

**POTENSI EKSTRAK KULIT LIMAU BANJAR (*Citrus reticulata*)  
DENGAN METODE DPPH SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

**Bela Ghonim Nashucha\*, Rakhmadhan Niah, Lutfi Anggraini, Winola  
Exliscia**

Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin

\*Email: [belanashucha40011@gmail.com](mailto:belanashucha40011@gmail.com)

*Artikel diterima: 22 Juni 2019; Disetujui: 29 Oktober 2019*

**ABSTRAK**

Radikal bebas merupakan faktor yang menyebabkan terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif telah menjadi penyebab kematian terbesar di Indonesia, seperti kanker, diabetes, jantung dan penuaan dini. Tubuh memerlukan suatu substansi penting untuk membantu melindungi dari serangan radikal bebas yang bekerja dengan cara meredam dampak negatif dari senyawa ini yaitu antioksidan. Antioksidan alami dapat diperoleh melalui konsumsi tanaman-tanaman herbal yang mengandung metabolit sekunder antioksidan, seperti kulit limau banjar (*Citrus reticulata*). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit limau banjar yang dinyatakan dengan *Inhibitor Concentration*<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>). Kulit limau banjar diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut aquadest dan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit limau banjar mengandung antioksidan yaitu 10 ppm (29,814%), 20 ppm (35,182%), 30 ppm (43,482%), 40 ppm (50,022%), 50 ppm (58,682%) dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 39,041 ppm yang termasuk dalam range aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Kesimpulan penelitian adalah ekstrak kulit limau banjar sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami bagi manusia.

**Kata kunci:** antioksidan, aquadest, DPPH, IC<sub>50</sub>, kulit limau banjar (*Citrus reticulata*)

**ABSTRACT**

*Free radicals are a factor that causes various degenerative diseases to occur. Degenerative diseases have become the biggest cause of death in Indonesia, such as cancer, diabetes, heart disease and premature aging. The body needs an important substance to help protect against attacks by free radicals that work by reducing the negative effects of these compounds, namely antioxidants. Natural antioxidants can be obtained through the consumption of herbal plants that contain secondary metabolites of antioxidants, such as banjar orange peel (*Citrus reticulata*). The aim of this study was to determine the antioxidant activity of banjar orange peel extract which was expressed by inhibitors Concentration 50 (IC<sub>50</sub>). The banjar orange peel was extracted by maceration method using*

*aquadest solvent and antioxidant activity was tested using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method by UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The results showed that the banjar orange peel contained antioxidants which were 10 ppm (29,814%), 20 ppm (35,182%), 30 ppm (43,482%), 40 ppm (50,022%), 50 ppm (58,682%) with IC<sub>50</sub> values of 39,041 ppm which is included in the range of very strong antioxidant activity. The conclusion of the study is that the banjar orange peel extract has the potential to be developed as a source of natural antioxidants for humans.*

**Keywords:** *antioxidant, aquadest, DPPH, IC<sub>50</sub>, banjar orange peel (Citrus reticulata)*

## **PENDAHULUAN**

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. (Juniarti, Osmeli, & Yuhernita, 2009). Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Sekar, 2011). Senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan senyawa fenolat terutama polifenol dan flavonoid diketahui berpotensi mengurangi resiko penyakit degeneratif tersebut (Prakash, 2001; Okawa *et al.*, 2001; Kuncahyo dan Sunardi, 2007).

Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, farmasi dan plastik (Suharman, 2018). Oleh karena itu, potensi tumbuhan kaya akan antioksidan di daerah Kalimantan perlu dikembangkan.

Limau atau biasanya disebut jeruk merupakan salah satu buah yang bisa dimanfaatkan sebagai antioksidan. Limau khas daerah Banjarmasin yaitu Limau Banjar (*Citrus reticulata*). Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa golongan flavonoid dan vitamin C yang berkhasiat sebagai antioksidan, ekstrak etanol kulit

jeruk nipis tersebut memiliki nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*)<sub>50</sub> sebesar 54,458 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat (Khasanah, *et.al.*, 2008). Ekstrak etanol kulit jeruk siam banjar (*Citrus reticulata*) mengandung aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 415,17 ppm yang termasuk kategori antioksidan lemah karena berada dalam range 251-500 ppm (Putri, *et.al.*, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti aktivitas antioksidan ekstrak kulit limau banjar (*Citrus reticulata*) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut aquadest yang sebelumnya belum pernah diteliti. Dan diuji secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan adalah toples, kain hitam, spektrofotometer UV-Vis, *rotary evaporator*, labu ukur, mikro pipet, alat-alat gelas yang umum di laboratorium, blender, timbangan, *waterbath*, cawan porselen, toples

kaca, spatula kayu. Bahan yang digunakan adalah kulit limau banjar yang diperoleh di Kabupaten Barito Kuala, vitamin C, DPPH, aquadest,  $FeCl_3$ , alkohol dan tissue.

### **Pengolahan Simplisia Kulit Limau Banjar**

Sampel limau banjar yang masih segar dicuci dan diambil bagian kulitnya. Kulit dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam sampai bobot konstan. Selanjutnya sampel dihaluskan dan dimasukkan dalam toples kaca (Fajarwati, 2013).

### **Ekstraksi Kulit Limau Banjar**

Sampel sebanyak 310 gram dihaluskan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut aquadest sebanyak 220 ml selama 3 x 24 jam dan diaduk setiap 6 jam sekali untuk mempercepat proses penarikan senyawa yang diinginkan. Selanjutnya filtrat yang diperoleh disaring dan residunya dimaserasi kembali dengan pelarut aquadest selama 3 x 24 jam. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C kemudian diuapkan kembali di *waterbath*.

### **Uji Aktivitas Antioksidan**

Larutan induk dari ekstrak dibuat dengan konsentrasi 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm sebanyak masing-masing 10 ml. Masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit kemudian didiamkan selama waktu *operating time* yang telah diperoleh. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai pembanding digunakan vitamin C konsentrasi 2, 6, 8 dan 10 ppm dengan perlakuan yang sama dengan larutan uji. Setelah didapatkan % aktivitas antioksidan dilakukan perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan regresi linear (Ghosal & Mandal 2012; Nurjannah, *et al.*, 2011).

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bobot simplisia kering yang didapat sebesar 360 gram. Hasil susut pengeringan adalah 44,615%. Simplisia yang sudah kering disortasi untuk memisahkan benda asing dan pengotor lain yang masih tertinggal

pada simplisia kering. Bobot serbuk simplisia kering diperoleh sebesar 310 gram. Tujuan proses penyerbukan simplisia adalah untuk memperkecil ukuran simplisia sehingga luas permukaan yang kontak dengan cairan penyarinya lebih luas dan proses penarikan zat-zat yang terkandung di dalamnya lebih optimal. Ekstrak kental yang diperoleh adalah 37,993 gram yang berwarna coklat dan berbau khas. Nilai rendemen ekstrak kulit limau banjar yaitu 12,26%. Skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa fenol diperoleh hasil positif dengan menambah pereaksi  $FeCl_3$  membentuk warna biru kehitaman.

Penelitian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazly*). Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Molyneux, 2004).

Pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri

dilakukan pada panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH 40 ppm adalah pada panjang gelombang 517 nm. Panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui absorbansi maksimal dalam pemeriksaan spektrofotometri karena panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan maksimal. Metode uji menggunakan DPPH didasarkan pada penurunan absorbansi akibat perubahan warna larutan warna DPPH, dimana DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk DPPH Hidrazin yang lebih stabil.

Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Molyneux, 2004).

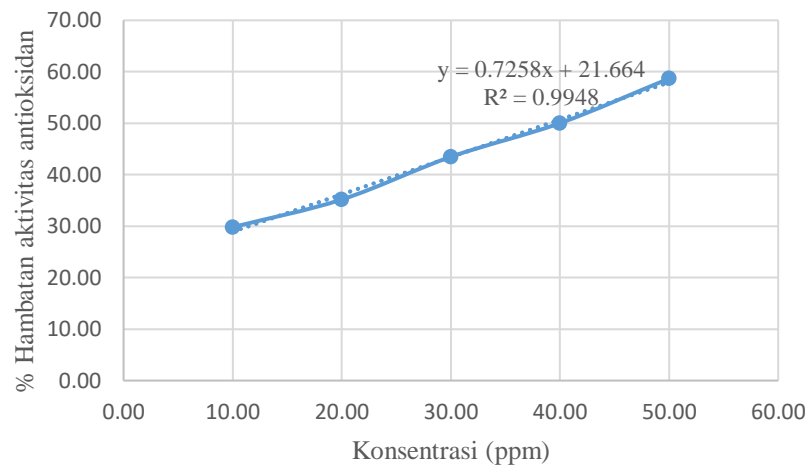
Pengukuran absorbansi ekstrak kulit limau banjar dilakukan pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Data absorbansi dan % hambatan aktivitas antioksidan dari beberapa konsentrasi ekstrak kulit limau banjar dapat dilihat pada Tabel 1. Sedangkan kurva regresi linier antara konsentrasi ekstrak dan % hambatan aktivitas antioksidan ekstrak dapat dilihat pada Gambar 1.

**Tabel 1.** Data absorbansi dan % hambatan aktivitas antioksidan ekstrak kulit limau banjar

No	Konsentrasi Larutan	Replikasi	Absorbansi pada lamda 517 nm	% Aktivitas Antioksidan	Rata-rata Aktivitas Antioksidan
1	DPPH	-	0,739	-	0 %
2	10 ppm	1	0,519	29,769 %	29,814 %
		2	0,519	29,769 %	
		3	0,518	29,905 %	
3	20 ppm	1	0,479	35,182 %	35,182 %
		2	0,479	35,182 %	
		3	0,479	35,182 %	
4	30 ppm	1	0,418	43,437 %	43,482 %
		2	0,418	43,437 %	
		3	0,417	43,572 %	
5	40 ppm	1	0,368	50,202 %	50,022 %
		2	0,369	50,067 %	
		3	0,371	49,797 %	
6	50 ppm	1	0,306	58,592 %	58,682 %
		2	0,305	58,592 %	
		3	0,304	58,863 %	

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak kulit limau banjar mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm yaitu sebesar 39,041 ppm. Sedangkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol kulit jeruk siam banjar

mengandung aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 415,17 ppm (Putri, *et.al.*, 2018). Aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari ekstrak kulit limau banjar sangat berpotensi sebagai bahan baku antioksidan alami.



**Gambar 1.** Kurva regresi linier ekstrak

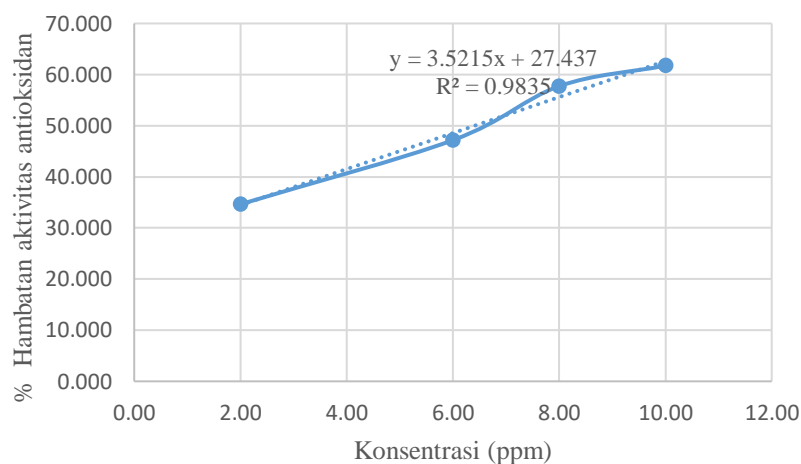
Tingginya daya aktivitas antioksidan pada ekstrak bisa dikarenakan dari pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi yaitu menggunakan pelarut aqudest yang merupakan pelarut polar, yang mana semakin polar pelarut maka semakin banyak komponen senyawa metabolit sekunder yang tertarik dari senyawa polar tanaman tersebut, maka semakin banyak antioksidannya. Semakin kecil nilai

$IC_{50}$  didapatkan maka semakin tinggi nilai  $IC_{50}$  senyawa yang bersifat antioksidan untuk melawan radikal bebas (Niah dan Dwi, 2018).

Data absorbansi dan % inhibisi dari beberapa konsentrasi vitamin C (2 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm) dapat dilihat pada Tabel 2 dan kurva regresi linier antara konsentrasi vitamin C dan % inhibisi vitamin C dapat dilihat Gambar 2.

**Tabel 2.** Data absorbansi dan % hambatan aktivitas antioksidan vitamin C

No	Konsentrasi Larutan	Replikasi	Absorbansi pada lamda 517 nm	% Aktivitas Antioksidan	Rata-rata Aktivitas Antioksidan
1	DPPH	1	0,739	-	0 %
2	2 ppm	1	0,483	34,641 %	34,641 %
		2	0,483	34,641 %	
		3	0,483	34,641 %	
3	6 ppm	1	0,390	47,225 %	47,18 %
		2	0,391	47,090 %	
		3	0,390	47,225 %	
4	8 ppm	1	0,313	57,645 %	57,735 %
		2	0,312	57,780 %	
		3	0,312	57,780 %	
5	10 ppm	1	0,282	61,840 %	61,75 %
		2	0,283	61,705 %	
		3	0,283	61,705 %	



**Gambar 2.** Kurva regresi linier vitamin C

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa vitamin C sebagai pembanding atau kontrol positif mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm yaitu sebesar 6,407 ppm.

Kurva pada Gambar 1 dan Gambar 2 diperoleh dengan menggunakan regresi linier pada

aplikasi *microsoft excel* 2013. Koefisien y pada persamaan linier bernilai 50 merupakan koefisien  $IC_{50}$ . Sedangkan koefisien x pada persamaan linier ini merupakan konsentrasi ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana x yang diperoleh merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal

DPPH. Nilai  $R^2$  yang mendekati +1 (bernilai positif) menunjukkan korelasi yang baik antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi (Harmita, 2004).

Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2, aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit limau banjar dan vitamin C, menunjukkan dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maupun vitamin C maka semakin kecil absorbansi DPPH sehingga peningkatan konsentrasi hambat radikal bebas DPPH semakin besar (aktivitas antioksidan juga meningkat).

Semakin banyaknya senyawa antioksidan akan menyebabkan semakin besar pula peredaman warna ungu dari DPPH sehingga nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Zuhra et al., 2008).

## **KESIMPULAN**

Ekstrak kulit limau banjar yang diekstraksi dengan pelarut aquadest memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai nilai  $IC_{50}$  sebesar 39,041 ppm. Sedangkan vitamin C memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih besar dari pada ekstrak yaitu sebesar 6,407 ppm yang termasuk dalam range aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal tersebut menunjukkan ekstrak aquadest kulit limau banjar memiliki aktivitas antioksidan yang sama-sama termasuk kategori sangat kuat.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih diucapkan kepada RISTEKDIKTI yang telah membantu penelitian ini dengan skim riset PKM- penelitian tahun pendanaan 2019.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Fajarwati, Nilam. 2013, '*Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)*'. Skripsi, Program Study Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran

- UIN Syarif Hidayatullah,  
Jakarta.
- Ghosal, M And Mandal, P. 2012, *Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Two Selected 'Bihi' Fruits Used as Vegetables In Darjeeling Himalaya. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, ISSN: 0974-1491.
- Harmita, 2004, 'Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya', *Departemen Farmasi FMMIPA-UI Majalah Ilmu Kefarmasiaan*. Vol. 1, No. 3, hal 117-135.
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita, 2009, 'Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius L.*)', *Makara Sains*, 13(1), 50-54.
- Khasanah, I., Ulfah, M., Sumantri, 2008, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia) Dengan Metode DPPH (1,1- Difenil-2- Pikrilhidrazil)*, Semarang & Yogyakarta, Hal: 16.
- Kuncahyo, I., Dan Sunardi., 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap 1,1Diphenyl-2-Picrylhidrzyll 9DPPH', *Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007)*, ISSN : 1978-9777
- Molyneux, P, 2004, 'The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity', *J. Sci., Technol*, 26(2), 211-219.
- Niah Rakhmadhan, Dwi Rizki Febrianti, 2018, 'Optimasi Ekstrak Daun Karamunting (*Melastoma Malabathricum L.*) Dari Berbagai Pelarut Sebagai Antibakteri Tifoid', *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(2) 191-200.
- Nurjannah, Izzati, dan Abdullah, 2011, 'Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp.*)', *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol 16 (3); hal.119-124. ISSN
- Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara, M. Ono., 2001, 'Modification Method DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical Scavenging Activity of Flavonoid Obtained from Some Medicinal Plants', *Biol. Pharm., Bull* 24 (10): 1202-1205
- Prakash, A., 2001, *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories: Analytical Progress Vol 19 No 2: 1-4
- Putri, A. L., Rakhmadhan Niah dan Dwi Rizki Febrianti, 2018, Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus reticulata*) Menggunakan metode DPPH (1,1Diphenyl-2-Picrylhidrzyll), Banjarmasin.
- Sekar, TR., 2011, *Manfaat Buah-buahan di Sekitar Kita*. Siklus: Yogyakarta. Hal: 55-56

Suharman, 2018, *Gambir Peluang Pasar, Budidaya dan Pengolahannya*, Edisi ke-1, Yogyakarta, Deepublish.

Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H., 2008, 'Aktivitas

antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgunus (L) Merr.*)', *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.