap. Setelah itu, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang lebih kurang 736 nm. Kemudian setiap jenis sampel dianalisis dalam tiga kali penimbangan (replikasi) dan dilakukan tiga kali pengukuran untuk memastikan keakuratan hasil (Farmakope Herbal edisi II, 2017).

2.4.3 Pembuatan larutan uji kombinasi sampel

Masing-masing ekstrak kering kulit alpukat, kulit rambutan, kulit matoa, kulit apel dan kulit kakao ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 mL pelarut etanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1.000 ppm. Campur samua larutan dalam satu beaker. Dari larutan ini, dipipet 20 µL, kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5% . Selanjutnya, ditambahkan 2 mL larutan natrium hidroksida 1%, kemudian campuran diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dalam kondisi gelap. Setelah itu, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang lebih kurang 736 nm. Kemudian setiap jenis sampel dianalisis dalam tiga kali penimbangan (replikasi) dan dilakukan tiga kali pengukuran untuk memastikan keakuratan hasil (Farmakope Herbal edisi II, 2017).

2.5 Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

2.5.1 Pembuatan DPPH

Ditimbang 40 mg DPPH kemudian larutkan pada labu tentukur 25 ml dengan methanol p.a hingga tanda batas (Evary et al., 2025).

2.5.2 Pengujian aktivitas antioksidan sampel

Menimbang sampel ekstrak kulit rambutan, kulit apel, kulit alpukat, kulit kakao, dan kulit matoa 10 mg dilarutkan dalam etanol 5 ml hingga mencapai konsentrasi 2.000 ppm. Kemudian diencerkan ekstrak kulit rambutan, kulit apel, kulit kakao, dan kulit matoa menjadi 100, 400, 400, dan 100 ppm. Selanjutnya dari stok sampel ekstrak kulit rambutan, kulit apel, kulit alpukat, kulit kakao, dan kulit matoa di pipet 10-70 µL, 50-110 µL, 5-35 µL, 10-70 µL, dan 80-100 µL kemudian ditambahkan 60 µL DPPH, lalu dicukupkan dengan metanol hingga 200 µL. Dilakukan inkubasi pada suhu ruang di ruangan gelap selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada 516 nm (Evary et al., 2025).

2.5.3 Pengujian aktivitas antioksidan kombinasi

Menimbang masing masing sampel kering sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml etanol (1:1 masing masing sampel) hingga mencapai konsentrasi 1000 ppm, homogenkan. Kemudian diencerkan menjadi 100 ppm. Selanjutnya dari stok di pipet 20-140 µL kemudian ditambahkan 60 µL DPPH, lalu dicukupkan dengan metanol hingga 200 µL. Dilakukan inkubasi pada suhu ruang di ruangan gelap selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada 516 nm (Evary et al., 2025).

Selanjutnya aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan persamaan berikut :

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{Ac - As}{Ac} \; x \; 100\%$$ (Fatmawati, 2023)