

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI KULIT BUAH JERUK KALAMANSI (*Citrus microcarpa* Bunge) MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Nadia Septiani¹, Evi Maryanti², Oky Hermansyah³, Mutiara W.J. Putri⁴

^{1,3}Program Studi D3 Farmasi Universitas Bengkulu

^{2,4}Program Studi S1 Kimia Universitas Bengkulu

¹nadiaseptiani543@gmail.com, ²evi.maryanti@unib.ac.id, ³okyhermans@gmail.com

⁴mutiarajoliet01@gmail.com

ABSTRAK

Jeruk kalamansi mengandung senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan yang sangat baik untuk mencegah dan menangkal radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan minyak atsiri dari kulit buah jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge). Penelitian ini dilakukan dengan mendestilasi minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) menggunakan metode destilasi uap air. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrozil) dan diukur secara spektrofotometri UV-Vis pada serapan 515 nm. Data yang diperoleh kemudian dihitung nilai aktivitas antioksidan dan dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi memiliki aktivitas antioksidan.

Kata Kunci : Antioksidan, minyak atsiri, kulit jeruk kalamansi, metode DPPH

PENDAHULUAN

Di zaman modern ini, dengan berkembangnya teknologi dan ilmu pengetahuan menyebabkan perubahan gaya hidup masyarakat yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan, seperti diet yang tidak seimbang, kurang olahraga dan istirahat, kebiasaan merokok, dan minum-minuman alkohol. Selain itu, perubahan kondisi lingkungan seperti jumlah polusi juga dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup masyarakat. Salah satu upaya untuk menjaga kondisi tubuh dari berbagai faktor tersebut, maka tubuh

memproduksi senyawa yang bersifat antioksidan. Produksi antioksidan alami digunakan untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk akibat polusi udara, sumber radiasi, zat kimia berbahaya, dan pembentukan radikal bebas lainnya (Arnanda & Nuwarda, 2021).

Antioksidan merupakan zat penghambat reaksi oksidasi radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan asam lemak tak jenuh, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menyebabkan penyakit (Sie, 2013). Berdasarkan

sumbernya antioksidan dibedakan menjadi 2 macam yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Kameliani *et al.*, 2020, Flieger *et al.*, 2021). Penggunaan antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hydroxyanisole), TBHQ (terbutyl hydroxy quinone), dan BHT (butylated hydroxytoluen sudah dibatasi pada produk-produk makanan sebab dapat diklaim mempunyai efek karsinogenik. Hal ini mendorong penelitian untuk menemukan sumber antioksidan baru yang berasal dari alam yang diharapkan bisa mengganti antioksidan sintetik (Prasanto *et al.*, 2017).

Salah satu senyawa antioksidan alami adalah minyak atsiri. Kulit jeruk kalamansi mengandung komponen senyawa aktif yang bermanfaat, antara lain senyawa limonene yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Anggraini *et al.*, 2021; Shah & Mehta, 2018). Minyak atsiri merupakan salah satu jenis minyak nabati yang memiliki banyak manfaat. Minyak atsiri dihasilkan dari berbagai bagian tanaman daun, bunga, buah, biji, kulit biji, kulit buah, batang, dan akar (Effendi & Wijanarko, 2014). Dinyatakan bahwa pada bagian kulit jeruk lebih menghasilkan minyak atsiri

dibandingkan dengan daun jeruk (Anas, 2022).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Unit Produksi SMKS 16 Farmasi, Laboratorium Kimia Farmasi dan Instrumen Prodi D3 Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2023.

Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan analitik (Fujitsu), Spektrofotometer UV-Vis (Double Beam PC UVD-3000®LABOMED,INC), kuvet, alat destilasi, beaker glass (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), labu ukur (Pyrex®), pipet volume (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®) dan rak tabung reaksi, corong pisah (Pyrex®), pipet tetes, spatel, perkamen dan aluminium foil.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrozil), etanol pro analisis (e-Merck)

Proses Destilasi Minyak Atsiri

Sampel kulit buah jeruk kalamansi diambil dari unit produksi

SMKS 16 farmasi Bengkulu dari perkebunan Padang Serai, Provinsi Bengkulu, Telah dinyatakan dengan surat verifikasi Laboratorium Nomor 320/UN30.LAB.BIOLOGI/PM2023.

Langkah ini digunakan untuk memastikan kebenaran tumbuhan bahwa tanaman yang digunakan benar tanaman jeruk kalamansi.

Minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi diperoleh dengan cara metode destilasi uap air. Sebanyak 7 kg kulit buah jeruk kalamansi yang telah dipotong kecil-kecil, dimasukkan ke dalam alat destilasi dan ditambahkan air sampai 7 liter, kemudian dipanaskan dengan suhu 90°C sampai dengan 100°C selama 4 jam. Hasil destilasi yang didapatkan berupa air yang masih bercampur dengan minyak atsiri ditampung dengan erlenmeyer, kemudian dipisahkan dengan corong pemisah (Irwan & Rosyidah, 2019).

Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri

1. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Larutan blanko DPPH dibuat dengan menimbang 3,9 mg padatan DPPH kemudian diarturkan dalam 100 mL etanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan DPPH

dengan konsentrasi 39 ppm (Tristantini *et al.*, 2016).

2. Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel

Minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a 50 mL sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran lagi dengan membuat 5 seri konsentrasi larutan yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm (Tristantini *et al.*, 2016).

3. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan blanko terdiri dari campuran 2 mL DPPH dengan konsentrasi 50 PPM dan 2 mL etanol p.a yang dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit ditempat gelap, kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 470-550 nm (Parwati, 2014; Tristantini *et al* 2016).

4. Uji Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi dipipet sebanyak 2 mL dengan pipet volume, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 39

ppm. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap, kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Parwati *et al.*, 2014; Tristantini *et al.*, 2016).

5. Analisa Data

Nilai aktivitas antioksidan dari minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \left(\frac{Ab-As}{Ab} \right) \times 100 \%$$

Keterangan

Ab: Absorbansi blanko (Larutan DPPH)

As: Absorbansi sampel

Dari nilai inhibisi yang diperoleh selanjutnya dibuat kurva hubungan konsentrasi larutan terhadap % inhibisi untuk mencari persamaan regresi linier dibuat menggunakan microsoft excel. Persamaan regresi linier yang diperoleh digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (inhibitor concentration 50 %), sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y, setelah mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y, akan didapat nilai x sebagai nilai IC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Amanda *et al.*, 2019).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil pengukuran absorbansi pada sampel minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm disajikan pada Tabel I.

Tabel I. Absorbansi dan persen inhibisi Sampel Uji Minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi
20	0,748	37,51
40	0,631	47,28

60	0,554	53,71
80	0,476	60,23
100	0,356	70,25

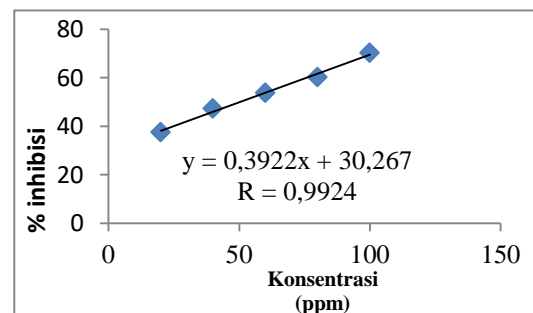
Data hasil pengujian aktivitas antioksidan dari 5 seri konsentrasi larutan pada panjang gelombang 515 nm menunjukkan bahwa setiap konsentrasi mengalami perubahan absorbansi, dimana semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin menurun nilai absorbansinya. Hal ini dapat diartikan bahwa DPPH yang berperan sebagai radikal bebas telah diredam oleh antioksidan yang terdapat pada minyak kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) (Cahyaningsih, 2019; Munteanu & Apetrei, 2021; Barluado *et al*, 2013, Rubab *et al.*, 2022).

Selanjutnya dilakukan perhitungan persentase peredam dengan menggunakan rumus perhitungan % inhibisi. Hasil perhitungan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel minyak kulit jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) dapat dilihat pada Tabel I.

Hasil perhitungan nilai persen peredamnya menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi maka kemampuan sampel minyak atsiri kulit

jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) untuk meredam radikal bebas juga semakin kuat. Perhitungan nilai IC50 dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan persentase peredam (% inhibisi) sehingga diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = bx + a$, dimana x merupakan konsentrasi (ppm) dan y merupakan % aktivitas antioksidan kurva regresi linier ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan kurva regresi pada Gambar 1, diperoleh persamaan regresi $y = 0,3922x + 30,276$, dengan nilai $R = 0,9924$. Nilai R yang diperoleh dari sampel tersebut dapat diartikan bahwa dari sampel minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) memiliki koefisien determinasi hampir mendekati +1 (bernilai positif) menunjukkan korelasi yang baik antara konsentrasi sampel dan % inhibisi (Parwati, 2014).



Gambar 1. Kurva Regresi Linier

Berdasarkan data persentase antioksidan minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi pada Tabel 2, diperoleh nilai IC_{50} dari seluruh sampel uji minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) menunjukkan nilai IC_{50} yaitu 50,31 $\mu\text{g/mL}$. Sesuai dengan parameter nilai IC_{50} menurut Molyneux tahun 2004, ini menunjukkan bahwa sampel minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) nilai IC_{50} 50-100 ppm merupakan antioksidan yang bersifat kuat.

Maesaroh *et al.*, 2018 juga telah melakukan uji aktivitas antioksidan pada asam askorbat, asam galat, dan kuersetin dengan 3 metode. Metode DPPH terbukti lebih efektif dan efisien daripada metode FRAP (*Ferric Reducng Antioxidant Power*). Metode FIC (*Ferrous Ion Chelating*) terbukti sangat tidak efektif dan efisien karena sensitivitasnya sangat rendah dan daya kelatnya lebih kecil dari 20%.

Herlina *et al.*, 2022 juga telah melakukan uji perbandingan aktivitas antioksidan pada minuman *infused water* jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamansi dengan metode DPPH. Menunjukkan hasil penelitian bahwa minuman *infused* jeruk

kalamansi memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari nilai IC_{50} yang kurang dari 50 ppm. Dimana jeruk kalamansi dengan nilai aktivitas antioksidan 28,92 ppm. Kebanyakan pada penelitian sebelumnya menggunakan sampel minyak atsiri jeruk purut dan jeruk nipis, maka belum ada yang menggunakan sampel minyak atsiri dari kulit buah jeruk kalamansi. Selain itu metode DPPH terbukti sangat efektif. Oleh karena itu, penulis akan melakukan penelitian untuk mengetahui senyawa antioksidan pada minyak atsiri buah jeruk kalamansi (*Citrus microcarpa* Bunge) menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrozil*).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} pada uji aktivitas antioksidan dari sampel uji minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi didapatkan sebesar 50,31 $\mu\text{g/mL}$ (tergolong kuat: 50 $\mu\text{g/mL}$ – 100 $\mu\text{g/mL}$).

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D. K., Irnameria, D., Khasanah, H. R., Muslim, Z. & Jatningsih, S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa*) Terhadap Bakteri (*Propionibacterium acnes*). Other Thesis. Poltekkes Kemenkes, Bengkulu.
- Amanda, T. T. M., Wewengkang, D. S., & Yudistira, A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmacon*, Vol. 8, 548–555.
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2021). Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99m dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka*, Vol. 17, 236–243.
- Barluado, Mary Jane & Lagang, Mary & Gordonas, Ivy & Bosas, Cybonne. (2016). Antiangiogenic and antioxidant properties of Calamansi Citrus microcarpa peel ethanolic extract. *UIC Research Journal*. 19. 10.17158/521.
- Cahyaningsih, E., Sand, P. E., & Santoso, P. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Teleng (*Clitoria ternatea* L.) Dengan metode Spektrometri UV-VIS. *Jurnal Ilmia Medicameto* Vol 5. (1) : 51-57
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14, 4135.
- Herlina., Mulyani, ., Wulandari, T., 2022. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Pada Minuman Infused Water Dari Jeruk Nipis, Jeruk Lemon Dan Jeruk Kalamansi Dengan Metode DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 56-65
- Irwan, A., & Rosyidah, K. (2019). Potensi Minyak Atsiri dari Limau Kulit Jeruk Lokal Kaimantan Selatan Potential of Essential Oils from Limau Kuit: Local Lime Fruit of Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 4(1), 197–202.
- Kameliani, D., Salamah, N., & Guntarti, A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ganggang Hijau (*Ulva lactuca* L.) dengan Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol 60%, 75%, dan 96% Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS) Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 5(2), 387–396. <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i2.534>
- Mamta, Kshipra Misra, Gurpreet Singh Dhillon, Satinder Kaur Brar, and Mausam Verma. (2014). *Antioxidants*. In book: Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals.

- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Parwati, N. K. F., Napitulu, M. & Wahid, M. D. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bihonang (*Anredera ardifolia* (Steenis) Dengan Metode DPPH Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Akademika Kimia*, Vol 3 (4) :206-128
- Prasanto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*). *Odonto Dental Journal*, Vol 4 (2), 122–128.
- Rubab, M., Chelliah, R., Oh, DH. (2022). Screening for Antioxidant Activity: Diphenylpicrylhydrazine (DPPH) Assay. In: Dharumadurai, D. (eds) *Methods in Actinobacteriology*. Springer Protocols Handbooks. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1728-1_61
- Shah, B.B., & Mehta, A. (2018). In vitro evaluation of antioxidant activity of D-Limonene. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(6):883-887.
- Sie, J. O. (2013). Daya antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–10.
- Trisnantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan, Yogyakarta.