

Antioxidant Activity Test of Methanol Extract of Lime Peel (*Citrus aurantifolia*) with DPPH Method (1,1-difenil-2-pikrilhidrail)

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrail)

Dinni Febrianti, Alfin Surya

Analisis Kesehatan Universitas Abdurrah Pekanbaru Jl. Riau Ujung No. 73 Pekanbaru

E-mail : febriantyinni@gmail.com

Email : alfin.surya@univrab.ac.id

ABSTRACT

*The current developments affect many unhealthy lifestyles, such as smoking, lack of sleep, lack of exercise, environmental pollution, radiation, etc. If left unchecked, it will cause several diseases, one of which is cancer and coronary heart disease. Antioxidants are divided into two parts, natural antioxidants and synthetic antioxidants. Synthetic antioxidants in the form of BHA, BHT, PG when consumed continuously will cause side effects to the body, so natural antioxidants are needed which are easy to obtain and relatively inexpensive. We encounter many lime peels in Indonesia, but the processing is not optimal. This study aims to see whether the peel of lime fruit (*Citrus aurantifolia*) contains antioxidants. Determination of antioxidant levels in this study using the spectrophotometric method. This study used a quantitative descriptive analysis method, namely to calculate the levels of antioxidants in the peel of lime (*Citrus aurantifolia*). The maceration process was carried out three times for 24 hours. After that, filter the liquid to obtain the methanol extract by separating the thick extract using filter paper. Then, after examination using the Microplate reader LB-941, it was found that the concentration of antioxidants needed to inhibit free radicals by 50% is known as the IC50 value. Lime peel has an IC50 value of 88.2346 ppm. If the IC50 value is less than 50 ppm, a substance shows a very strong antioxidant. If the IC50 value is between 50 and 100 ppm, there will be strong antioxidant activity; if it is between 100 and 150 ppm, there will be moderate antioxidant activity; and if it is more than 150 ppm, the antioxidant activity is weak. This further shows the strong antioxidant activity of the methanol extract of lime peel which has an IC50 value of 88.2346 ppm.*

Keywords : *Antioxsidan, IC₅₀, DPPH, Lime peel*

ABSTRAK

Perkembangan zaman saat ini banyak mempengaruhi pola hidup yang tidak sehat, seperti merokok, kurang tidur, kurang olahraga, polusi lingkungan, radiasi, dll. Dimana apabila dibiarkan akan menyebabkan beberapa penyakit salah satunya kanker dan jantung koroner. Antioksidan terbagi menjadi dua bagian antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis berupa BHA, BHT, PG apabila dikonsumsi secara terus menerus akan menimbulkan efek samping bagi tubuh, sehingga dibutuhkanlah antioksidan alami yang mudah didapat dan relatif murah. Kulit buah jeruk nipis banyak kita jumpai di Indonesia namun pengolahannya belum optimal. Penelitian ini bertujuan untuk melihat apakah pada kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terdapat antioksidan. Penentuan kadar antioksidan

pada penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri. Penelitian ini menggunakan metode analisa deskriptif kuantitatif yaitu untuk menghitung kadar antioksidan pada kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Dilakukan proses maserasi selama tiga kali 24 jam Setelah itu, saring cairan untuk mendapatkan ekstrak metanol dengan cara memisahkan ekstrak kentalnya menggunakan kertas saring. Kemudian, setelah dilakukan pemeriksaan menggunakan Microplate reader LB-941 didapatkan konsentrasi zat antioksidan yang diperlukan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50% dikenal dengan nilai IC50. Kulit jeruk nipis memiliki nilai IC50 sebesar 88,2346 ppm. Jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm, suatu zat menunjukkan antioksidan yang sangat kuat. Jika nilai IC50 antara 50 dan 100 ppm, akan terjadi aktivitas antioksidan yang kuat; jika antara 100 dan 150 ppm, akan ada aktivitas antioksidan sedang; dan jika lebih dari 150 ppm, aktivitas antioksidannya lemah. Hal ini semakin menunjukkan kuatnya aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol kulit jeruk nipis yang memiliki nilai IC50 88,2346 ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, IC₅₀, DPPH, kulit jeruk nipis

1. PENDAHULUAN

Gaya hidup masyarakat banyak berubah yang berdampak negatif bagi kesehatan, seperti makan makanan yang tidak seimbang, istirahat yang tidak cukup, merokok, minum berakohol, dan lain-lain. Selain itu, kondisi lingkungan yang memburuk seperti tingkat pencemaran yang tinggi juga dapat mengakibatkan penurunan kualitas hidup (Arnanda dan Nuwarda, 2019).

Salah satu senyawa yang dibutuhkan untuk mengatasi dan mencegah hal tersebut adalah antioksidan. Beberapa bahan alam banyak mengandung antioksidan dengan bahan aktif yang berbeda-beda. Penggunaan bahan alam sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau dan mudah didapat (Werdhasari, 2014).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu zat yang memiliki antioksidan. Diketahui bahwa buah jeruk nipis memiliki kandungan flavonoid dan vitamin C. Salah satu efek dari flavonoid dan vitamin C adalah sebagai antioksidan. Kulit jeruk nipis masih belum banyak dimanfaatkan, selama ini masyarakat hanya memanfaatkan daun dan buah jeruk nipis sebagai pengawet makanan dan pengobatan. Hal ini dikarenakan masih banyak masyarakat yang tidak mengetahui kandungan kulit jeruk nipis tersebut sehingga timbul limbah kulit jeruk nipis. Kulit jeruk nipis juga berfungsi sebagai antioksidan, anti iritasi, anti inflamasi, antibakteri, dan antiseptik mulut dan tenggorokan (Wardani dkk., 2018)

Kulit buah jeruk nipis memiliki daya antibakteri optimal terhadap *Streptococcus mutans*. Senyawa-senyawa umum yang mempunyai potensi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid, kulit buah jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang dapat bekerja sebagai antioksidan. Dengan adanya kandungan flavonoid dengan konsentrasi yang lebih tinggi pada bagian kulitnya, membuat kulit jeruk nipis berpotensi memiliki daya antioksidan (Ulya dkk., 2019) Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan studi Aktivitas Antioksidan pada kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menggunakan ekstrak metanol.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, botol vial, botol gelap, *microplate reader* model LB-941, Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeruk nipis yang diperoleh dari pasar pagi Arengka Pekanbaru, aluminium voil, metanol, DPPH (Surya, 2017).

Metode

1.1 Ekstraksi Sampel

Kulit buah jeruk nipis dijemur dengan cara diangin-anginkan. kemudian ditumbuk hingga halus. Sampel yang sudah halus ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan ke botol gelap, lalu tambahkan metanol sebanyak 2 mL kemudian diamkan selama 3x24 jam. Lalu lakukan pemisahan dengan cara dikering anginkan untuk memisahkan ekstrak kentalnya dengan cairan agar didapatkan ekstrak metanol. Lakukan aktivitas antioksidan metode DPPH (Surya, 2017).

1.2 Analisa Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan *microplatet reader two fold delution* dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) pada panjang gelombang 520 nm. Sampel sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 2 mL metanol sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 µL/mL. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL (*Plate* terdiri dari baris A – H masing masing berjumlah 3 sumur). Metanol dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B – H sebanyak 50 µL. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dimasukkan ke baris C dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet 50 µL lalu dibuang, sehingga didapatkan konsenstrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5ppm dan 31,25 ppm. Sedangkan pada baris G – H diisi dengan metanol 50 µL. Baris A – G ditambahkan DPPH sebanyak 80 µL dengan konsentrasi 40 µL/mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *microplate reader* dan olah data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil data yang didapat dari alat *microplate reader* adalah inhibisi kontrol dan sampel kemudian dihitung nilai % inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

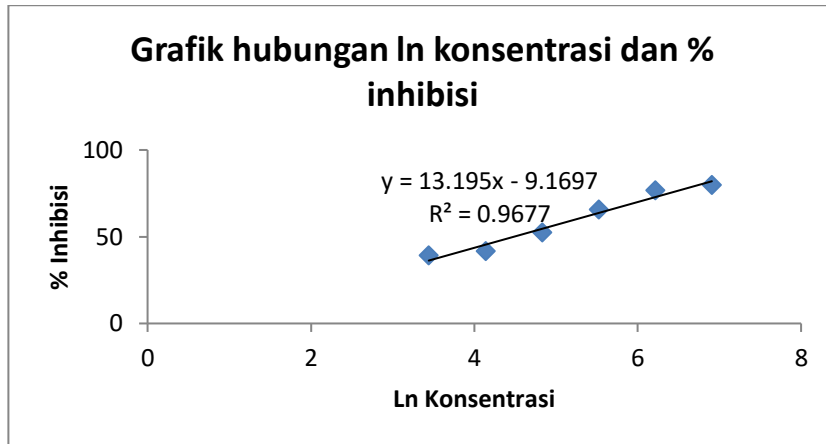
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan : A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sample} = Absorbansi sampel

Setelah diperoleh presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan $y = a \times x + b$, dimana x adalah Ln konsentrasi (ppm) dan y adalah nilai % inhibisi, sedangkan a adalah slope dan b adalah intercept. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai inhibition Concentration 50% atau IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 (Surya, 2017).

Setelah mendapatkan persen hambatan, maka dibuat grafik untuk mendapatkan persamaan garis regresi antara Ln setiap konsentrasi dengan persen hambatan seperti : $y = ax + b$. Contoh perhitungan untuk pelarut methanol setelah didapat persamaa regresi.



Gambar 4. Grafik Persamaan Garis Regresi ekstrak metanol

Perhitungan IC₅₀ ekstrak metanol :

$$y = 13,195 \text{Ln}X - 9,1679$$

$$50 = 13,195 \text{Ln}X - 9,1679$$

$$50 + 9,1679 = 13,195x$$

$$59,1679 = 13,195x$$

$$X = \frac{59,1679}{13,195} = 4,48$$

$$\text{IC}_{50} = 88,2346$$

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan microplate reader 96 well (Berthold technologies) pada panjang gelombang 520 nm menghasilkan nilai IC₅₀ untuk setiap ekstrak pelarut yang digunakan dari kulit jengkol seperti terlihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Pengukuran antioksidan dengan DPP

Konsentrasi metanol (ppm)	ln konsentrasi (X)	% Inhibisi (Y)
1000	6,2146	79,60339
500	6,9078	76,48725
250	5,5215	65,43909
125	4,8283	52,40793
62,5	4,1352	41,64305
31,25	3,442	39,09348

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 520 nm, konsentrasi sampel yang digunakan dilihat dalam beberapa konsentrasi yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol semula ungu

menjadi kuning oleh reaksi dengan antioksidan menjadi kuning oleh reaksi dengan antioksidan (Sastrawan dkk., 2013).

Konsentrasi zat antioksidan yang diperlukan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50% dikenal dengan nilai IC₅₀. Kulit jeruk nipis memiliki nilai IC₅₀ sebesar 88,2346 µg/mL. Jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, suatu zat menunjukkan aksi antioksidan yang sangat kuat. Jika nilai IC₅₀ antara 50 dan 100 ppm, akan terjadi aktivitas antioksidan yang kuat; jika antara 100 dan 150 ppm, akan ada aktivitas antioksidan sedang; dan jika lebih dari 150 ppm, aktivitas antioksidannya lemah. Hal ini semakin menunjukkan kuatnya aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol kulit jeruk nipis yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 88,2346 µg/mL.

Kesimpulan

Pada kulit buah jeruk nipis ekstrak metanol didapatkan hasil analisis pengujian aktivitas antioksidan dengan waktu maserasi selama 3x24 jam diperoleh IC₅₀ yang kuat yaitu pada 88,2346 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

Alfaridz, F. dan Amalia, R. (2018) “Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid,” *Farmaka*, 16(3), hal. 1–9.

Andarina, R. dan Djauhari, T. (2017) “Antioksidan Dalam Dermatologi,” *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), hal. 39–48.

Amanda, Q. P. *et al.* (2019) “Farmaka Farmaka,” 17, hal. 236–243.

Diniyah, N. dan Lee, S.-H. (2020) “Komposisi Senyawa Fenol Dan Potensi Antioksidan Dari Kacang-Kacangan: Review,” *Jurnal Agroteknologi*, 14(01), hal. 91. doi: 10.19184/j-agt.v14i01.17965.

Erika Fauziah Prabawati, H. B. H. F. S. R. (2021) “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME (*Glycin max* (L) Merrill) DENGAN METODE DPPH,” *Jurnal Ilmiah Farmasi Akademi Farmasi Jember*, 1(1), hal. 27–32. doi: 10.53864/jifakfar.v1i1.8.

Ery Al Ridho, Rafika Sari, S. W. (2013) “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut *Caulerpa serrulata* Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil),” *Universitas Tanjungpura*, 2(2), hal. 7–15.

Fathurrahman, N. R. dan Musfiroh, I. (2018) “Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin,” *Farmaka*, 4(2), hal. 449–456.

Gunawan, H. D. (2018) “Decreasing Saponin Compounds on Aloe Vera Gel with Boiling and Steaming,” *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), hal. 411–436.

Indah dan Jubaidah (2022) “Karakterisasi Morfologi Jenis Tanaman Buah Jeruk (*Citrus* sp) di Perkarangan Desa Lae Langge, Kecamatan Sultan Daulat, Kota Subulussalam, Aceh,” *Pros. SemNas. Peningkatan Mutu Pendidikan*, 3(1), hal. 23–28.

Indra, I., Nurmallasari, N. dan Kusmiati, M. (2019) “Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescense* Blume.),” *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3), hal. 206. doi: 10.25077/jsfk.6.3.206-212.2019.

Khaira Kuntum. (2010) “Meangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan,” *Jurnal Sainstek*, hal. 183–187.

Khasanah, I., Ulfah, M. dan Sumantri, S. (2014) “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2- pikirilhidrazil),” *e-Publikasi Fakultas Farmasi*, 11(2), hal. 9–17.

Lung, J. K. S. dan Destiani, D. P. (2018) “Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH,” *Farmaka*, 15(1), hal. 53–62.

Mukhtarini (2014) “Mukhtarini, ‘Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,’ J. Kesehat., vol. VII, no. 2, p. 361, 2014.” *J. Kesehat.*, VII(2), hal. 361. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>.

Nanda Pratama, A. dan Busman, H. (2020) “Potensi Antioksidan Kedelai Terhadap Penangkapan Radikal Bebas Potential of Soybean Antioxidant (*Glycine Max L*) on Capturing Free Radicals,” *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), hal. 497–504. doi: 10.35816/jiskh.v10i2.333.

Nisa, Izza Khilyatun., Amananti, Wilda, S.Pd., M.Si.,apt. Febriyanti, Rizki, M. F. (2021) “Skrining Fitokimia Pada Kulit Jeruk Nipis Di Wilayah Tegal Dan Pemalang,” *Parapemikir :JurnalIlmiahFarmasi Vol x No.xTahun x SKRINING*, x, hal. 1–10.

Paramita, C. *et al.* (2019) “Klasifikasi Jeruk Nipis Terhadap Tingkat Kematangan Buah Berdasarkan Fitur Warna Menggunakan K-Nearest Neighbor,” *Jurnal Informatika: Jurnal Pengembangan IT*, 4(1), hal. 1–6. doi: 10.30591/jpit.v4i1.1267.

Redha, A. (2010) “Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis,” *Jurnal Berlin*, 9(2), hal. 196–202. doi: 10.1186/2110-5820-1-7.

Salim, R. (2018) “Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1- diphenil- 2- picrylhidrazil),” *Jurnal Katalisator*, 3(2), hal. 153. doi: 10.22216/jk.v3i2.3372.

Sari, A. N. (2016) “Berbagai Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami,” *Elkawanie*, 2(2), hal. 203. doi: 10.22373/ekw.v2i2.2695.

Sastrawan, I. N., Sangi, M. dan Kamu, V. (2013) “SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI ADAS (*Foeniculum vulgare*) MENGGUNAKAN METODE DPPH,” *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), hal. 110. doi: 10.35799/jis.13.2.2013.3054.

Surya, A. (2017) “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Dengan Tiga Pelarut Pendahuluan Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) selama ini tergolong limbah organik yang berserakan di pasar tradisional dan tidak memberikan nilai ekonomis (,” *Jurnal Rekayasa Sistem Industri*, 3(1), hal. 88–96.

U, Z. A., Purwanti, N. dan Wahyudi, I. A. (2013) “Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*,” *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 20(2), hal. 126. doi: 10.22146/majkedgiind.6803.

Ulya, M., Orienty, F. N. dan Hayati, M. (2019) “Efek Uji Daya Bunuh Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus Auranti Folia*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*,” *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 5(1), hal. 30–37. doi: 10.33854/jbdjbd.135.

Wahyuni, N., H. Silalahi, I. dan Angelina, D. (2019) “Isoterm Adsorpsi Fenol Oleh Lempung Alam,” *Jurnal Teknologi Lingkungan Lahan Basah*, 7(1), hal. 029. doi: 10.26418/jtlb.v7i1.34363.

Wardani, R., Jekti, D. S. D. dan Sedijani, P. (2018) “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI ISOLAT KLINIS,” *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 5(1). doi: 10.29303/jppipa.v5i1.101.

Werdhasari, A. (2014) “Peran Antioksidan Bagi Kesehatan,” *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), hal. 59–68.

Wullur, A., Schadu, J. dan Wardhani, A. (2012) “IDENTIFIKASI ALKALOID PADA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.),” *Jurnal Ilmiah Farmasi Poltekkes Manado*, 3(2), hal. 96483.