



PEMANFAATAN KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN EKSOGENUS TERHADAP VIABILITAS *Saccharomyces cerevisiae*

SKRIPSI

Oleh

**Putri Yulia Pramesti
NIM. 121810401079**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



PEMANFAATAN KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN EKSOGENUS TERHADAP VIABILITAS *Saccharomyces cerevisiae*

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Putri Yulia Pramesti
NIM. 121810401079

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua saya, Ayahanda Sutarjo dan Ibunda Sulami, atas segala dukungan, doa, nasihat, motivasi serta kesabarannya;
2. kedua saudara saya Anin Dwi Susianti dan Dody Suhandoko Junaedi atas segala dukungan dan semangatnya;
3. semua guru-guruku terima kasih telah mendidik dan mengajarkan ilmu dengan penuh kesabaran dan kasih sayang baik secara formal maupun nonformal;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.”

(Surah Al-Insyirah (94): 5-8)*)

“Jika anda mendidik seorang pria, maka seorang pria akan terdidik. Tapi jika Anda mendidik seorang wanita, sebuah generasi akan terdidik.”

(Brigham Young)**)

“Jika ada kata-kata yang menyakitimu, menunduklah dan biarkan ia melewatimu jangan dimasukkan hati agar tak lelah hatimu.”

(Ali bin Abi Thalib)***)

*⁾ Departemen Agama Republik Indonesia, Lajnah Pentashih Mushaf Alquran. 2004. *Al-Qur'an dan terjemahannya dalam Bahasa Indonesia*. Bandung: Penerbit Jumanatul Ali-Ar

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Putri Yulia Pramesti

NIM : 121810401079

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "*Pemanfaatan Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Sebagai Sumber Antioksidan Eksogenus Terhadap Viabilitas Saccharomyces cerevisiae*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 8 Mei 2017

Yang Menyatakan,

Putri Yulia Pramesti

NIM 121810401079

SKRIPSI

**PEMANFAATAN KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)
SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN EKSOGENUS TERHADAP
VIABILITAS *Saccharomyces cerevisiae***

Oleh

**Putri Yulia Pramesti
NIM 121810401079**

Pembimbing

**Dosen Pembimbing Utama : Drs. Siswanto, M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pemanfaatan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagai Sumber Antioksidan Eksogenus Terhadap Viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji,

Ketua,

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP. 196012161993021001

Anggota II,

Prof.Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.AgrSc.
NIP. 195510221982121000

Anggota I,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP. 19600816119890210001

Anggota III,

Dra. Mahriani, M.Si.
NIP. 195703151987022001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP. 19610204199871110001

RINGKASAN

Pemanfaatan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai Sumber Antioksidan Eksogenus Terhadap Viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*; Putri Yulia Pramesti, 121810401079; 2017; 37 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kulit buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan sumber antioksidan eksogenus alami yang dapat digunakan dalam menyeimbangkan antioksidan endogenus sel dalam menangkal radikal bebas yang berasal dari dalam (endogenus) maupun dari luar (eksogenus). Hal tersebut dikarenakan dalam kulit buah Naga Merah mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti polifenol, flavonoid, dan zat warna betasianin. Senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat pembentukan radikal bebas dalam sel yang dapat menyebabkan stres oksidatif dalam sel. Peningkatan jumlah radikal bebas dalam sel dapat menyebabkan penyakit degeneratif, salah satu cara yang digunakan untuk mengatasi stres oksidatif yaitu dengan mengonsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan sebagai antioksidan eksogenus alami. Untuk mengetahui manfaat kulit buah Naga Merah sebagai antioksidan eksogenus alami diperlukan uji antioksidan pada sel sebagai objek penelitian yaitu *Saccharomyces cerevisiae* yang merupakan organisme eukariotik, sehingga hasil dari uji tersebut dapat diaplikasikan pada sel eukariotik pada tingkat hewan.

Penelitian dilakukan dengan melakukan pengeringan pada kulit buah Naga Merah kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kulit buah Naga Merah. Serbuk tersebut kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 80% dengan perbandingan 1:3 selama 48 jam. Hasil maserasi tersebut kemudian diambil supernatannya untuk diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak cair kulit buah Naga Merah. Selanjutnya ekstrak cair tersebut diuapkan menggunakan *waterbath* untuk memperoleh ekstrak antioksidan kulit buah Naga Merah yang berupa pasta. Ekstrak antioksidan tersebut kemudian disimpan pada suhu 4°C pada kondisi gelap untuk dilakukan uji aktivitas antioksidan DPPH, kandungan polifenol dan betasianin.

Tahap selanjutnya yaitu pembuatan kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* sebagai model penelitian untuk mengetahui fase eksponensialnya. Pada fase tersebut *S. cerevisiae* dipanen dan dipindah pada media baru *Yeast Ekstrak Peptone Glucose* (YPG) cair dengan penambahan ekstrak kulit buah Naga Merah pada dosis 0; 0,78 ; 1,56; dan 3,12 mg/ml selanjutnya diinkubasi selama 2 jam. Selanjutnya sel dicuci 2 kali menggunakan buffer dan diberi perlakuan stres oksidatif H_2O_2 20 mM diinkubasi 1 jam. Kemudian sel dari masing-masing perlakuan ditumbuhkan dengan metode *drop plate* sebanyak 5 μ l pada media YPG Agar selama 24 jam untuk dihitung viabilitas selnya. Viabilitas sel yang hidup menunjukkan kerentanannya terhadap pengaruh stres oksidatif dari H_2O_2 .

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah Naga Merah dengan DPPH mampu menangkal radikal bebas DPPH sebesar 95%. Selanjutnya untuk uji kandungan polifenol pada ekstrak antioksidan kulit buah Naga merah sebesar 18,04 mg/g, sedangkan untuk betasianin sebesar 0,089 mg/g. Kedua senyawa tersebut merupakan komponen kulit buah Naga Merah yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat. Uji antioksidan pada sel *S. cerevisiae* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak antioksidan kulit buah Naga Merah pada dosis 3,12 mg/ml mampu meningkatkan viabilitas sel secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif yang merupakan sel yang hidup dengan normal dan kontrol positif yang merupakan sel dengan perlakuan stres tanpa penambahan ekstrak antioksidan kulit buah Naga Merah. Pemberian dosis ekstrak antioksidan pada sel terhadap perlakuan stres H_2O_2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata namun cenderung terjadi peningkatan viabilitas sel seiring dengan peningkatan dosis ekstrak antioksidan yang diberikan.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Swt. atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Efek Antioksidan Eksogenous Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Drs. Siswanto, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan nasihat dalam memberikan bimbingan;
2. Prof.Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.AgrSc. dan Dra. Mahriani, M.Si. selaku Dosen Penguji I dan II yang banyak memberikan saran dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
3. Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang banyak membantu selama penelitian;
5. kedua orang tua, saudara, dan keluarga besar yang selalu memberikan motivasi, doa, dan kepercayaan kepada penulis selama menuntut ilmu;
6. bunda Esti Utarti yang selalu memberikan semangat dan nasihat dalam menjalani hidup hingga terselesaikannya skripsi ini;
7. teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi Reza, Kharisna, Enik, Rekanda, Qurrotul, Vivta, Ifa, Nenny, Ella, Nurul, Maredjawi, Lisa, Susy, dan Amin atas ketersediannya dalam membantu, kebersamaan, dan dukungan selama ini;
8. teman sekaligus sahabat Nur Hayati, Dwi Erlinda, dan Whenny Purwati yang selalu setia memberikan canda tawa serta dukungannya;

9. adek-adekku Ilmi, Ecy, Erlin, Hilda yang paling siap saat dibutuhkan, canda tawa dan kebersamaannya serta terimakasih sudah menjadi keluarga ke-2 selama di Jember;
10. seluruh penghuni kontrakan “Limited solehah” Ira, Arunda, Dini, Dina, Cicin yang selalu ada untuk menjadi teman penghilang rasa stres dan jenuh selama penyusunan skripsi ini;
11. semua teman-teman BIOZVA 2012 atas kebersamaan dan dukungannya selama menimba ilmu di Biologi FMIPA Universitas Jember;
12. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu;

Penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan penulisan serta menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 8 Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
1.5. Hipotesis.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Enzim Antioksidan <i>Saccharomyces cerevisisae</i>	4
2.2 Klasifikasi Antioksidan.....	5

2.3 Kandungan Gizi Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	7
2.4 Radikal Bebas DPPH (<i>1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl</i>)	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	13
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2. Alat dan Bahan	13
3.3 Rancangan Penelitian.....	13
3.4 Prosedur Penelitian	14
3.4.1 Preparasi Sampel Kulit Buah Naga Merah	14
3.4.2 Ekstraksi Antioksidan Kulit Buah Naga Merah	14
3.4.3 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH.....	15
3.4.4 Uji Polifenol dan Betasianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah.....	15
3.4.5 Pengukuran Kurva Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	16
3.4.6 Uji Antioksidan pada <i>S. cerevisiae</i> dengan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah sebagai Antioksidan Eksogenus.....	17
3.5 Analisa Data.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	18
4.2 Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dengan Metode DPPH.....	18
4.3 Uji Kandungan Polifenol	19
4.4 Uji Kandungan Betasianin	21
4.5 Pola Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	22
4.6 Uji Antioksidan pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan Penambahan Antioksidan Kulit Buah Naga Merah.....	23
BAB 5. PENUTUP	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran	26

DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	32

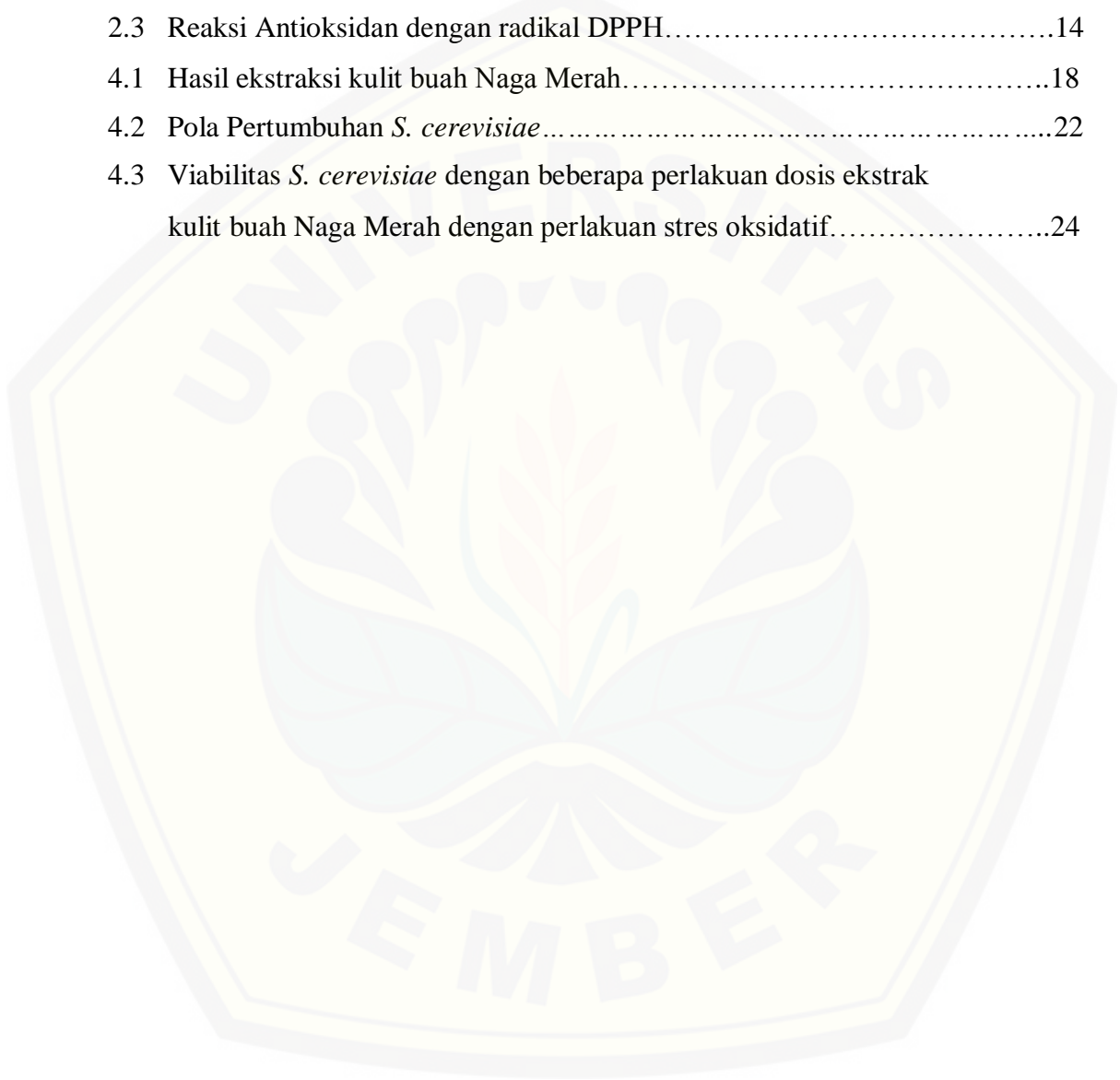


DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan gizi buah Naga Merah.....	8
2.2 Komposisi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dengan Aseton dan Metanol.....	9
2.3 Total kandungan fenolik pada buah (kulit dan daging) dan daging pada <i>H. polyrhizus</i>	9
4.1 Standar Asam Galat Polifenol.....	19
4.2 Kandungan Polifenol dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah.....	20
4.3 Kandungan Betasianin Kulit Buah Naga Merah.....	21
4.4 Hasil Uji Antioksidan Kulit buah Naga Merah terhadap peningkatan viabilitas sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	9
2.2 Senyawa Polifenol.....	12
2.3 Reaksi Antioksidan dengan radikal DPPH.....	14
4.1 Hasil ekstraksi kulit buah Naga Merah.....	18
4.2 Pola Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	22
4.3 Viabilitas <i>S. cerevisiae</i> dengan beberapa perlakuan dosis ekstrak kulit buah Naga Merah dengan perlakuan stres oksidatif.....	24



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media Pertumbuhan.....	32
B. Rendemen Ekstrak Kulit Buah Naga Merah.....	33
C. Perhitungan Nilai Inhibisi DPPH.....	33
D. Hasil Uji Polifenol.....	33
E. Hasil Uji Betasianin.....	34
F. Hasil Perhitungan Jumlah Sel <i>S. cerevisiae</i> pada Kurva Pertumbuhan.....	34
G. Hasil viabilitas sel <i>S. cerevisiae</i> pada uji pertumbuhan dengan penambahan antioksidan.....	35
H. Hasil Uji Statistik Anova Satu Arah dilanjutkan Uji Duncan Taraf 5% (Software SPSS 15).....	35
I. Hasil Gambar Penelitian	37

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Buah Naga Merah (*Hylocerus polyrhizus*) merupakan tanaman tropis anggota *Cactaceae* yang memiliki kandungan gizi cukup tinggi seperti mineral, protein, lemak, serat dan beberapa vitamin seperti B1, B2, dan C (Gemilang, 2012). Selain pada daging buahnya, kandungan tersebut juga terdapat pada kulit buahnya yang memiliki berat 30-35% dari berat buahnya yang selama ini hanya dianggap sebagai sampah. Padahal menurut penelitian Wu *et al.*, (2006), kulit buah Naga Merah kaya akan senyawa polifenol, flavonoid, dan pigmen warna betasianin, senyawa tersebut diketahui memberikan keuntungan pada kesehatan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan alami (Putri *et al.*, 2015). Selain sebagai antioksidan, kulit buah Naga Merah juga sebagai antibakteri dan dapat menurunkan kadar kolestrol (Faridah *et al.*, 2015). Antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi terjadinya stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel (Winarsi, 2007).

Stres oksidatif disebabkan karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan antioksidan (Winarsi, 2007). Antioksidan akan mendonorkan elektronnya pada elektron radikal bebas yang tidak berpasangan, sehingga membentuk senyawa yang stabil. Antioksidan dibagi menjadi 2 jenis yaitu enzimatis (endogenus) dan non-enzimatis (eksogenus). Antioksidan enzimatis meliputi enzim SOD (*Super Oxide Dismutase*), katalase, dan glycitein peroksida, sedangkan antioksidan non-enzimatis meliputi flavonoid, fenol, alkanoid, terpenoid, karoten (Jaafar *et al.*, 2009) dan zat warna berupa antosianin, betasianin serta beberapa vitamin A, C, dan E.

Antioksidan berperan dalam mekanisme pertahanan akibat radikal bebas yang menyebabkan kerusakan dalam sel, membran, dan ekstra sel. Radikal bebas yang jumlahnya berlebihan dalam sel memerlukan antioksidan eksogenus sebagai penyeimbang antioksidan endogenus terhadap radikal bebas (Werdhasari, 2014). Menurut Untari *et al.*, (2014), ekstrak kulit buah Naga Merah dengan dosis

10mg/200gBB dan 40mg/200gBB mampu meningkatkan aktivitas enzim katalase pada tikus yang mengalami stres oksidatif, enzim tersebut berfungsi untuk mengkatalis senyawa ROS H_2O_2 menjadi H_2O sehingga senyawa tersebut tidak membentuk senyawa radikal bebas.

Oleh sebab itu, diperlukan uji antioksidan eksogenus kulit buah Naga Merah pada sel yaitu *Saccharomyces cerevisiae* yang termasuk organisme eukariotik uniseluler sebagai model penelitian dengan penambahan H_2O_2 sebagai perlakuan stres oksidatif. Hal tersebut dikarenakan *S. cerevisiae* memiliki enzim antioksidan SOD yang berperan dalam pertahanan diri dari hasil respirasi mitokondria yang bersifat toksik dan kerusakan sel pada fase stasioner (Longo *et al.*, 1996). Sedangkan penambahan antioksidan eksogenus meningkatkan sensitivitas pertumbuhan sel muda yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel (viabilitas) dan menghambat kerusakan sel (Bayliak *et al.*, 2014). Uji tersebut diharapkan dapat mengetahui aktivitas antioksidan pada kulit buah Naga Merah sebagai antioksidan alami terhadap peningkatan viabilitas sel *S. cerevisiae* terhadap kondisi stres oksidatif.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit buah Naga Merah mengandung antioksidan yang dapat meningkatkan viabilitas sel *S. cerevisiae*, sehingga dapat menjadi sumber antioksidan eksogenus alami bagi sel eukariotik ?

1.3 Batasan Masalah

Ekstraksi kulit buah Naga Merah menggunakan pelarut etanol yang merupakan pelarut semipolar sehingga dapat mengikat senyawa polar yang terdapat pada *crude* ekstrak dan uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dilakukan pada fase eksponensial. Pengukuran pengaruh antioksidan pada ekstrak kulit buah Naga Merah menggunakan jumlah viabilitas sel *S. cerevisiae*.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah Naga Merah dengan pelarut etanol sebagai antioksidan eksogenus terhadap viabilitas sel *S. cerevisiae*.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan tambahan informasi mengenai sumber-sumber antioksidan eksogenus alami dalam peranannya terhadap sel eukariotik serta meningkatkan daya guna dari kulit buah Naga Merah.

1.5. Hipotesis

Penambahan ekstrak antioksidan kulit buah Naga Merah dengan pelarut etanol memiliki pengaruh terhadap peningkatan viabilitas sel pada pertumbuhan *S. cerevisiae* pada kondisi stres oksidatif.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim Antioksidan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces merupakan kelompok khamir sejati yang termasuk dalam kelas Ascomycetes dan bereproduksi secara vegetatif dengan pembentukan tunas dan askospora. *S. cerevisiae* memiliki sifat metabolisme fermentatif yang sangat kuat, selain itu organisme tersebut dapat melakukan respirasi oksidatif karena adanya oksigen, sehingga mampu tumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob. Adapun klasifikasi *S. cerevisiae* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomyta
Kelas	: Ascomycetes
Ordo	: Endomycetes
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Fardiaz, 1992).

S. cerevisiae dapat digunakan sebagai model penelitian dalam hal penuaan sel (*aging*) akibat stres oksidatif pada uji antioksidan, hal tersebut dapat diketahui karena pertumbuhan umur selnya yang pendek (Bayliak *et al.*, 2014). Menurut Longo *et al.*, (1996) aktivitas enzim antioksidan *S. cerevisiae* dalam kondisi stres oksidatif dapat diketahui pada fase stasionernya.

Pada umumnya dalam sel eukariotik, *S. cerevisiae* memiliki antioksidan endogenus seperti katalase, glutathion peroksidase, dan SOD. SOD merupakan enzim yang mampu menghasilkan CuZnSOD yang terdapat di sitosol dan MnSOD di mitokondria. Enzim tersebut dapat digunakan untuk mengkatalisis O_2 dengan cara menstabilkan reaksi pembentukan radikal menjadi H_2O dan O_2 (Longo *et al.*, 1996).

Menurut Lushchak (2006), sel *S. cerevisiae* berada pada keadaan stres yang dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti oksidatif, panas, serta tekanan osmotik, hal tersebut terjadi pada fase stasioner sehingga peran antioksidan sangat

diperlukan pada fase tersebut. Stres oksidatif tersebut dapat berupa penambahan H_2O_2 pada sel yang dapat menurunkan aktivitas SOD dan katalase. (Bayliak *et al.*, 2014). Lindsay *et al.*, (1992) juga menyatakan bahwa pada fase stasioner sel lebih resisten terhadap keadaan stres dan efek kematian pada sel akibat penambahan peroksida dimulai pada fase tersebut. Selain efek peroksida, menurut Longo *et al.*, (1996) kematian sel pada fase stasioner disebabkan oleh tingginya aktivitas SOD yang ionnya dapat merusak sel. Tingginya aktivitas SOD tersebut disebabkan oleh H_2O_2 yang diserap oleh sel, menurut Bienert *et al.*, (2006) penyerapan H_2O_2 paling tinggi terjadi pada fase eksponensial sedangkan pada fase stasioner penyerapan H_2O_2 rendah namun memiliki aktivitas enzim antioksidan yang tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian Setiawan (2016), viabilitas sel *S. cerevisiae* pada sel yang diberi paparan H_2O_2 menunjukkan penurunan namun tidak signifikan dibandingkan dengan sel normal. Penurunan viabilitas sel tersebut dapat disebabkan adanya akumulasi senyawa reaktif yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Namun, dengan pemberian ekstrak antioksidan eksogenus, viabilitas sel *S. cerevisiae* cenderung mengalami kenaikan. Secara alami sel mampu menghasilkan senyawa reaktif dari perubahan molekul oksigen pada mitokondria sebanyak 4-5%. Kerusakan sel akibat senyawa reaktif oksigen dapat diimbangi dengan adanya antioksidan (Raschke *et al.*, 2006).

2.2 Klasifikasi Antioksidan

Menurut Winarsi (2007), antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan dengan berat molekul kecil namun mampu menghambat proses reaksi oksidasi yang terjadi di dalam sel. Antioksidan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Radikal bebas tersebut dapat terbentuk karena adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam sel, sehingga senyawa radikal tersebut akan mengikat elektron dari senyawa lain. Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak memiliki pasangan elektron, sehingga berkesempatan untuk mengikat elektron dari senyawa lain, akibatnya senyawa lain tersebut akan kehilangan pasangan elektron dan akan membentuk

senyawa radikal baru dalam sel. Oleh sebab itu diperlukan senyawa antioksidan sebagai penyeimbang senyawa radikal bebas pada reaksi oksidasi.

Secara alami, sel mampu menghasilkan antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang memapar tubuh. Antioksidan tersebut dibedakan menjadi antioksidan endogenus dan antioksidan eksogenus. Antioksidan endogenus merupakan antioksidan primer yang bersifat enzimatis meliputi SOD, katalase, dan glutathion peroksidase. Adapun antioksidan eksogenus merupakan antioksidan sekunder yang bersifat non-enzimatis meliputi fenol, flavonoid, karotenoid, dan tanin serta beberapa vitamin A, C, dan E (Lingga, 2012). Menurut Winarsi (2007), antioksidan yang bersifat non-enzimatis dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan larut lemak seperti fenol, flavonoid, tokoferol, karotenoid, quinon, dan bilirubin serta antioksidan larut air seperti asam askorbat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

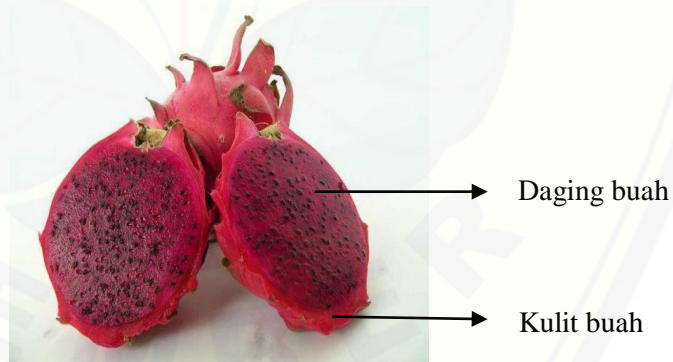
Mekanisme kerja dari antioksidan yaitu melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif akibat pembentukan radikal bebas yang secara umum melalui tiga tahapan yaitu, inisiasi, propagasi dan terminasi. Antioksidan primer atau endogenus bertugas menangkap radikal bebas untuk bertujuan menghambat rantai inisiasi dan memecah rantai propagasi dengan menambahkan elektron sehingga menjadikan produk yang lebih stabil. Sedangkan antioksidan sekunder atau eksogenus menghambat pembentukan senyawa oksigen reaktif dengan pengkelatan metal atau dengan cara memotong reaksi oksidasi yang berantai (Winarsi, 2007).

Berdasarkan penelitian Setiawan (2016), bahwa paparan ekstrak antioksidan yang mengandung isoflavon genistein yang merupakan golongan dari flavonoid memiliki kecenderungan dalam meningkatkan viabilitas sel pada *S. cerevisiae*. Kecenderungan kenaikan tersebut disebabkan karena isoflavon genistein mampu meningkatkan regulasi gen penyandi enzim glutathion peroksidase sehingga dapat meningkatkan terbentuknya enzim *glutathion peroxide*. Enzim tersebut berperan dalam merombak H_2O_2 , sehingga kemampuan merombak H_2O_2 lebih tinggi sehingga kualitas hidup sel dapat meningkat (Suzuki *et al.*, 2002).

2.3 Kandungan Gizi Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan tanaman tropis yang mampu tumbuh pada daerah dengan dataran rendah. Jenis buah ini hampir sama dengan jenis buah naga super merah, namun hal tersebut dapat dibedakan dari ciri-ciri daging buahnya. Buah naga merah memiliki ciri-ciri kulit buah berwarna merah dengan daging buah berwarna merah, sedangkan buah naga super merah memiliki kulit buah berwarna merah dengan daging buah berwarna merah hingga keunguan karena warna merahnya yang sangat pekat (Handayani, 2014). Pada tingkat taksonomi, buah Naga Merah termasuk dalam kelompok Cactaceae. Adapun klasifikasi buah tersebut adalah :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledon
Ordo	: Cactales
Family	: Cactaceae
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Spesies	: <i>Hylocereus polyrhizus</i> (Saneto, 2001).



Gambar 2.1 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Daging buah Naga Merah mengandung protein, karbohidrat, lipid, kalsium, fosfor, zat besi, dan vitamin. Kandungan tersebut berperan dalam menjaga metabolisme tubuh dan menjaga kesehatan jantung, selain itu daging buah Naga Merah mengandung serat yang sangat baik mencapai 0,7-0,9 gram per 100 gram. Tingginya kandungan serat yang terdapat dalam daging buah Naga

Merah dapat menurunkan tingkat kolestrol, hal tersebut dikarenakan asam empedu yang terdapat dalam saluran pencernaan akan diikat oleh serat. Adapun kandungan gizi buah naga dapat dilihat pada Tabel 2.1 :

Tabel 2.1 Kandungan gizi buah Naga Merah per 100 gram

Komponen	Kadar
Air (g)	82,5 – 83,0
Protein (g)	0,16 – 0,23
Lemak (g)	0,21 – 0,61
Serat/dietary fiber (g)	0,7 – 0,9
Betakaroten (mg)	0,005 – 0,0120
Kalsium (mg)	6,3 – 8,8
Fosfor (mg)	30,2 – 36,1
Besi (mg)	0,55 – 0,65
Vitamin B1 (mg)	0,28 – 0,30
Vitamin B2 (mg)	0,043 – 0,045
Vitamin C (mg)	8 – 9
Niasin (mg)	1,297 – 1,300

Sumber : (Gemilang, 2012).

2.3.1 Senyawa Antioksidan Kulit Buah Naga Merah

Kandungan gizi pada buah Naga Merah tidak hanya terdapat dalam daging buahnya, melainkan juga terdapat pada kulit buahnya. Kulit buah Naga Merah memiliki berat 30 – 35% dari daging buahnya, namun kandungan yang terdapat dalam kulit buahnya sebanding dengan daging buahnya yaitu senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut meliputi senyawa flavonoid, fenolik, dan betasianin selain itu juga terkandung protein 3,2%, lemak 0,7% dan air 4,9% (Saneto, 2001).

Menurut penelitian Saneto (2001), senyawa antioksidan pada kulit buah Naga Merah, memiliki komposisi fenolik, betasianin, serta flavonoid. Berdasarkan komposisi tersebut kandungan senyawa fenol lebih tinggi dibanding flavonoid dan betasianin berdasarkan larutan ekstrak yang digunakan yaitu aseton dan methanol. Adapun komposisi tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dengan Aseton dan Metanol

Sampel dengan pelarut	Betasianin (mg/100g)	Antioksidan (% inhibisi)	Fenol (GAE/100g)	Flavonoid (katechin/100g)
Aseton	5.7 ± 0.3	13.8 ± 1.3	22.7 ± 1.3	9.1 ± 0.2
Metanol	6.8 ± 0.3	10.2 ± 0.2	19.8 ± 1.2	9.0 ± 1.4

Sumber : (Saneto, 2001).

Kandungan tersebut merupakan hasil dari 100 gr ekstrak dengan kandungan betasianin, daya hambat antioksidan, fenol total equivalent dengan asam galat (GAE) sebagai acuan umum senyawa fenol total, dan katechin sebagai acuan untuk flavonoid total. Kandungan fenol pada kulit buah Naga Merah juga terdapat pada daging buahnya. Menurut penelitian Choo *et al.*, (2011), perbandingan aktivitas antioksidan serta kandungan senyawa fenolik antara daging buah dan kulit buah Naga Merah dengan menggunakan pelarut yang sama dengan penelitian yang dilakukan Saneto (2001), yaitu dengan menggunakan pelarut metanol. Perbandingan tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.3.

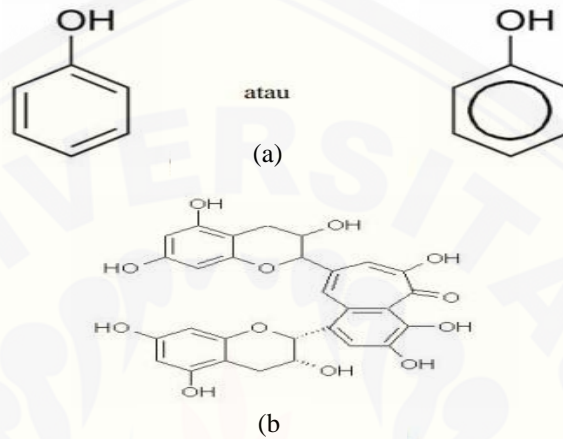
Tabel 2.3 Total kandungan fenolik pada buah (kulit dan daging) dan daging pada *H. polyrhizu*

Buah Naga	Bagian Buah	Kandungan total fenolik (mg asam galat/100g)
<i>H. polyrhizus</i>	Buah (kulit dan daging)	15.92 ± 1.28
	Daging	24.22 ± 0.95

Sumber : (Choo *et al.*, 2011).

Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder bersifat antioksidan yang dihasilkan oleh tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki anggota berdasarkan jumlah atom karbon yang dimilikinya, seperti turunan dari flavonoid, betasianin, dan antosianin. Menurut Pujimulyani *et al.*, (2010) senyawa fenolik memiliki korelasi dengan antioksidan karena sifat antioksidasi dari senyawa fenolik sangat kuat. Senyawa fenolik yang memiliki korelasi kuat dengan antioksidan yaitu senyawa asam fenolik dan polifenol. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Luo *et al.*, (2014), bahwa senyawa fenolik yang tinggi memiliki aktivitas penangkapan radikal yang tinggi pula, sedangkan menurut Choo *et al.*, (2011), bahwa antioksidan yang terkandung dalam kulit buah Naga Merah karena adanya

polifenol. Senyawa polifenol dalam ekstrak kulit buah Naga Merah memiliki aktivitas antioksidan karena kemampuan senyawa polifenol dalam mendonorkan hidrogen untuk menangkap radikal bebas (Luo *et al.*, 2014). Senyawa polifenol merupakan anggota senyawa fenolik yang memiliki lebih dari satu gugus fenol, senyawa polifenol tersebut dapat berupa flavonoid (Nurliyana *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 (a) Senyawa Fenol, (b) Senyawa Polifenol (SEAFASST Center LPMM IPB, 2012).

Senyawa fenolik yang terkandung pada kulit buah Naga Merah, yang telah disebutkan pada hasil penelitian Saneto (2001), yaitu betasianin, fenolik, dan flavonoid. Selain itu, pada kulit buah Naga Merah terdapat senyawa asam fenolik seperti asam oksalat, asam sitrat, asam malat, asam suksinat, dan asam fumarat (Jamilah *et al.*, 2011).

Senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon, terdiri dari 2 cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linear yang terdiri atas tiga atom karbon yang terbentuk melalui proses oksidasi enzimatis (Manitto, 1981). Flavonoid juga merupakan senyawa nirgizi yang mampu mengatasi radikal bebas dengan kemampuannya sebagai *metal chelator* yaitu kemampuan pengikat logam pada reaksi oksidasi. Kemampuan tersebut diketahui mampu melindungi efektivitas antioksidan vitamin akibat reaksi oksidasi, karena kemampuan flavonoid sebagai antioksidan lebih tinggi dibanding antioksidan vitamin C dan vitamin E (Lingga, 2012).

Menurut Winarsi (2007), flavonoid banyak terdapat pada sayuran dan buah-buahan dan konsentrasi kandungan flavonoid paling tinggi terdapat pada daun dan kulitnya dibanding jaringan dalamnya yaitu daging buahnya, itulah sebabnya flavonoid menjadi antioksidan eksogenus terbaik dibanding antioksidan eksogenus lainnya. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan yaitu menangkalkan radikal bebas seperti peroksida, hidroksil alkosil, dan superoksida dengan cara mengikat senyawa radikal tersebut dengan ion Fe sehingga mereduksi reaktivitasnya. Kemampuan menghambat reaktivitas superoksida tersebut menunjukkan bahwa flavonoid juga mampu meningkatkan kinerja enzim SOD sebagai antioksidan endogenus (Lingga, 2012).

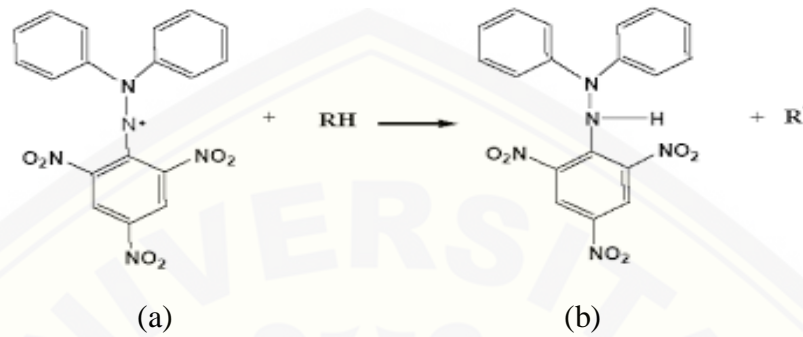
Berdasarkan penelitian Lianiwati (2011), ekstrak kulit buah Naga Merah mampu menurunkan F2 isoprostan pada tikus jantan yang merupakan biomarker peroksidasi lipid akibat stress oksidatif pada dosis 300mg/kgBB, hal tersebut dapat digunakan untuk menanggulangi kerusakan akibat stress oksidatif sebagai anti aging sehingga mampu untuk mencegah dan memperlambat proses penuaan. Selain itu, menurut Untari *et al.*, (2014), ekstrak kulit buah Naga Merah dengan dosis 10 mg/200gBB mampu meningkatkan enzim katalase pada tikus yang mengalami stres oksidatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan antioksidan pada ekstrak kulit buah Naga Merah mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dan mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif.

2.4 Radikal Bebas DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhidrazyl*)

DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhidrazyl*) merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil dan banyak digunakan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak bahan alam. Radikal bebas yang terdapat pada DPPH dapat dinetralkan oleh adanya antioksidan, kedua senyawa tersebut berinteraksi dengan cara transfer elektron ataupun radikal hidrogen sehingga radikal bebas pada DPPH dapat dinetralkan (Bendra, 2012).

Prinsip uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH yaitu adanya transfer elektron dan perubahan warna dari warna ungu gelap menjadi warna kuning, perubahan warna tersebut terjadi karena adanya penyerapan maksimum

pada radikal DPPH saat proses spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm, radikal DPPH tersebut akan berikatan dengan hidrogen dari antioksidan sehingga membentuk molekul DPPH yang bersifat non radikal (Prakash *et al.*, 2011).



Gambar 2.3 Reaksi Antioksidan dengan radikal DPPH. (a) DPPH radikal (ungu), (b) DPPH nonradikal (kuning) (Molyneux, 2004).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), dan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada bulan September sampai Desember 2016.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender, timbangan analitik, autoklaf, *Laminar Air Flow (LAF)*, oven, ayakan 40 mesh, kertas saring, Erlenmeyer, *Beaker glass*, tabung reaksi, lampu bunsen, mikropipet, cawan petri, tip mikro, *microtube*, pengaduk, inkubator, pipet volume, spektrofotometer, *waterbath*, *shaker*, *sentrifuge*, *vortex*, dan *Rotary vacuum evaporator*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat *S. cerevisiae* (koleksi Laboratorium Mikrobiologi), kulit buah Naga Merah (*Hylocerus polyrhizus*), larutan etanol 80%, aquadest, media YPG (ekstrak yeast 1%, pepton 2% dan glukosa 2%) cair dan agar, buffer K-fosfat 50 mM (pH 7), Reagen Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 7,5%, DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dan H_2O_2 .

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan analisis sampel di Laboratorium menggunakan pola RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktor tunggal yang bertujuan untuk membandingkan pengaruh perlakuan pada kelompok uji dan kelompok kontrol. Uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing 5 kali pengulangan.

3.4 Prosedur Penelitian

Adapun prosedur dalam penelitian ini adalah dimulai dengan preparasi sampel kulit buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), ekstraksi antioksidan kulit buah Naga Merah, pengukuran kadar antioksidan menggunakan DPPH, uji polifenol dan betasianin, pengukuran pola pertumbuhan *S. cerevisiae*, dan uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan penambahan antioksidan eksogenus.

3.4.1 Preparasi Sampel Kulit Buah Naga Merah

Kulit buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) seberat 3 kg, dicuci dan dipotong kecil-kecil, lalu dikering anginkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai kering. Selanjutnya, dihaluskan dengan cara diblender dan di ayak dengan ayakan 40 mesh hingga diperoleh serbuk halus yang homogen (Pranata, 2013).

3.4.2 Ekstraksi Antioksidan Kulit Buah Naga Merah

Serbuk halus dari kulit buah Naga Merah yang telah diperoleh direndam dalam etanol 80% dengan perbandingan 1:3 sampai semua sampel terendam oleh pelarut, dan dihomogenkan dengan cara dikocok hingga larut dan dimaserasi selama 2 x 24 jam, kemudian filtrat dipipet dengan pipet volume. Filtrat yang diperoleh ditampung dalam *Beaker glass*. Ampas hasil ekstraksi tersebut kemudian ditambahkan kembali etanol 80% hingga diperoleh filtrat yang kedua. Filtrat yang terkumpul kemudian disentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh dipekatkan hingga menjadi ekstrak pekat dengan menggunakan *rotary evaporator vacum* dan *waterbath* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak pekat yang mengandung antioksidan dari kulit buah Naga Merah (Budiono *et al.*, 2013). Ekstrak pekat tersebut diindikasikan dengan bentuk ekstrak seperti pasta. Hasil ekstrak antioksidan tersebut disimpan pada suhu 4°C.

3.4.3 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang paling tinggi berdasarkan kemampuannya dalam menerima donor atom hidrogen dari antioksidan untuk menstabilkan molekul DPPH menjadi molekul yang nonradikal (Mujic *et al.*, 2011). Dalam penentuan aktivitas antioksidan sebelumnya dibuat reagen larutan DPPH 0,06 mM yaitu dengan melarutkan 2,4 g DPPH pada 100 ml etanol 80%. Selanjutnya sebanyak 1 mg sampel ekstrak kulit buah Naga Merah diencerkan menggunakan etanol hingga diperoleh volume akhir 1 ml ekstrak sampel kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,06 mM dan diinkubasi gelap selama 20 menit dengan menggunakan kertas karbon. Selanjutnya, sampel divortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Budiono, 2013). Larutan DPPH digunakan sebagai kontrol. Analisis dilakukan sebanyak 5 kali. Aktivitas antioksidan terhadap DPPH dapat dihitung menggunakan persamaan :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}) \times 100\%}{\text{Absorbansi kontrol}}$$

(Prakash *et al.*, 2011)

3.4.4 Uji Polifenol dan Betasianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Uji polifenol dilakukan untuk memastikan adanya senyawa polifenol pada ekstrak kulit buah Naga Merah menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang merupakan larutan kompleks ion polimerik dengan cara megoksidasi gugus fonolik hidroksil dari polifenol. Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol kulit buah Naga Merah dilarutkan hingga volume 25 ml aquades. Larutan ekstrak dipipet sebanyak 100 μ l dan ditambah 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan divortex selanjutnya didiamkan selama 3 menit kemudian ditambahkan 1,2 ml larutan Na₂CO₃ 7,5% kemudian diinkubasi gelap selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm, hasil uji polifenol ditandai dengan terjadinya reaksi antara senyawa polifenol dengan natrium karbonat membentuk senyawa kompleks berwarna hijau, ungu, dan biru (Lim *et al.*, 2007).

Uji betasianin dilakukan untuk memastikan adanya pigmen warna dalam ekstrak kulit buah Naga Merah yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiproliferasi yang mampu mengurangi produksi senyawa radikal bebas. Sebanyak 0,1 g ekstrak kulit buah Naga Merah dilarutkan kedalam 10 ml etanol 80% divortex kemudian diinkubasi gelap selama 40 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada dua panjang gelombang yaitu 538 dan 600 nm.

3.4.5 Pengukuran Kurva Pertumbuhan *S. cerevisiae*

S. cerevisiae memiliki pola pertumbuhan yang dapat ditentukan dengan membuat kurva pertumbuhannya. Isolat khamir dari media Potato Dextrose Agar (PDA) miring berusia 24 jam diambil satu ose dan ditumbuhkan pada media YPG cair. Selanjutnya diinkubasi di atas *shaker* pada suhu 30 °C selama 72 jam dan dilakukan pengukuran pertumbuhan setiap 6 jam sekali.

Pengukuran pertumbuhan *S. cerevisiae* dilakukan secara langsung menggunakan metode *drop plate* pada media. Perhitungan sel dilakukan dengan melakukan pengenceran pada isolat. Sebanyak 1 mL isolat dari YPG cair sebagai pengenceran 10^{-1} dimasukkan kedalam 9 mL aquadest steril. Kemudian diambil 100 μ l isolat pada pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam *microtube* berisi 900 μ l aquadest steril sebagai pengenceran 10^{-2} . Pengenceran berulang hingga 10^{-5} . Selanjutnya, perhitungan sel dilakukan dengan cara mengambil 5 μ l pada masing-masing pengenceran untuk diinokulasikan secara *drop plate* pada media YPG Agar pada masing-masing setiap pengenceran. Jumlah sel/ml dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Jumlah (CFU/ml)} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1000 \mu\text{l}}{5 \mu\text{l}} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.4.6 Uji Antioksidan pada *S. cerevisiae* dengan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah sebagai Antioksidan Eksogenus

Sel *S. cerevisiae* sebanyak 1 ose ditumbuhkan pada media YPG Cair kemudian dihitung jumlah sel awalnya kemudian dipanen dengan menggunakan sentrifugasi pada fase eksponensialnya dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk diperoleh hasil pelletnya. Hasil sentrifugasi berupa pellet tersebut kemudian diresuspensi dengan media baru yang ditambah dengan ekstrak kulit buah Naga Merah yang diencerkan dengan perbandingan dosis 0,78; 1,56; dan 3,12 mg/ml. Suspensi tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 2 jam. Selanjutnya disentrifugasi kembali, lalu dicuci dengan buffer K-fosfat 50 mM pH 7. Pellet yang diperoleh selanjutnya di resuspensi dengan buffer K-fosfat dengan penambahan H₂O₂ 20 mM sebagai perlakuan stres oksidatif dan diinkubasi selama pada suhu 28°C selama 1 jam. Sel yang digunakan sebagai kontrol yaitu suspensi yang tidak mendapat penambahan ekstrak kulit buah Naga Merah dan tanpa perlakuan stres oksidatif dan sebagai kontrol positif yaitu sel yang tidak mendapat penambahan ekstrak kulit buah Naga Merah dengan perlakuan stres oksidatif. Selanjutnya masing-masing perlakuan pada suspensi sel tersebut kemudian ditumbuhkan pada media agar dengan cara *drop plate* dengan volume 5 µl sebanyak lima kali ulangan masing-masing pada seri pengenceran 10⁻³ sampai 10⁻⁵ dan diinkubasi selama 24 jam. Sel yang tumbuh tersebut kemudian dihitung jumlah viabilitas selnya (CFU/ml) dengan menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{Jumlah (CFU/ml)} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1000 \mu\text{l}}{5 \mu\text{l}} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA, selanjutnya jika hasil signifikan maka dihitung rerata antar perlakuan dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan kepercayaan taraf 5%.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Ekstrak kulit buah Naga Merah (*Hylcereus polyrhizus*) memiliki aktivitas antioksidan sebesar 95,3 %. Ekstrak kulit buah Naga Merah sebagai antioksidan eksogenus mampu meningkatkan viabilitas sel *S. cerevisiae* dalam kondisi stres oksidatif. Dosis ekstrak yang menunjukkan peningkatan viabilitas sel paling tinggi yaitu pemberian dosis ekstrak sebanyak 3.12 mg/g.

5.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi senyawa antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak kulit buah Naga Merah secara keseluruhan yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi sehingga aman untuk diaplikasikan pada tingkat hewan maupun manusia serta menggunakan metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas selain DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

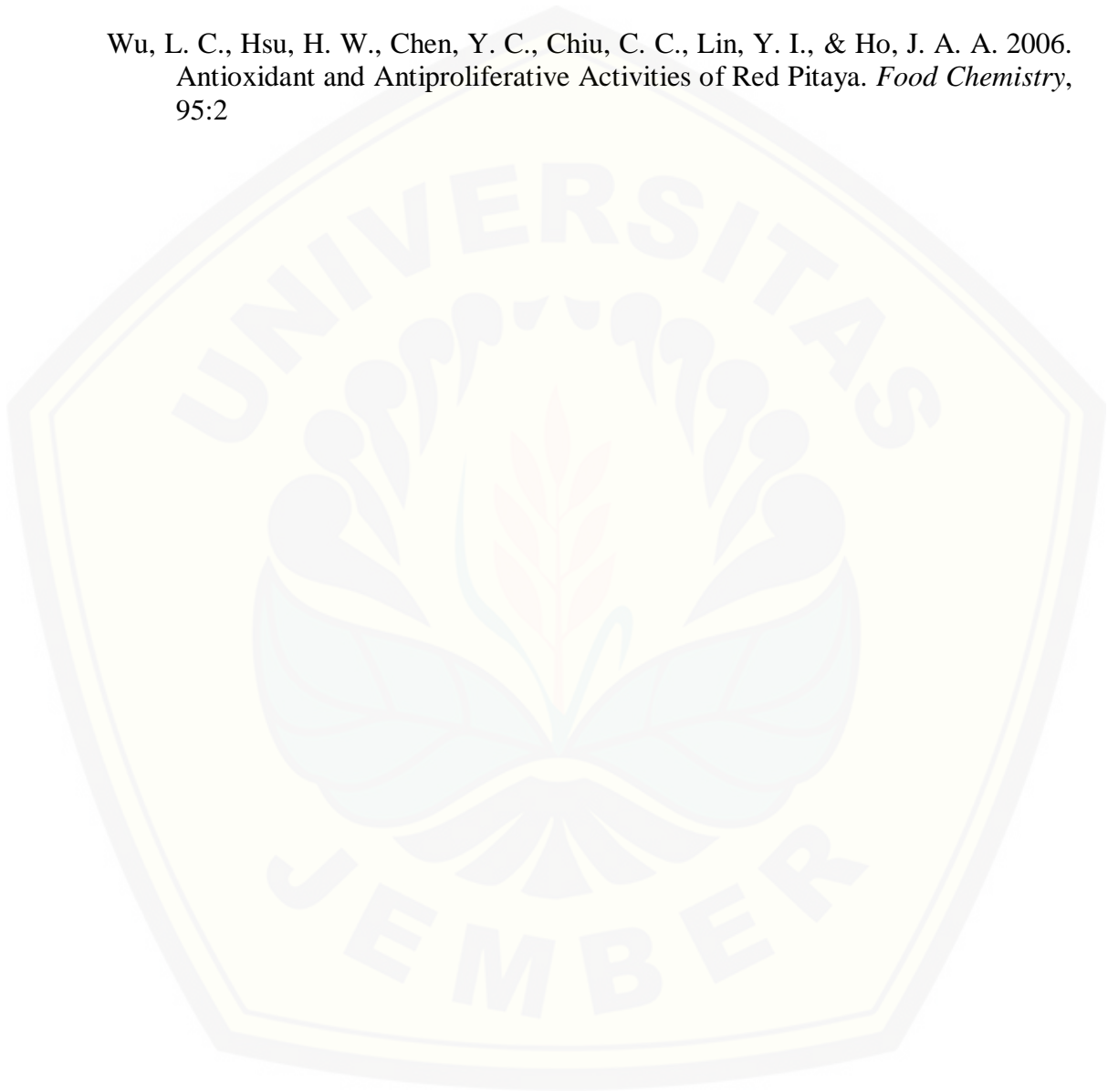
- Asaduzzaman, M. 2007. Standardization of Yeast Growth Curves from Several Curves with Different Initial Sizes Md. *Karya Tulis Ilmiah*. Division of Mathematical Statistics Department of Mathematical Sciences Chalmers: University of Technology and Goteborg University
- Bayliak, M. M., Burdyliuk, N. I., Izers'ka, L. I., & Lushchak, V. I. 2014. Concentration-Dependent Effects of *Rhodiola Rosea* on Long-Term Survival and Stress Resistance of Yeast *Saccharomyces Cerevisiae*: The Involvement of YAP 1 and MSN2/4 Regulatory Proteins. *International Dose-Response Society*, 12, 93–109.
- Bendra, A. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Premna. *Skripsi*. Universitas Indonesia: Program Studi Ekstensi Farmasi FMIPA.
- Bienert, G. P., Schjoerring, J. K., & Jahn, T. P. 2006. Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1758, 994–1003
- Bienert, G. P., Schjoerring, J. K., & Jahn, T. P. 2006. Specific Aquaporins Facilitate the Diffusion of Hydrogen Peroxide Across Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*, 282, 1183-1192
- Budiono, Sukatiningsih, & Sari, P. .2013. Formulasi Serbuk Effervescent Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Ekstrak Buah Salam (*Syzygium polyanthum*). *UNEJ JURNAL (1): 1-9*.
- Chet, W. .2009. Total Phenolic and Total Flavonoids Content of Pitaya Peels by Water extraction. *Thesis*. Universitas Malaysia Pahang: Faculty of Chemical and Natural Resources Engineer.
- Choo, W., & Yong, W. 2011. Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. *Advances in Applied Science Research*, 2(3), 418–425.
- Dickinson, B. C., & Chang, C. J. 2011. Chemistry and Biology of Reactive Oxygen Species in Signaling Or Stress Responses. *Nature Chemical Biology*, 7(8), 504–51.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Faridah, A., Holinesti, R., Syukri, D. 2008. Identifikasi pigmen betasianin dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *J. REKAPANGAN* 147–154.

- Faridah, A., Syukri, D., Holinesti, R. 2015. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol 60% dan Ekstrak air Kulit Buah Naga Merah Terhadap Bakteri *Staphylococcus aerus* dan *Eschericia coli*. *J. REKAPANGAN*, 9:1
- Fenercioglu, A., Saler, T., Genc, E., Sabuncu, H., & Altuntas, Y. 2010. The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in Type 2 diabetes mellitus without complications. *Journal of Endocrinological Investigation*, 33(2), 118–124
- Gemilang. 2012. *Manfaat Buah dan Sayur*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama
- Handayani, S. 2014. Kandungan Kimia Beberapa Tanaman dan Kulit Buah Berwarna Serta Manfaatnya Bagi Kesehatan. *Artikel*. Universitas Negeri Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
- Hanifan, F., Ruhana, A., & Hidayati, D. 2016. Pengaruh Substitusi Sari Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*) terhadap Kadar Kalium, Pigmen Betalain dan Mutu Organoleptik Permen Jeli. *Majalah Kesehatan FKUB*. 3:1
- Ingrid, H. M., & Santoso, H. 2014. Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia Deliciosa*). *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Katholik Parahyangan: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat
- Ishmayana, S., Djajasoepana, S., Rachman, S. D., & Safari, A. 2012. Kinerja Fermentasi Ragi *Saccharomyces Cerevisiae* Pada Media Vhg Dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Ragi Sebagai Sumber Nitrogen Untuk Produksi Bioetanol. *Naskah Publikasi*. 312–317.
- Jaafar, R. A., Abdul Rahman, A. R. Bin, Mahmud, N. Z. C., & Vasudevan, R. 2009. Proximate analysis of dragon fruit (*Hylecereus polyhizus*). *American Journal of Applied Sciences*, 6(7): 1341–1346
- Jamilah, B., Shu, C. E., Kharidah, M., Dzulkifly, M. A., & Noranizan, A. 2011. Physico-chemical Characteristics of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) Peel. *International Food Research Journal*, 18(1): 279–286
- Lianiwati, MM.V. 2011. Pemberian Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Menurunkan Kadar F2 Isoprostan Pada Tikus Putih Jantan Yang Diberi Aktivitas Berlebih. *Tesis*. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Undayana
- Lim, Y. Y., & Murtijaya, J. 2007. Antioxidant properties of Phyllanthus amarus extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1664–1669
- Lindsay, P., Collinson, & Dawes, I. W. 1992. Inducibility of the Response of Yeast-Cells To Peroxide Stress. *Journal of General Microbiology*, 138(2), 329 – 335.

- Lingga, Lanny. 2012. *The Healing Power of Antioxidant*. Jakarta: Elex Media Komputindo
- Longo, V. D., Gralla, E. B., & Valentine, J. S. 1996. Superoxide Dismutase Activity Is Essential For Stationary Phase Survival In *Saccharomyces Cerevisiae*: Mitochondrial Production Of Toxic Oxygen Species In Vivo. *Journal of Biological Chemistry*. 3:21
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T., & Yang, S. 2014. Chemical Composition And In Vitro Evaluation Of The Cytotoxic And Antioxidant Activities Of Supercritical Carbon Dioxide Extracts Of Pitaya (Dragon Fruit) Peel. *Chemistry Central Journal*, 8(1)
- Lushchak, V. 2006. Budding Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* As A Model To Study Oxidative Modification Of Proteins In Eukaryotes. *Acta Biochimica Polonica*, 53:4
- Manitto, P. *Biosintesis Produk Alam*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Marinova, G. and V. Batchvarov, 2011. Evaluation Of The Methods For Determination Of The Free Radical Scavenging Activity By DPPH. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 17: 11-24
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 211–219.
- Mujić, I., Šertović, E., Jokić, S., Sarić, Z., Alibabić, V., Vidović, S., & Živković, J. 2011. Isoflavone Content And Antioxidant Properties of Soybean Seeds. *Croat. J. Food Sci. Technol*, 3:1
- Nurliyana, R., Syed Zahir, I., Mustapha Suleiman, K., Aisyah, M. R., & Kamarul Rahim, K. 2010. Antioxidant Study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal*, 17(2), 367–375.]
- Prakash, A., Rigelhof, F., & Miller, E. (2011). Antioxidant Activity. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15:4
- Pranata, R. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenyl-2-Pikrilhydazil). *Naskah Publikasi Skripsi*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
- Prasetyorini., Moerfiah., Wardatun,S., & Rusli Z. 2014. Potensi Antioksidan Berbagai Sediaan Buah Sirsak (*Anona muricata* Linn). *Penel Gizi Makanan* 37:2

- Pujimulyani, D., Raharjo, S., Marsono, Y., & Santoso, U. 2010. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Senyawa Fenolik Pada Kunir Putih (*Curcuma mangga* Val.) Segar dan Setelah Blanching. *AGRITECH*. 30:2
- Putri, N. K. M., I Wayan Gede Gunawan, & I. W. S. 2015. Aktivitas Antioksidan Antosianin Dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Dan Analisis Kadar Totalnya. *Jurnal Kimia*. 9:2
- Raschke, M., Rowland, I. R., Magee, P. J., & Pool-Zobel, B. L. 2006. Genistein Protects Prostate Cells Against Hydrogen Peroxide-Induced Dna Damage And Induces Expression Of Genes Involved In The Defence Against Oxidative Stress. *Carcinogenesis*, 27(11), 2322–2330
- Repetto, M., Semprine, J., Boveris, A., & Kancheva, V. 2012. *Lipid peroxidation*. Croatia: Intech.
- Saneto, B. 2001. Karakterisasi Kulit Buah Naga Merah (*H. polyrhizus*). *AGRIKA*. 2:2
- Sega, F.V.D., Laura,Z., Diana,F., Bendetta,R., Christina,C., Laura,L, & Cecili,P. 2014. Specific Aquaporins Facilitate Nox-produced Hydrogen Peroxide Transport Through Plasma Membrane in Leukaemia Cells. *Biochimia et Biophysica Acta*, 1843:806-814
- Setiawan, A . 2015. Efek Ekstrak Tempe Sebagai Sumber Antioksidan Eksogenus Terhadap Antioksidan Endogenus *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi*. Jember: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember
- Simanjuntak, K. 2012. Peran Antioksidan flavonoid Dalam Meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*, 23(3), 135–140.
- Suzuki, K., Koike, H., Matsui, H., Ono, Y., Hasumi, M., Nakazato, H., & Yamanaka, H. 2002. Genistein, A Soy Isoflavone, Induces Glutathione Peroxidase In The Human Prostate Cancer Cell Lines Lncap And Pc-3. *International Journal of Cancer*, 99(6), 846–852
- Untari,K.A, Wahdaningsih,S, & Damayanti, A. 2014. Efek Fraksi n-heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Aktivitas Katalase Tikus Stres Oksidatif. *Pharm Sci Res* 1:3
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3:2
- Widyastuti.R.I Fratama. & A.Seprialdi. 2015. Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose). *SCIENTIA* 5:2

- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiset,L Poomsa-ad & V. Srilaong 2012. Comparisons of Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Dragon Fruit Peel from Various Drying Methods. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 6:10
- Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I., & Ho, J. A. A. 2006. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red Pitaya. *Food Chemistry*, 95:2



LAMPIRAN

Lampiran A. Komposisi Media Pertumbuhan

1. Komposisi Media PDA

Nama bahan	Jumlah / liter
Kentang	200 gram
Dextrosa	10 gram
Agar	15 gram
Akuades	1000 ml

Bahan yang telah tersedia dilarutkan dalam 1000 ml akuades dan dididihkan, dengan pH media 7. Selanjutnya dituang 10 ml setiap tabung dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15-20 menit dengan tekanan 15 lbs

2. Komposisi Media YPG Cair

Nama bahan	Jumlah/ liter
Pepton	20 gram
Glucose	20 gram
Yeast ekstrak	10 gram
Akuades	1000 ml

Bahan yang telah tersedia dilarutkan dalam 1000 ml akuades dan dididihkan, dengan pH media 7. Selanjutnya dituang 10 ml setiap tabung dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15-20 menit dengan tekanan 15 lbs

3. Komposisi Media YPG Agar

Nama bahan	Jumlah/ liter
Pepton	20 gram
Glucose	20 gram
Yeast ekstrak	10 gram
Agar	20 gram
Akuades	1000 ml

Bahan yang telah tersedia dilarutkan dalam 1000 ml akuades dan dididihkan, dengan pH media 7. Selanjutnya dituang 10 ml setiap tabung dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15-20 menit dengan tekanan 15 lbs

4. Larutan Buffer K-Fosfat 50 mM

Komposisi	Jumlah
K ₂ HPO ₄	228 gram
KH ₂ PO ₄	136 gram
Akuades	1000 ml

228 gram K₂HPO₄ dilarutkan dalam 1000 ml akuades, kemudian ditambahkan 136 gram KH₂PO₄ sambil diaduk sampai larutan homogen. Kemudian diukur pH hingga mencapai pH 7. Larutan disimpan pada botol Schoot pada suhu 4 °C.

Lampiran B. Rendemen Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Ekstraksi	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak pekat (g)	Randemen (% b/b)
Maserasi	200	28.72	14.36

Lampiran C. Perhitungan Nilai Inhibisi DPPH

Absorbansi	Kontrol	% inhibisi	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi akhir	STDV
0.050	0.893	94.401	0.042	95.319	0.52165
0.041	0.893	95.409			
0.040	0.893	95.521			
0.039	0.893	95.633			
0.039	0.893	95.633			

Lampiran D. Hasil Uji Polifenol

Ulangan	Berat sampel (g)	Total volume	Abs	Abs (mg/0.1 ml)	mg/g	Rata-rata	SD
1	0.5493	25	0.4900	0.0397	18.073	18.046	0.207
2	0.5268	25	0.4680	0.0380	18.020		

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 y &= 0.079x + 0.01 \\
 &= (0.079 * 0.4900) + 0.001 \\
 &= 0.0397 \text{ mg/0.1 ml} \\
 &= \frac{\text{mg/ml} * (\text{total volume})}{\text{Berat sampel (g)}} \times \frac{1}{\text{volume pengenceran}} \\
 &= \frac{0.0397 \text{ mg/0.1 ml} * 25}{0.5493} \\
 &= 18.073 \text{ mg/g} \\
 &= 1.8073 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran E. Hasil Uji Betasianin

Ulangan	Berat sampel (g)	Total volume (ml)	Abs	Betasianin (mg/L)	Betasianin (mg/ml)	Rata-rata	RSD
1	0.134	10	0.131	1.2008	0.0893	0.0891	0.3053
2	0.142	10	0.138	1.2650	0.0869		

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi betasianin} &= \frac{\text{Absorbansi} \cdot \text{FP} \cdot \text{BM } 550 \text{ (g/mol)} \times 100}{60.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}} \\ &= \frac{0.1310 \cdot 1 \cdot 550 \text{ (g/mol)} \times 100}{60.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}} \\ &= 1.2008 \text{ (mg/L)} \\ &= (0.0012008 \text{ mg/ml} \cdot 10 \text{ ml}) / 0.1345 \text{ g} \\ &= 0.0893 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

Lampiran F. Hasil Perhitungan Jumlah Sel *S. cerevisiae* pada Kurva Pertumbuhan

Jam ke	Jumlah sel				Jumlah sel	Log CFU/ml
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		
0	TBUD	13	2	0	15	8.48
6	TBUD	TBUD	34	6	40	8.90
12	TBUD	TBUD	50	30	80	9.20
18	TBUD	TBUD	95	20	115	9.36
24	TBUD	TBUD	100	14	114	9.35
30	TBUD	TBUD	98	20	118	9.37
36	TBUD	TBUD	95	21	116	9.36
42	TBUD	TBUD	122	25	147	9.47
48	TBUD	TBUD	113	27	140	9.45
54	TBUD	TBUD	102	5	107	9.33
60	TBUD	TBUD	98	8	106	9.33
66	TBUD	TBUD	78	13	91	9.26
72	TBUD	TBUD	70	8	78	9.19

Lampiran G. Hasil viabilitas sel *S.cerevisiae* pada uji pertumbuhan dengan penambahan antioksidan

Perlakuan	Jumlah Sel (CFU/ml)					Jumlah sel (Log CFU/ml)					Rata-rata Log CFU/ml	Standar Deviasi
	U1	U2	U3	U4	U5	U1	U2	U3	U4	U5		
Kontrol negative	1,36 x10 ⁻⁹	1,08x10 ⁻⁸	9,6x10 ⁻⁸	2,48x10 ⁻⁹	5,2x10 ⁻⁸	9,13353	9,03342	8,98227	9,39445	8,71600	9,051937	0,16324
Kontrol positif	7,2 x 10 ⁻⁸	8 x 10 ⁻⁷	3 x 10 ⁻⁷	1,4 x 10 ⁻⁸	1,4 x 10 ⁻⁸	7,90308	7,90309	847712	8,14612	8,14612	8,115111	0,23543
0.78 mg/ml +H2O2	5 x 10 ⁻⁷	4 x 10 ⁻⁷	8 x 10 ⁻⁷	1,42 x 10 ⁻⁹	1,4 x 10 ⁻⁷	8,60205	8,60205	8,90308	9,15228	9,14612	8,881125	0,23222
1.56 mg/ml +H2O2	5 x 10 ⁻⁷	1,34 x 10 ⁻⁹	1,42 x 10 ⁻⁹	1,88 x 10 ⁻⁹	5,6 x 10 ⁻⁸	8,69897	9,12710	9,15228	9,27415	8,74818	9,000141	0,21929
3.12 mg/ml +H2O2	1,84 x 10 ⁻⁹	1,46 x 10 ⁻⁹	1,14 x 10 ⁻⁹	2,56 x 10 ⁻⁹	1,22 x 10 ⁻⁹	9,26481	9,16435	9,05690	9,40823	9,08635	9,216228	0,12609

Lampiran H. Hasil Uji Statistik Anova Satu Arah dilanjutkan Uji Duncan Taraf 5% (Software SPSS 15

Descriptives

Hasil	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					kontrol negatif	5		
kontrol positif	5	8.11511	.236052	.105565	7.82201	8.40821	7.903	8.477
0.78 mg/ml	5	8.88113	.273858	.122473	8.54109	9.22117	8.602	9.152
1.56 mg/ml	5	9.00014	.259103	.115875	8.67842	9.32186	8.699	9.274
3.12 mg/ml	5	9.19614	.143310	.064090	9.01819	9.37408	9.057	9.408
Total	25	8.84889	.444239	.088848	8.66552	9.03226	7.903	9.408

Test of Homogeneity of Variances

Duncan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.772	4	20	.556
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol positif	5	8.11511	
0.78 mg/ml	5		8.88113
1.56 mg/ml	5		9.00014
kontrol negative	5		9.05194
3.12 mg/ml	5		9.19614
Sig.		1.000	.066

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.621	4	.905	16.228	.000
Within Groups	1.116	20	.056		
Total	4.736	24			

Means for groups in homogeneous subsets are display

Lampiran I



Keterangan :

1. Sampel Kulit Buah Naga Merah di oven pada suhu 50 °C
2. Kulit buah Naga Merah yang sudah kering
3. Serbuk kering kulit buah Naga Merah
4. Hasil maserasi kulit buah Naga Merah
5. Hasil rotary evaporator
6. Ekstrak pekat kulit buah Naga Merah
7. Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH
8. Perhitungan sel *S.cerevisiae* dengan cara drop plate