ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF LEMON PEEL (Citrus lemon L.*) BY DPPH METHOD (1.1-Diphenil-2-Picrylhdarzyl)*

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH LEMON SUANGGI (*Citrus lemon* L.) DENGAN METODE DPPH (*1,1-Diphenil-2-Picrylhydarzyl*)

Stevana F.A Paat [1)*], Fatimawali [1)], Irma Antasionasti [1)]
[1)]Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115
*paatstevana@gmail.com

ABSTRACT

Lemon Suanggi (Citrus lemon) contains flavonoid compounds so that it can act as antioxidants that can ward off free radicals. The purpose of this study was to find out the antioxidant activity of the ethanol extract of suanggi lemon peel in vitro using the DPPH method (1.1-diphenil-2-picrylhdarzyl) based on that value. Suanggi Lemon peel was extracted by maceration method with 95% ethanol as solvent. The antioxidant activity test used the DPPH method (1.1-diphenil-2-picrylhdarzyl) and vitamin C as a comparison, the absorption was measured by UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 517 nm. The antioxidant activity were analyzed by used the equation of the regression line y = 2,0741x + 20,099, obtained IC_{50} 14,41 µg/mL and a compration of vitamin C obtained IC_{50} 8,0 µg/mL. The results of this study can be concluded that the ethanol extract of suanggi lemon peel has a very strong antioxidant content.

Keywords*: Suanggi Lemon Peel, Maceration, Antiokxidant, DPPH*

ABSTRAK

Buah Lemon Suanggi (*Citrus lemon*) mengandung senyawa flavonoid sehingga dapat bersifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi secara *invitro* dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)* berdasarkan nilai IC_{50}. Kulit buah Lemon Suanggi diekstrasi menggunakan metode maserasi dengan etanol 95% sebagai pelarut. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydarzyl)* dan vitamin C sebagai pembanding. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan persamaan garis regresi y = 2,0742x + 20,099, diperoleh IC_{50} 14,41 µg/mL dan pembanding vitamin C diperoleh IC_{50} 8,0 µg/mL. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: Kulit Buah Lemon Suanggi, Maserasi, Antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Tubuh manusia membutuhkan substansi yang penting yaitu antioksidan dalam jumlah yang cukup agar dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. Antioksidan alami di hasilkan oleh tubuh manusia, baik berupa enzim-enzim antioksidan maupun senyawa-senyawa yang juga bersifat antioksidan (Muchtadi, 2013). Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karna berkaitan dengan fungsinya yaitu sistem imunitas tubuh. Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor) (Hernani dan Mono, 2006). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan. Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali pasangannya (Corwin, 2009).

Buah Lemon Suanggi merupakan tanaman yang memiliki manfaat sebagai antioksidan alami karna memiliki kandungan vitamin C, Asam sitrat, minyak atsiri, bioflavonoid, polifenol, kumarin, flavonoid, dan minyak minyak volatil pada kulitnya seperti limonen (±70%), α-terpinen, α-pinen, β-pinen, serta kumarin, dan polifenol (Nizhar, 2012). Serta air perasan jeruk lemon juga mengandung banyak senyawa bioaktif antara lain flavonoid, tanin, dan asam sitrat. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam Lemon Suanggi masing-masing memiliki sifat antibakteri, anti jamur, antidiabetes, antikanker, dan aktivitas antivirus. (Russo *et al.*, 2014).

Citrus lemon L yang dikenal dengan jeruk lemon termasuk *family* Rutaceae umumnya dibudidayakan di negara-negara Asia Selatan, karena Lemon Suanggi (*Citrus lemon* L.) mempunyai aktivitas yang luas termasuk sebagai antibakteri, anti jamur, antidiabetes, antikanker, dan aktivitas antivirus. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan menangkap radikal bebas, serta memiliki kapasitas dalam memodulasi aktivitas enzim dan menghambat poliferasi sel (Batubara, 2017).

Penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi secara *invitro* dengan metode uji antioksidan yang digunakan adalah metode peredaman radikal bebas DPPH *(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)* berdasarkan nilai IC_{50}. Metode ini memerlukan sedikit sampel sederhana, mudah, cepat, dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Hanani *et al.*, 2005).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Peneliatian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni 2021 sampai September 2021 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Bentuk Penelitian

Bentuk dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari kulit buah Lemon Suanggi *(Citrus lemon* L.*)* dengan metode DPPH *(1,1 difenil-2-pikrilhidrazil*). Ekstrasi kulit buah Lemon Suanggi dilakukan dengan cara maserasi. Untuk uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan variasi konsentrasi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL.

Alat dan Bahan

Alat

Timbangan analitik, oven, blender, *aluminium foil*, toples, corong, ayakan, kertas saring, beaker gelas, labu takar *(pyrex)*, pipet tetes, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Kulit terluar buah Lemon Suanggi (*Citrus lemon* L.), Etanol 95% (*OneMed*) dan serbuk vitamin C p.a (*Merck)*.

Prosedur Penelitian

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Buah lemon suanggi yang di ambil dari desa Minanga kabupaten Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara. buah lemon suanggi di cuci bersih dengan air bersih yang mengalir, kemudian kulit buah Lemon Suanggi dipisahkan dari buahnya. Kulit buah Lemon Suanggi diangin-anginkan lalu di keringkan dalam oven pada suhu 40°C. Kulit buah Lemon Suanggi yang benar-benar kering ditimbang dan dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk, kemudian diayak menggunakan ayakan.

Ekstrasi Metode Maserasi

Sampel kulit buah Lemon Suanggi diekstrasi menggunakan pelarut etanol 95%. sebanyak 300 g serbuk simplisia dimasukan ke dalam toples kemudian ditambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 1500 mL. Toples ditutup

rapat dan dibiarkan selama 3 hari terlindung dari cahaya ekstrak, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat (Filtrat I) dan residunya dimaserasi dengan etanol. Prosedur yang sama, maserasi dilakukan selama 2 hari. Maserat etanol digabungkan (Filtrat I + Filtrat II) dan dipekatkan menggunakan oven pada suhu 40°C sehingga diperoleh ektrak kental.

Pembuatan dan Pengujian Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 100 mL dalam labu ukur, larutan dijaga pada suhu kamar, terlindung dari cahaya untuk segera digunakan. Pengujian dilakukan dengan menggunaksn spektrofotometer UV-Vis diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak 3 replikasi.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH

Sebanyak 10 mg ekstrak kulit buah Lemon Suanggi dilarutkan dengan etanol 95% dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas. Masing-masing dibuat konsentrasi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL. sebanyak 5 mL, dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$\boldsymbol{M_1 \times V_1 = M_2 V_2}$$

Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH kemudian di vortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Serapannya diukur pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak 3 replikasi.

Pembuatan dan Pengujian Larutan Pembanding Vitamin C (p.a)

Vitamin C p.a sebanyak 10 mg ditimbang. Kemudian dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 10 mL. Masing-masing larutan stok dipipet 25 µL, 50µL, 75µL, 100µL, 125µL. Masing-masing konsetrasi tersebut ditambahkan dengan etanol 95% sampai tanda batas 5 mL sehingga diperoleh masing-masing konsentrasi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL. Konsentrasi-konsentrasi tersebut dipipet 1 Ml, lalu dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan sebanyak 2 mL larutan DPPH. Vortex selama 5 detik dan dibiarkan 30 menit pada suhu kamar. Masing-masing larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak 3 replikasi.

Penentuan Nilai Inhibitory Concentration IC_{50}

Perhitung nilai IC_{50} diperlukan data persen inhibisi dari pengujian yang dilakukan. Persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%\,\boldsymbol{inhibisi} = \frac{\boldsymbol{absorbansi\ blanko - absorbansi\ sampel}}{\boldsymbol{absorbansi\ blanko}} \times \mathbf{100\%}$$

Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} (Molyneux, 2004). Suatu senyawa memiliki antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC_{50} < 50 µg/mL, kuat bila nilai IC_{50} bernilai 50-100 µg/mL, sedangkan sedang apabila nilai IC_{50} bernilai 100-150 µg/mL, dan lemah bila nilai IC_{50} bernilai 151 - 200 µg/mL (Blois, 2005).

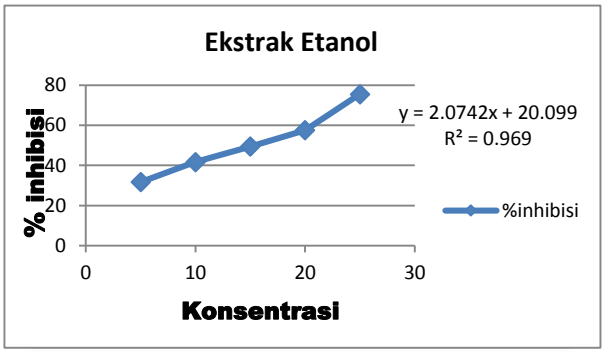
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

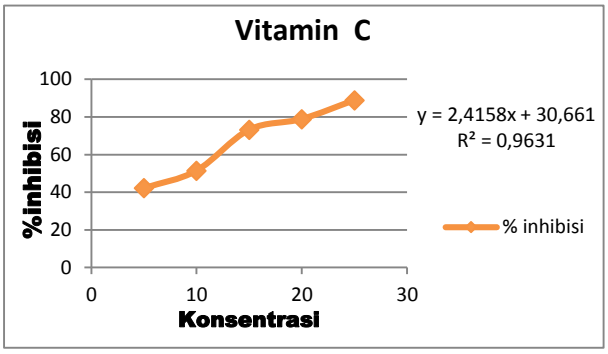
Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas, diuji pada spektrofotometer. Hasil pengujian disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Rata-Rata	Inhibisi (%)	IC_{50} (µg/mL)
		I	II	III			
Ekstrak Etanol	5	0,602	0,600	0,562	0,588	31,70	14,41 µg/mL
	10	0,522	0,518	0,468	0,502	41,69	
	15	0,460	0,441	0,405	0,435	49,47	
	20	0,395	0,340	0,361	0,365	57,60	
	25	0,271	0,210	0,153	0,210	75,60	
Vitamin C	5	0,503	0,504	0,498	0,498	42,16	8,0 µg/mL
	10	0,407	0,422	0,418	0,418	51,45	
	15	0,217	0,235	0,242	0,231	73,17	
	20	0,170	0,186	0,190	0,182	78,86	
	25	0,120	0,085	0,085	0,096	88,85	



Gambar 2. Grafik Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol



Gambar 3. Grafik Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Pembahasan

Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip dari metode ini adalah mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan pengukuran aktivitas perendaman radikal DPPH oleh ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi (*Citrus lemon* L.) menggunakan sperktofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sehingga akan diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas, yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*). Proses ekstraksi simplisia kulit buah Lemon Suanggi dilakukan dengan metode maserasi.

Metode ini dipilih karena cara pengerjaan yang sederhana, cepat menarik senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Peralatan yang digunakan mudah didapat dan tidak memerlukan peralatan khusus (Sa`adah *et al.*, 2015). Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 95% karena lebih selektif. Etanol juga memiliki sifat toksisitas rendah sehingga tidak merusak sampel, absorbansinya baik dan dapat mencegahpertumbuhan bakteri dan jamur (Saifudin *et al.*, 2011).

Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel menggunakan lima konsentrasi yaitu 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, dimana pada masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengujian. Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya adalah ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi (*Citrus lemon*) dan vitamin C sebagai pembanding.

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa bertambahnya konsentrasi sampel menyebabkan absorbansi sampel semakin menurun dan persen inhibisi meningkat. Menurut Hanani dan Sekarini (2005), menyatakan bahwa presentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan

meningkatnya konsentrasi. Berdasarkan hasil pengujian DPPH, persen inhibisi pada ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi mengalami peningkatan pada konsentrasi tertinggi yaitu 25µg/ml yakni 75,60%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ekstrak kulit buah Lemon Suanggi memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah Lemon Suanggi diperoleh nilai IC_{50} sebesar 14,41 µg/mL dan aktivitas antioksidan vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 8,0 µg/mL. Menurut Molyneux (2004), dapat diketahui bahwa kulit buah Lemon Suanggi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat serta vitamin C yang digunakan sebagai pembanding termasuk antioksidan yang sangat kuat. Ekstral etanol kulit Lemon Suanggi mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, glikosida, tannin, steroid dan triterpenoid. Kandungan flavonoid pada sitrus memiliki aktivitas biologis yang luas termasuk sebagai antibakteri, antijamur, antidiabetes, antikanker dan aktivitas antivirus.

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan menangkap radikal bebas, serta memiliki kapasitas dalam memodulasi. Senyawa triterpenoid pada ekstrak kulit buah Lemon Suanggi berpotensi sebagai antioksidan. Triterpenoid bertindak sebagai antioksidan karena memiliki rantai ikatan rangkap terkonjugasi sehingga elektronnya dapat disambungkan untuk menstabilkan muatan molekul reaktif (Capelli dan Cisewsky, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydarzyl*) ekstrak kulit buah Lemon Suanggi (*Citrus lemon* L.) memiliki aktivitas antioksidan. Nilai yang diperoleh berada pada rentang <50 µg/mL yaitu sebesar 14,41 µg/mL dengan aktivitas antioksidan dapat dikatakan sangat kuat.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, perlu penelitian lebih lanjut terhadap pengujian beberapa aktivitas senyawa pada buah Lemon Suanggi (*Citrus Lemon* L.)

DAFTAR PUSTAKA

Batubara, N. A. 2017. Efek Air Perasan Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon*) terhadap Laju Aliran, Nilai pH Saliva dan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* (*In Vivo*). [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara, Medan.

Blois, M.S. 2005. Antioxidant Determination by The Use of Stable Free Radical. *Journal Nature*. **181**: 1191–1200.

Capelli, B., & G. Cisewsky. 2007. *Natural Antaxhantin: King of the Carotenoids*. Hawai: Cyanotech Corporation.

Corwin, E.J. 2009. *Buku Saku Patofiologi Edisi Ketiga*. Jakarta: EGC.

Hanani, E., A. Mun'inm, R. Sekarini, & S. Wiryowidagdo. 2006. Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons Laut Dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. **5**(**1**): 1-4.

Hanani, E., & R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. **2**(**3**): 127-133.

Hernani, & R. Mono. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science Technology*. **26**(**2**): 211-219.

Muchtadi, Deddy. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta.

Nizhar, U. M. 2012. Level Optimum Sari Buah Lemon (Citrus limon) sebagai Bahan Penggumpal pada Pembentukan Curd Keju Cottage. [Skripsi]. Univesritas Hasanuddin, Makassar.

Russo, M., I. Bonaccorsi, G. Torre, M. Saro, P. Dugo, & L. Modello. 2014. Undererestimated Sources of Flavonoid, Limonoids, and Dietary Fibre: Availability Lemon's by-Products. *Jo Funct Foods*. (**9**): 18-26.

Sa'adah, H., & H. Nurhasnawati. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **1**(**2**): 149-153.

Saifuddin, A., V. Rahayu, & H. Y. Teruna. 2010. *Standarisasi Bahan Obat Alam.* Jogjakarta: Graha Ilmu.