

Kandungan Total Fenol Dan Kapasitas Antioksidan Buah Lokal Indonesia Sebelum Dan Setelah Pencampuran

Total Phenol Content and Antioxidant Capacity of Indonesian Local Fruits Before and After Mixing

Yusminah Hala¹⁾ dan Alimuddin Ali¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Makassar

Email korespondensi: yushala@unm.ac.id

ABSTRAK

Buah-buahan yang ketersediaannya setiap saat sepanjang tahun dan dapat ditemukan di seluruh propinsi di Indonesia adalah Tomat, Jeruk, Apel, Anggur dan Pir, walaupun buah-buahan ini tidak semuanya merupakan tanaman asli Indonesia. Salah satu teknik mengkonsumsi buah adalah dengan mencampur beberapa jenis buah dan mengolahnya menjadi jus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan polifenol dan kapasitas antioksidan campuran buah ini, apakah sama, lebih tinggi atau lebih rendah dibandingkan dengan kandungan polifenol dan antioksidan buah tunggal tanpa dicampur. Metode penelitian dilakukan dengan mengukur kandungan senyawa fenol total dan mengukur kemampuan antioksidan ekstrak buah terhadap radikal DPPH. Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pencampuran buah dapat meningkatkan Kandungan Total Fenol buah dan dapat meningkatkan kapasitas antioksidan buah. Derajat Keasaman buah merupakan keseimbangan dari seluruh derajat keasaman buah yang dicampuri

Kata kunci: total fenol, kapasitas antioksidan, campuran buah.

ABSTRACT

Fruits that are available at any time of the year and can be found in all provinces in Indonesia are Tomatoes, Oranges, Apples, Grapes and Pears, although not all of these fruits are native to Indonesia. One technique for consuming fruit is by mixing several types of fruit and processing it into juice. The purpose of this study was to determine the polyphenol content and antioxidant capacity of this fruit mixture, whether the same, higher or lower than the polyphenol content and antioxidant capacity of a single fruit without being mixed. The research method was carried out by measuring the total phenolic content and measuring the antioxidant ability of fruit extracts against DPPH radicals. Data analysis was carried out in a descriptive qualitative manner. The results showed that mixing the fruit can increase the total phenol content of the fruit and can increase the antioxidant capacity of the fruit. The degree of acidity of the fruit is a balance of all the degrees of acidity of the mixed fruit

Keywords: total phenol, antioxidant capacity, fruit mix.

PENDAHULUAN

Pedoman konsumsi makanan sehari-hari dalam memenuhi gizi seimbang masyarakat menggambarkan porsi makan yang dikonsumsi dalam satu piring yang terdiri

dari 50 persen buah dan sayur, dan 50 persen sisanya terdiri dari karbohidrat dan protein. Porsi buah-buahan dan sayuran yang sebelumnya tidak ditentukan, kemudian menjadi 50% dari total nutrisi demi memenuhi kebutuhan gizi seimbang. Buah-buahan dan sayuran selain menyediakan serat juga mengandung banyak vitamin, mineral, polifenol dan antioksidan.

Buah-buahan dan sayuran adalah bagian penting dari makanan manusia, dan beberapa studi epidemiologis menunjukkan bahwa kandungan antioksidan alami, terutama flavonoid, bermanfaat dalam melindungi tubuh manusia terhadap kerusakan yang disebabkan oleh zat-zat reaktif. Buah-buahan dan sayuran ini memasok beberapa antioksidan, seperti asam askorbat (vitamin C), tokoferol, dan tokotrienol (vitamin E), karotenoid (provitamin A), dan beberapa senyawa fenolik (flavon, isoflavon, flavanon, anthocyanin, dan katekin) (Shahidi & Naczki, 2004; Guerrero, *et al.* 2010;).

Polifenol merupakan senyawa fitokimia yang secara alami terkandung dalam tanaman. Senyawa inilah yang memberikan berbagai warna pada makanan. Tak hanya itu, polifenol juga berfungsi untuk melindungi tanaman dari bahaya. Tak hanya mampu melindungi tanaman, polifenol yang masuk ke dalam tubuh kita juga mampu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Itu mengapa, polifenol dapat bertindak sebagai antioksidan dalam tubuh.

Polifenol memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Polifenol berperan dalam memberi warna pada suatu tumbuhan seperti warna daun saat musim gugur. Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa kelompok polifenol memiliki peran sebagai antioksidan yang baik untuk kesehatan. Antioksidan polifenol dapat mengurangi risiko penyakit jantung dan pembuluh darah dan kanker. Polifenol dapat ditemukan pada kacang-kacangan, teh hijau, teh putih, anggur merah, anggur putih, minyak zaitun dan turunannya, cokelat hitam, dan delima. Kadar polifenol yang lebih tinggi dapat ditemukan pada kulit buah seperti pada anggur, apel, dan jeruk. Polifenol adalah sebuah kelompok senyawa kimia yang diperoleh dari kulit batang, akar, daun dan buah berbagai tanaman.

Senyawa polifenol dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksil (OH) sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel. Radikal bebas yang berasal dari berbagai makanan awetan dan polusi udara merupakan musuh utama kesehatan, kecantikan dan penuaan dini seperti cepat keriput dan noda hitam pada kulit. Kemampuan polifenol menangkap radikal bebas, 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih efektif dari vitamin E.

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan. Sehingga, molekul ini dapat menyumbang atau menerima elektron dari molekul lain. Hal ini membuat radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas mampu menyerang berbagai molekul dalam tubuh, seperti lipid, asam nukleat, dan protein sebagai target utama. Sehingga, dapat menyebabkan kerusakan sel, protein, dan DNA, serta gangguan keseimbangan dalam tubuh.

Antioksidan merupakan molekul dalam sel yang dapat mencegah radikal bebas mengambil elektron, sehingga radikal bebas tidak menyebabkan kerusakan sel. Dengan adanya antioksidan, maka jumlah radikal bebas dalam tubuh akan tetap terkendali. Oleh karena itu, perlu untuk memperbanyak jumlah antioksidan yang masuk ke tubuh untuk mencegah bahaya radikal bebas. Sebenarnya tubuh menghasilkan antioksidan, tapi jumlahnya tidak mencukupi untuk dapat mengimbangi jumlah radikal bebas dalam tubuh. Sehingga, perlu mendapatkan antioksidan dari sumber luar.

Antioksidan bisa didapatkan dari konsumsi berbagai macam makanan yang mengandung antioksidan. Antioksidan dalam makanan terdapat dalam bentuk beta karoten

(vitamin A), lutein, vitamin C, vitamin E, likopen, dan fitonutrien lain, yang bisa diperoleh dengan mengonsumsi banyak sayuran dan buah-buahan. Contoh sayuran dan buah-buahan yang mengandung antioksidan adalah tomat, wortel, brokoli, kale bayam, jeruk, kiwi, buah beri, serta sayuran dan buah berwarna lainnya, juga bisa diperoleh dari kacang-kacangan dan teh hijau.

Buah-buahan yang ketersediaannya setiap saat sepanjang tahun dan dapat ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia adalah Tomat, Jeruk, Apel, Anggur, Pir. Sekarang ini buah-buahan Tomat, Jeruk, Apel, Anggur, Pir disenangi oleh hampir semua kalangan selain karena rasanya yang sesuai dengan lidah masyarakat Indonesia juga harganya terjangkau. Walaupun buah-buahan ini tidak semuanya merupakan tanaman asli Indonesia, namun konsumsi buah ini dapat ditemui di seluruh pelosok Indonesia dan di setiap kalangan, mulai dari masyarakat tingkat sosial tinggi hingga tingkat sosial menengah bahkan rendah.

Dengan tingginya kebutuhan konsumsi buah dan sayuran maka masyarakat dewasa ini menggunakan teknik yang sangat variatif dalam mengonsumsi buah. Salah satu teknik adalah dengan mencampur beberapa jenis buah dan mengolahnya menjadi jus. Teknik ini juga dapat mengefisienkan waktu untuk mengonsumsi buah, sehingga seringkali menjadi pilihan bagi orang yang sangat sibuk. Akan tetapi permasalahan yang dapat timbul dengan mencampur buah ini adalah bagaimana dengan kandungan polifenol dan antioksidan campuran buah ini, apakah sama, lebih tinggi atau lebih rendah dibandingkan dengan kandungan polifenol dan antioksidan buah tunggal tanpa dicampur.

Senyawa ini bisa ditemukan pada buah, sayuran, dan sereal secara alami. Buah, seperti buah anggur, apel, pir, ceri, dan buah beri mengandung polifenol hingga 200-300 miligram (mg) per 100 gram. Jumlah yang cukup bisa melindungi sel tubuh dari kerusakan. Ini adalah salah satu alasan mengapa banyak makan sayur dan buah itu sangat penting.

Manfaat polifenol sangat banyak bagi kesehatan. Bahkan menurut banyak penelitian, konsumsi makanan tinggi polifenol secara rutin dalam waktu lama dapat melindungi tubuh dari perkembangan kanker, penyakit jantung, diabetes, osteoporosis, dan penyakit neurodegeneratif.

Antioksidan dalam polifenol mampu melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas, yang bisa menjadi penyebab kanker. Radikal bebas bisa didapatkan dari mana saja, seperti dari polusi, asap rokok, makanan, bahkan tubuh sendiri juga memproduksi radikal bebas. Jenis dari polifenol, seperti katekin, lignan, resveratrol, quercetin, dan kurkumin, telah terbukti dapat menjadi agen antikanker. Polifenol juga bisa menjadi agen antiproliferasi, antiradang, dan mencegah oksidasi sebagai upaya untuk mencegah kanker.

Konsumsi polifenol dapat mencegah penyakit jantung koroner. Hal ini mungkin terjadi karena polifenol dapat membantu memperbaiki fungsi pembuluh darah dan membantu memperlambat penggumpalan darah. Selain itu, polifenol juga bisa menjadi penghambat oksidasi lemak jahat, sehingga pembentukan aterosklerosis yang jadi penyebab penyakit jantung bisa terhambat. Efek antioksidan, antiplatelet, dan antiradang yang dimiliki polifenol juga dapat membantu mencegah penyakit jantung.

Mengonsumsi makanan yang mengandung polifenol bisa membuat kadar gula darah lebih terkendali. Hal ini dilakukan polifenol dengan cara menghambat penyerapan glukosa dalam usus. Beberapa penelitian juga telah melaporkan bahwa polifenol mempunyai sifat antidiabetes. Senyawa polifenol jenis katekin dalam teh dapat melindungi dari perkembangan komplikasi diabetes. Tak hanya katekin, polifenol jenis lain, seperti resveratrol dan quercetin juga bisa bertindak sebagai agen antidiabetes.

Penelitian *in vitro* yang dilakukan of Gouedard dkk menunjukkan bahwa senyawa polifenol menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA PON1 (Gouedard dkk, 2004).

Polifenol dari buah delima juga meningkatkan ekspresi mRNA enzim PON1 dan melindungi HDL dan LDL dari oksidasi (Khateeb et al., 2010). Penelitian di China berupa suplementasi antosianin dari blueberry pada 122 subyek hiperkolesterolemik meningkatkan konsentrasi HDL, menurunkan konsentrasi LDL, meningkatkan aktivitas enzim PON1 dan meningkatkan effluks kolesterol (Zhu et al., 2014). Martini et al. (2017) dalam review 76 artikel penelitian yang dipublikasi antara tahun 2000 sampai 2016 dimana 11 merupakan penelitian in vitro, 44 pada hewan coba dan 26 adalah penelitian eksperimental pada manusia, melaporkan bahwa senyawa polifenol berperan penting dalam modulasi enzim PON1 dan selanjutnya mencegah oksidasi HDL dan LDL.

Beberapa penelitian membuktikan peranan senyawa-senyawa polifenol tumbuhan dalam meningkatkan konsentrasi dan ekspresi transporter lemak ABCA1 antara lain: (1) Penelitian in vitro pada makrofag mencit membuktikan bahwa senyawa flavonoid quercetin menyebabkan peningkatan ekspresi mRNA ABCA1 dan menyebabkan peningkatan efflux kolesterol dari makrofag ke HDL (Chang et al., 2012); (2) Ekstrak daun *Hisbiscus sabdariffa* secara in vitro mengurangi oksidasi LDL dan pembentukan sel busa melalui jalur transporter ABCA1 (Chen et al., 2013); (3) Erythrodiol sebagai komponen senyawa dalam minyak zaitun meningkatkan ekspresi mRNA ABCA1 secara in vitro (Wang et al., 2017); dan (4) Penelitian pada 13 pasien pre hipertensi dengan desain randomised controlled cross-over trial menunjukkan bahwa pemberian minyak zaitun dengan konsentrasi senyawa polifenol yang tinggi (956 mg/kg) menyebabkan peningkatan konsentrasi ABCA1, SRB1, PPAR α , PPAR γ , PPAR δ and CD36 dibandingkan dengan pemberian minyak zaitun dengan kandungan polifenol sedang (289 mg/kg) (Farras et al., 2013).

Metabolit primer pada tumbuhan seperti gula, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat, diperlukan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Sedangkan metabolit-metabolit sekunder berfungsi untuk menjaga 'plant survival' dalam menghadapi perubahan-perubahan iklim dan cuaca. Polifenol merupakan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Terdapat beberapa ribu senyawa golongan fenol yang dihasilkan oleh tumbuhan. Secara terminologi, senyawa fenol dari tumbuhan didefinisikan sebagai "Metabolit-metabolit sekunder pada tumbuhan yang terdiri dari sedikitnya dua cincin fenil yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil, termasuk derivat-derivatnya (contohnya: golongan ester dan glikosida), yang dihasilkan melalui jalur shikimate/ phenylpropanoid, yang masing-masing memenuhi fungsi fisiologis pada tumbuhan" (Lattanzio, 2013).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan bio-polifenol terbesar, dengan struktur dasar berupa dua buah cincin aromatis yang dihubungkan oleh jembatan dengan tiga karbon. Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa subklas yang dibedakan berdasarkan oleh jembatan yang menghubungkan antara kedua cincin aromatis dan juga oleh derajat oksidasi setiap jembatan tersebut.

Radikal bebas secara alamiah dihasilkan dalam proses fisiologis dalam tubuh. Jumlah radikal bebas akan bertambah jika tubuh bekerja melebihi kapasitasnya. Selain itu radikal bebas ini dapat juga berasal dari makanan yang tidak sehat, bahan kimia, paparan sinar ultraviolet, asap rokok dan polusi udara. Radikal bebas yang diantaranya disebut juga spesies oksigen reaktif (Reactive Oxygen Species = ROS) dan spesies nitrogen reaktif (Reactive Nitrogen Species = RNS) karena sifatnya yang tidak stabil akan berusaha menstabilkan dirinya melalui proses oksidasi yang pada akhirnya dapat merusak jaringan tubuh. Pada keadaan normal radikal bebas ini dinetralkan oleh antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri (Andreyev et al., 2005). Antioksidan endogen ada yang bekerja secara langsung terhadap radikal bebas di antaranya yaitu enzim Superoxide Dismutase = SOD, Gluthathione reductase/peroxidase, Catalase, dan yang bekerja secara tidak langsung yaitu

dengan mengurangi potensi oksidan seperti enzim-enzim golongan quinone reductase yang mengurangi potensi reaksi yang menghasilkan radikal bebas (Hollman et al., 2011). Namun jika jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebihan, tubuh tidak dapat menetralsisir semua radikal bebas tersebut. Oleh karena itu diperlukan antioksidan tambahan dari luar tubuh untuk menetralsisir radikal bebas ini agar tidak menyebabkan kerusakan di dalam tubuh.

Terdapat beragam jenis antioksidan. Tiap jenis antioksidan bekerja dengan cara yang berbeda, untuk melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan. Vitamin C diketahui dapat mencegah kerusakan dengan menangkap dan menetralsisir radikal bebas, sementara vitamin E dapat memecah rantai radikal bebas. Flavonoid merupakan antioksidan yang terdapat pada berbagai jenis makanan dan merupakan bagian terbesar dari antioksidan.

Beberapa sayur dan buah mengandung antioksidan lebih tinggi dibandingkan yang lain. Contoh antioksidan yang digunakan tubuh adalah vitamin C, E, dan betakaroten. Ketiganya banyak terkandung dalam buah dan sayur berwarna merah, oranye, kuning, dan ungu.

Penelitian-penelitian telah menunjukkan efek antioksidan berbagai tumbuh-tumbuhan. Senyawa yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang mempunyai efek antioksidan adalah senyawa golongan polifenol. Dan bagian terbesar senyawa polifenol dengan sifat antioksidan adalah golongan flavonoid (De Pasqual-Teresa et al., 2011). Pada anthocyanin, struktur fenoliknyalah yang berperan dalam aktivitas antioksidan, yaitu kemampuan gugus fenol tersebut untuk mengikat radikal bebas (ROS=Reactive Oxygen Species) seperti superoksida (O₂⁻), singlet oksigen (¹O₂), peroksida (ROO⁻), hydrogen peroksida (H₂O₂), dan radikal hidroksi (OH[•]).

Buah Anggur mengandung vitamin B1 sebanyak 0,069 mg, vitamin B2 sekitar 0,07 mg, vitamin b3 sekitar 0,188 mg, asam pantotenat mencapai 0,05 mg, folat memenuhi 1% kebutuhan vitamin B9 harian, vitamin C berjumlah 10,8 mg, dan vitamin K yang mengasup 21% kebutuhan harian manusia.

Buah anggur mengandung senyawa seperti resveratol dan polifenol dalam tubuh sebagai senyawa aktif yang membantu proses metabolisme, mencegah pertumbuhan sel kanker dan terkombinasi dengan senyawa metabolit sekunder menjadi formula penangkal radikal bebas dengan peran sebagai antioksidan. Selain itu manfaat buah anggur yang lain adalah meringankan sakit kepala sebelah, mencegah rambut rontok, mencegah kanker payudara, mencegah serangan jantung, gangguan ginjal, mencegah penyakit Alzheimer, mengobati penyakit asma, masker penghilang jerawat dan mengobati sembelit.

Buah apel banyak mengandung berbagai macam nutrisi yang baik dan sangat dibutuhkan oleh tubuh, seperti kandungan Vitamin A, C dan mineral yang tinggi selain itu kandungan antioksidan buah apel juga cukup tinggi. Kandungan tersebut sangat baik bagi kesehatan kulit serta mata manusia. Khasiat buah apel adalah membantu menurunkan berat badan, Menjaga kesehatan jantung, Mampu menghindarkan dari penyakit diabetes, Mencegah kanker dan Mengobati penyakit asma.

Kandungan karotenoid jeruk akan diubah menjadi vitamin A yang berguna untuk kesehatan mata. Kandungan limonoid dapat mencegah terjadinya kanker kulit, payudara, paru-paru, lambung dan usus besar. Kandungan serat tinggi dapat membantu menurunkan kolesterol. Kalium berfungsi mengontrol detak jantung seseorang agar selalu seimbang. Jeruk dapat menurunkan resiko terkena kanker hati karena adanya karotenoid yang terkandung dalam vitamin A. Kandungan gula yang tinggi dalam jeruk dapat menghindari terbentuknya batu ginjal. Kandungan kalium bermanfaat untuk menurunkan tekanan darah tinggi. Selain itu, kalium juga bisa mencegah osteoporosis pada tulang Jeruk mengandung gula alami atau fruktosa yang bagus bagi penderita diabetes atau orang dengan resiko

diabetes. Kandungan vitamin C pada jeruk sangat bagus untuk memperkuat imun tubuh dan mampu menyembuhkan sariawan. Kandungan serat dalam jeruk membantu melancarkan pencernaan. Konsumsi jeruk setiap hari bisa melancarkan pencernaan. Kandungan senyawa bioflavonoid pada jeruk dapat mengatur proses pembakaran timbunan lemak secara kimiawi. Antibakteri jeruk bermanfaat sebagai obat herbal tuberculosis (TBC).

Pir adalah buah yang termasuk dalam keluarga buah apel, lebih kaya serat ketimbang apel. Jika 1 buah apel mengandung 3 gram serat, pir mengandung 6 gram. Ini berarti 1 buah pir mengandung 20 persen asupan serat yang disarankan untuk dikonsumsi dalam sehari. Buah pir kaya akan vitamin C, K, dan kromium. Kandungan gizi buah Pir (Pear), mentah per 100 g (3.5 oz) adalah Energi 242 kJ (58 kcal), Karbohidrat 15,46 g, Gula 9,80 g, Diet serat 3.1 g, Lemak 0 g, Protein 0,38 g, sejumlah Vitaminb seperti Thiamine (Vit. B1), Riboflavin (Vit. B2), Niacin (Vit. B3), Asam pantotenat (B5), Vitamin B6, Folat (vit B9), Vitamin C, Kalsium, Besi, Magnesium, Fosfor, Kalium dan Seng.

Tomat mengandung antioksidan yang sangat power full yaitu : beta karoten yang bertanggung jawab terhadap fungsi vitamin A dalam tubuh. Kandungan potasium dapat membantu tubuh menjaga kesehatan jantung selain itu kandungan serat, kalium, vitamin C, dan kolin dalam sebuah tomat sangat penting untuk jantung (kardiovaskular). Studi tentang kanker menemukan tomat yang dikombinasikan dengan manfaat brokoli saling bersinergi dan dapat membantu mengurangi kanker. Kandungan likopen tomat dapat membantu mengurangi risiko kanker pancreas sedang kandungan bioflavonoid dan karotenoid, merupakan zat anti inflamasi yang mampu mengatasi peradangan. Kandungan serat tinggi dapat menurunkan kadar glukosa darah dan lipid, dan kandungan Asam folat dalam tomat juga bisa membantu meredakan depresi dengan cara mencegah kelebihan pembentukan homosistein dalam tubuh. Tomat tinggi akan kandungan kalium sehingga dapat menurunkan tekanan darah bagi penderita hipertensi.

Penentuan kandungan polifenol dan kapasitas antioksidan dari olahan buah adalah penting untuk mengetahui potensi kesehatan dari makanan tersebut. Oleh karena itu, berbagai metode telah dikembangkan untuk memperkirakan kapasitas antioksidan (Benzie & Strain, 1996; González-Molina et al. 2012; Serrano et al., 2006) dan hasilnya dapat menjelaskan rekomendasi untuk konsumsi makanan.

METODE

Lokasi dan waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dengan mengambil sampel buah-buahan di Pasar dan Toko-toko buah yang ada di Kota Makassar. Analisis kandungan Total Fenol dan Kapasitas Antioksidan dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan Biologi FMIPA UNM. Pengambilan sampel buah-buahan dan analisis kandungan Total Fenol dan Kapasitas antioksidan dilakukan sejak bulan Mei – September 2019.

Pembuatan ekstrak buah,

Buah segar dicuci bersih kemudian ditiriskan, kemudian dikemas dalam kantong plastik dengan ukuran masing-masing 100 gram dan diberi label tanggal pengemasan. Buah yang telah dikemas kemudian dibekukan pada suhu -20°C sampai waktu untuk diekstrak. Selanjutnya sebanyak 1000 g buah beku langsung diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan selama 6 jam pada suhu ruangan (26°C). Ekstrak kemudian disaring dan dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Pengukuran kandungan Total Fenol

Sebanyak 0.5 mL ekstrak (100 µg/mL) dilarutkan dengan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:1 dengan air deionisasi), larutan kemudian dinetralisasi menggunakan 4 mL larutan natrium karbonat 7,5% (w/v). Campuran larutan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan total senyawa-senyawa fenol diperoleh dari persamaan linier dari kurva standar menggunakan asam galat.

Pembuatan kurva Standar Asam Galat Dibuat larutan asam galat dengan konsentrasi 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 ppm. Kemudian diambil masing-masing larutan sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 7,9 ml aquades dan 0,5 ml larutan Folin-Ciocalteu. Kemudian divortex selama satu menit. Larutan dipindahkan ke dalam labu tentukur 10 ml kemudian dicukupkan dengan larutan Natrium Karbonat 20 %. Kemudian larutan diinkubasi selama waktu operating time. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum dan didapat kurva kalibrasi asam galat serta persamaan garis linear $y = ax + b$.

Penetapan kandungan Total Fenol. Sebanyak 10,0 mg sampel ekstrak etanol buah-buahan dilarutkan dalam 10 ml methanol. Diambil larutan sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 7,9 ml akuades dan 0,5 ml larutan Folin-Ciocalteu. Kemudian divortex selama selama satu menit. Larutan dipindahkan ke dalam labu tentukur 10 ml kemudian dicukupkan dengan larutan Natrium Karbonat 20 %. Kemudian larutan diinkubasi selama waktu operating time. Absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum sebanyak 5 kali untuk satu kali pengukuran dan diambil rata-ratanya. Pengukuran dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali Kadar total fenol ekstrak buah-buahan dihitung dengan menggunakan substitusi nilai-nilai absorbansi rata-rata sampel ke dalam persamaan regresi linear yang didapat dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya. Nilai konsentrasi sampel yang didapat kemudian disubstitusikan lagi kedalam rumus perhitungan kadar total fenol berikut :

$$\text{Kadar total fenol} = C.V.FP/BS$$

Keterangan :

C = Konsentrasi (ppm) (x)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (ml)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)

Kadar total fenol disajikan dalam satuan mg ekuivalen asam galat / gram sampel, % gallic acid equivalent (GAE) (mg GAE/g).

Pengukuran kemampuan antioksidan ekstrak terhadap radikal DPPH

Pengukuran kapasitas antioksidan ekstrak buah dan larutan standar (asam askorbat) dilakukan berdasarkan persentase pengikatan terhadap radikal di-picryl phenyl hidrazil (DPPH). Sebanyak 1 mL larutan DPPH 1.0 mmol/L dalam methanol ditambahkan dengan 1 mL larutan standar (asam askorbat) atau larutan ekstrak buah dengan konsentrasi berbeda (10-500 µg/mL). Campuran larutan diinkubasi dalam kamar gelap pada suhu 37°C selama 20 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat sebagai kontrol positif sedangkan larutan DPPH sebagai blanko. Persentase aktivitas pengikatan radikal bebas (kemampuan antioksidan) diukur menggunakan rumus:

$$\% \text{ pengikatan radikal bebas} = (\text{abs.kontrol} - \text{abs.sampel}) / \text{abs.kontrol} \times 100\%$$

Konsentrasi sampel ekstrak buah yang dapat menetralkan 50% DPPH (IC50) diperoleh dengan menggunakan kurva persentase pengikatan DPPH pada berbagai konsentrasi ekstrak. (Alhakmani et al., 2013; Kedare and Singh, 2011)

Analisis Data

Data absorbansi Total Fenol dan absorbansi kapasitas antioksidan yang diperoleh dianalisis secara statistik inferensial menggunakan Anova satu Jalur (RAL). Data Total Fenol dan Kapasitas Antioksidan yang diperoleh dianalisis secara -diskriptif kualitatif .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Total Fenol

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan cara metode spektrofotometri menggunakan pereaksi FolinCiocalteu. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru akibat reaksi antara senyawa fenolik dengan Folin-Ciocalteu yang dapat diukur pada panjang gelombang 775 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat- fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi folin ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum- tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsistensi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang dapat mereduksi heteropoli (fosfomolibdat- fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Suasana basa ini dibentuk dengan menambahkan Na₂CO₃ 20%.

Senyawa fenol yang digunakan sebagai pembanding adalah asam galat. Pemilihan asam galat didasarkan atas ketersediaan substansi yang stabil dan murni.

Dari pengukuran kurva standar diperoleh persamaan garis regresi $y = 0,0002x + 0,002$ dengan nilai $r^2 = 0,9911$. Hasil pengukuran absorbansi dan penghitungan Total Fenol buah-buahan sebelum dan sesudah pencampuran terdapat pada Tabel 1.

Data pada Tabel 1. Menunjukkan bahwa kandungan total fenol buah-buahan sebelum dicampur berkisar 40-71,5 mg GAE/g, setelah dicampur kandungan total fenol menjadi 73,5 mg GAE/g. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah dalam bentuk jus buah tidak menurunkan kandungan total fenol buah bahkan cenderung menaikkan kandungan total fenol.

Tabel 1. Nilai Absorbansi dan Total Fenol buah-buahan sebelum dan sesudah pencampuran

No	Kode Sampel (Ulangan)	Nilai Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Nilai Total Fenol (mg GAE/g).
1.	AP1	0,009	0,0103	41,5
2.	AP2	0,016		
3.	AP3	0,006		
4.	PI1	0,009	0,0123	51,5
5.	PI2	0,009		
6.	PI3	0,019		

7.	JE1	0,011	0,0157	68,5
8.	JE2	0,021		
9.	JE3	0,015		
10.	AG1	0,024	0,0163	71,5
11.	AG2	0,005		
12.	AG3	0,020		
13.	TO1	0,006	0,0100	40
14.	TO2	0,017		
15.	TO3	0,008		
16.	MX1	0,017	0,0167	73,5
17.	MX2	0,027		
18.	MX3	0,006		

Keterangan: AP: Apel; PI: Pir; JE: Jeruk; AG: Anggur; TO: Tomat; MX: Campuran Buah. 1,2,3 : Ulangan

Dari analisis of variance (ANOVA) kandungan Total Fenol buah tunggal maupun buah campuran diperoleh sig. > 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah tidak merubah kandungan Total Fenol (Tabel 2)

Tabel 2 : Analisis varians (Anova) kandungan Total Fenol buah sebelum dan sesudah pencampuran

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.481	.784
Within Groups	.001	12	.000		
Total	.001	17			

Kapasitas Antioksidan

Dari percobaan diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Kapasitas Antioksidan adalah hasil penghitungan Absorbansi Kontrol dikurangi Absorbansi Sampel dibagi Absorbansi Kontrol dikali 100%. Metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji DPPH. Hasil pengukuran kapasitas antioksidan terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Absorbansi dan Kapasitas Antioksidan buah-buahan sebelum dan sesudah pencampuran

No	Kode Sampel (Ulangan)	Nilai Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kapasitas antioksidan
1.	AP1	0,252	0,818	0,2727
2.	AP2	0,288		
3.	AP3	0,278		
4.	PI1	0,299	0,859	0,2863
5.	PI2	0,284		
6.	PI3	0,276		
7.	JE1	0,287	0,861	0,2870
8.	JE2	0,286		

9.	JE3	0,288		
10.	AG1	0,290	0,893	0,2977
11.	AG2	0,305		
12.	AG3	0,298		
13.	TO1	0,276	0,830	0,2767
14.	TO2	0,285		
15.	TO3	0,269		
16.	MX1	0,290	0,967	0,3223
17.	MX2	0,286		
18.	MX3	0,288		

Keterangan: AP: Apel; PI: Pir; JE: Jeruk; AG: Anggur; TO: Tomat; MX: Campuran Buah.
 1,2,3 : Ulangan

Data pada Tabel 3. Menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan buah-buahan sebelum dicampur berkisar 0,2727-0,2977%, setelah dicampur kapasitas antioksidan menjadi 0,3223%. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah dalam bentuk jus buah tidak menurunkan kapasitas antioksidan buah bahkan cenderung menaikkan kapasitas antioksidan. Dari analisis of variance (ANOVA) kapasitas antioksidan buah tunggal maupun buah campuran diperoleh sig. > 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah tidak merubah kapasitas antioksidan (Tabel 4)

Tabel 4: Analisis varians (Anova) kapasitas antioksidan buah sebelum dan sesudah pencampuran

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	5	.000	2.349	.105
Within Groups	.001	12	.000		
Total	.002	17			

Derajat Keasaman (pH)

3	Kode Sampel (Ulangan)	Derajat Keasaman (pH)	Rata-rata pH
1.	AP1	4,47	4,05
2.	AP2	3,68	
3.	AP3	4,00	
4.	PI1	4,88	4,44
5.	PI2	3,95	
6.	PI3	4,50	
7.	JE1	3,03	4,09
8.	JE2	4,87	
9.	JE3	4,36	
10.	AG1	3,66	3,76
11.	AG2	3,78	
12.	AG3	3,83	
13.	TO1	4,69	4,42
14.	TO2	4,56	
15.	TO3	4,01	
16.	MX1	4,08	4,14

17.	MX2	4,08	
18.	MX3	4,26	

Buah-buahan mempunyai rasa asam yang sangat bervariasi, dari yang sangat asam (Derajat keasamannya rendah) hingga sangat manis. Derajat keasaman buah sebelum dan sesudah dicampur terdapat pada Tabel 5.

Tabel 5. Derajat Keasaman (pH) buah-buahan sebelum dan sesudah pencampuran

Keterangan: AP: Apel; PI: Pir; JE: Jeruk; AG: Anggur; TO: Tomat; MX: Campuran Buah. 1,2,3 : Ulangan

Data pada Tabel 5. Menunjukkan bahwa derajat keasaman buah-buahan sebelum dicampur berkisar 3,76 untuk buah anggur sampai 4,44 untuk buah pir. Keseluruhan buah nampaknya mempunyai derajat keasaman yang rendah (pH asam). Setelah dicampur derajat keasaman menjadi 4,14. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah dalam bentuk jus buah dapat menaikkan pH buah yang rendah (3,76) dan menurunkan pH buah yang tinggi (4,44) menjadi pH 4,14 menuju keseimbangan. Dari analisis of variance (ANOVA) derajat keasaman buah tunggal maupun buah campuran diperoleh sig. > 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran buah tidak merubah derajat keasaman (Tabel 6)

Tabel 6: Analisis varians (Anova) derajat keasaman buah sebelum dan sesudah pencampuran

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.983	5	.197	.826	.555
Within Groups	2.855	12	.238		
Total	3.839	17			

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa, Pencampuran buah tidak merubah Kandungan Total Fenol buah dan tidak merubah kapasitas antioksidan buah. Derajat Keasaman buah dalam bentuk campuran buah merupakan keseimbangan dari seluruh derajat keasaman buah yang dicampur. Pencampuran buah tidak merubah derajat keasaman buah

DAFTAR PUSTAKA

- Alhakmani, F., Kumar, S. and Khan, S.A. 2013. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(8): 623-627.
- Andreyev, A.Y., Kushnareva, Y.E. and Starkov, A.A. 2005. Mitochondrial metabolism of Reactive oxygen species, *Biochem.* 70 (2): 200-2004.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996 The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Anal Biochem.*;239:70–6. 10.1006/abio.1996.0292
- Chang, Y., Lee, T.S. and Chiang, A.N. 2012. Quercetin enhances ABCA1 expression and cholesterol efflux through a p38-dependent pathway in macrophages. *J Lipid Res.* 53(9): 1840–1850.

- Chen, J.H., Wang, C.J., Wang, C.P., Sheu, J.Y., Lin, C.L. and Lin, H.H. 2013. Hibiscus sabdariffa leaf polyphenolic extract inhibits LDL oxidation and foam cell formation involving up-regulation of LXRA/ABCA1 pathway. *Food Chem.* Vol. 141: 397–406.
- De Pascual-Teresa, S., Moreno D.A., and Garcia-Viguerra, C. 2011. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int J Mol Sci.* 11: 1679-1703 ; doi: 10.3390/ijms 11041679.
- Farràs, M., Valls, R.M., Fernández-Castillejo, S., Giralt, M., Solà, R., Subirana, I. et al. 2013. Olive oil polyphenols enhance the expression of cholesterol efflux related genes in vivo in humans. A randomized controlled trial. *J Nutr Biochem.* 24(7):1334-9.
- González-Molina E, Gironés-Vilaplana A, Mena P, Moreno DA, García-Viguera C. New beverages of lemon juice with elderberry and grape concentrates as a source of bioactive compounds. *J Food Sci.* 2012;77:C727–33. 10.1111/j.1750-3841.2012.02715.x
- Goué'dard, C., Barouki, R. and Morel, Y. 2004. Dietary Polyphenols Increase Paraoxonase 1 Gene Expression by an Aryl Hydrocarbon Receptor-Dependent Mechanism. *Molecular and Cellular Biology.* 24 (12): 5209–5222.
- Guerrero JC, Ciampi LP, Castilla AC, Medel FS, Schalchli HS, Hormazabal EU, et al. 2010. Antioxidant capacity, anthocyanins, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile. *Chil J Agric Res.*;70:537–44. 10.4067/S0718-58392010000400002
- Hollman, P.C.H., Cassidy, A., Comte, B., Heinonen, M., Richelle, M., Richling, E. et al. 2011. The Biological Relevance of Direct Antioxidant Effects of Polyphenols for Cardiovascular Health in Humans Is Not Established. *J Nutr.* March 30: 989s-1009s.
- Kedare, S.G. and Singh, R.P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol.* 48 (44):412 - 422.
- Khateeb, J., Gantman, A., Kreitenberg, A.J. Aviram, M. and Fuhrman, B. 2010. Paraoxonase 1 (PON1) expression in hepatocytes is upregulated by pomegranate polyphenols: A role for PPAR- γ pathway. *Atherosclerosis.* 208: 119–125.
- Lattanzio, V. 2013. Phenolic compounds : Introduction in Ramawat, K.G. and Me'rillon, J.M. (eds) *Natural Products.* Berlin Heidelberg: Springer Verlag.1544-1573.
- Martini D., Del Bo', C., Porrini, M., Ciappellano, S., and Riso, P. 2017. Role of polyphenols and polyphenol-rich foods in the modulation of PON1 activity and expression (Review). *J Nutr Biochem.* 48: 1– 8.
- Serrano J, Goñi I, Saura-Calixto F. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Res Int.* 2006;40:15–21. 10.1016/j.foodres.2006.07.010
- Shahidi F, Naczki M. 2004 *Phenolics in food and nutraceuticals.* Boca Raton, FL, USA: CRC Press;p p. 132–210.
- Wang, L., Wesemann, S., Krenn, L., Ladurner, A., Heiss, E.H., Dirsch, V.M. and Atanasov, A.G., 2017. Erythrodiol, an Olive Oil Constituent, Increases the Half-Life of ABCA1 and Enhances Cholesterol Efflux from THP-1-Derived Macrophages. *Frontiers in Pharmacology.* 8:375.
- Zhu, Y., Huang, X., Zhang, Y., Wang, Y., Liu, Y., Sun, R. et al. 2014. Anthocyanin Supplementation Improves HDL Associated Paraoxonase 1 Activity and Enhances Cholesterol Efflux Capacity in Subjects With Hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 99(2):561– 569.