

# Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*) dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Ika Maruya Kusuma<sup>1\*</sup>, Putu Rika Veryanti<sup>1</sup>, Brilliany Chairunnisa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640 telp.(021)7270090

\*Email korespondensi: imaruya@istn.ac.id

## ABSTRAK

Kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) memiliki kandungan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*). Penyarian kulit dan daging buah kawista dilakukan secara maserasi dengan metanol. Ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit dan daging buah kawista dilakukan pada konsentrasi sebesar 100; 50; 25; 12,5; 6,25 ppm, vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak kulit dan daging buah kawista memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 233,16 dan 698,44 ppm, sedangkan nilai IC<sub>50</sub> untuk vitamin C sebesar 14,89 ppm.

**Kata Kunci:** antioksidan, DPPH, ekstrak metanol, *Limonia acidissima*

## *Antioxidant Activity on Methanol Extract of Kawista (Limonia acidissima) Fruit with DPPH Method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)*

### ABSTRACT

The bark and pulp of kawista fruit (*Limonia acidissima*) contain chemical compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids which have potential as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of the bark and pulp of kawista fruit (*Limonia acidissima*). The extraction of kawista bark and pulp is by maceration with methanol. The extract was tested for its antioxidant activity by the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) using a UV-Vis spectrophotometer. Testing the antioxidant activity of the bark extracts and the pulp kawista fruit was carried out at a concentration of 100; 50; 25; 12.5; 6.25 ppm, vitamin C as a comparison with concentrations 50; 25; 12.5; 6.25; 3.13; 1.56 ppm. The result of antioxidant activity test showed that the bark extract and the pulp of kawista fruit extract had very weak antioxidant activity with IC<sub>50</sub> values of 233.16 and 698.44 ppm while IC<sub>50</sub> values for vitamin C is 14.89 ppm.

**Keywords:** antioxidant, DPPH, methanol extract, *Limonia acidissima*

## PENDAHULUAN

Pola kehidupan manusia saat ini telah mengalami perubahan seiring dengan perkembangan waktu. Pola hidup yang kurang sehat akan mengakibatkan penyakit degeneratif (Yuslianti, 2017). Penyakit degeneratif dapat berupa penyakit ginjal, diabetes melitus, asam urat, dan lain-lain (Muchtadi, 2013). Salah satu penyebab kondisi ini adalah adanya senyawa radikal bebas. Radikal bebas dapat terbentuk ketika suatu radikal bebas menyumbangkan satu elektronnya, atau bergabung dengan molekul nonradikal lainnya. Reaksi ini dapat terjadi secara terus-menerus sehingga mengakibatkan

terjadinya reaksi berantai. Reaksi berantai radikal bebas ini dapat diredam dengan adanya antioksidan, namun apabila jumlah senyawanya berlebih maka tubuh membutuhkan asupan antioksidan dari luar (Yuslianti, 2017). Asupan antioksidan dari luar disebut antioksidan eksogen (Pramesti, 2013). Antioksidan eksogen ini dapat diperoleh dari bahan alami, seperti ; buah, sayuran, biji-bijian dan antioksidan eksogen juga dapat diperoleh dari bahan sintetik seperti ; Propil Galat (PG), Butylated Hydroxyanisole (BHA), Butylated Hydroxytoluene (BHT) dan Tertbutyl Hydroquinone (TBHQ) (Yuslianti, 2017). Namun menurut hasil penelitian antioksidan sintetik ini dikhawatirkan dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi kesehatan manusia karena

bersifat karsinogenik. Berbagai studi mengenai BHA dan BHT menunjukkan bahwa komponen ini dapat menimbulkan tumor pada hewan percobaan pada penggunaan dalam jangka panjang (Katrin dan Bendra, 2015).

Sumber antioksidan alami yang berasal dari kulit buah dapat diperoleh dari kulit pisang raja (Jami'ah, 2018), kulit buah manggis, kulit buah pepaya dan antioksidan alami yang berasal dari daging buah dapat diperoleh dari buah purnawijaya (Purwanto, 2017), buah asam paya (Afriani, 2014), dan salah satunya adalah daging buah kawista (*Limonia acidissima*), tanaman ini merupakan tanaman buah tropis yang termasuk ke dalam suku Rutaceae atau jeruk-jerukan dimana buah ini mempunyai aroma yang khas, berbentuk bulat dengan kulit tebal dan keras. Buah kawista yang telah matang sempurna berwarna cokelat kemerahan dengan biji yang telah berkecambah. (Nurdiana, 2016). Umumnya daging buah kawista diolah menjadi menjadi sirup, dodol, selai, dan madumongso (Nugroho, 2012), namun pemanfaatan pada bagian kulit buah kawista masih sedikit.

Buah kawista mempunyai kandungan senyawa fitokimia berupa senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid yang memiliki aktivitas farmakologi sehingga dapat digunakan dalam pengobatan (Rini, et al, 2017). Pada buah kawista flavonoid memiliki aktivitas antioksidan alami dan telah dilakukan pengujian antioksidan dengan metode refluks menggunakan metode DPPH (Rustiah, 2018).

Hasil ekstraksi buah kawista dapat diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode DPPH merupakan metode analisis yang proses pengerjaannya sederhana, waktu pengerjaan singkat, dan sensitif terhadap sampel dalam konsentrasi kecil (Karadag, 2009). Perbandingan antioksidan yang dipakai adalah vitamin C (14,79) karena mempunyai aktivitas antioksidan yang paling kuat, dibanding dengan vitamin A (159,8) dan E (21,579) dilihat dari nilai IC50 (Lung, 2017). Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan nilai IC50 atau persen peredaman radikal dengan panjang gelombang 516 nm (Rustiah, 2018). Beberapa penelitian mengenai buah kawista (*Limonia acidissima* L.) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah kawista yang berasal dari kota Bima mengandung antioksidan yang lemah dengan IC50 sebesar 1275 ppm dengan menggunakan metode ekstraksi refluks (Rustiah, 2018). Umumnya pada buah kawista yang telah diteliti adalah bagian dagingnya, namun belum banyak penelitian pada kulitnya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, metode ini dipilih karena aman untuk senyawa yang tidak tahan panas yang terkandung dalam tanaman. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian mengenai Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

## METODOLOGI PENELITIAN

**Bahan.** Kulit dan daging buah kawista, metanol (*Brataco*), ammoniak (*Merck*), kloroform (*Merck*), asam klorida pekat (*Merck*), dragendorf, mayer, bouchardat, serbuk mg, amyl alkohol (*Merck*), feri klorida 1%, eter (*Merck*), akuades (*Jabeka Indojava*), natrium hidroksida 0,1 N, asam sulfat pekat (*Merck*), asam klorida 2N, asam anhidrid, DPPH (*Sigma-Aldrich*), metanol p.a (*SmartLab*), vitamin C (*CSPC*).

**Metode. Persiapan bahan dan pembuatan ekstrak.** Sampel dideterminasi di "*Herbarium Bogoriense*". Pengambilan sampel kulit dan daging buah kawista diambil dari Kota Bogor, Jawa Barat. Pembuatan ekstrak kulit dan daging buah kawista dilakukan dengan menimbang sebanyak 179 g serbuk daging buah kawista dimasukkan ke dalam wadah dan diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan (1 :10) dan menimbang serbuk kulit buah kawista dengan berat 246 g dimasukkan ke dalam wadah dan diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol dengan perbandingan (1 : 10) dan dimaserasi selama 1x24 jam kemudian filtrat disaring, dan dilanjutkan remaserasi sebanyak 1 kali pada kulit dan 2 kali pada daging buah kawista. Kemudian ekstrak dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*.

**Skrining fitokimia.** Skrining fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*), yang meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan terpenoid.

**Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.** Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara menimbang 5 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 100 ml dengan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk DPPH 50 ppm (Rustiah, 2018). Pembuatan larutan blanko, 1 ml metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 1 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Rustiah, 2018). Pembuatan larutan induk vitamin C 1000 ppm dengan menimbang vitamin C sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a ad sampai 25 ml lalu dikocok sampai homogen, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 25 ppm dengan cara dipipet 1 ml larutan vitamin C ditambahkan 39 ml metanol p.a. Pembuatan larutan vitamin C dengan konsentrasi 12,5 ; 6,25 ; 3,13 ; 1,56 ppm. Larutan 25 ppm dipipet sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam konsentrasi 12,5 ppm ke dalam botol lalu ditambahkan 5 ml metanol p.a lalu dikocok sampai homogen dan kemudian dilakukan pengenceran bertingkat. Masing-masing larutan seri konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 ml, metanol p.a 1 ml, DPPH 1 ml, dan dimasukkan ke dalam tabung. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C. Serapan diukur pada panjang

gelombang 515,5 nm. Pembuatan larutan induk sampel 1000 ppm. Sebanyak 50 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 50 ml metanol p.a dalam labu ukur 50 ml kemudian dikocok sampai homogen, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara dipipet 1 ml larutan sampel ditambahkan 9 ml metanol p.a. Pembuatan larutan seri bahan uji 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ppm. Larutan 100 ppm dipipet sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam konsentrasi 50 ppm ke dalam botol lalu ditambahkan 5 ml metanol p.a lalu dikocok sampai homogen dan kemudian dilakukan pengenceran bertingkat. Masing-masing larutan seri konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 ml, metanol p.a 1 ml, DPPH 1 ml, dan dimasukkan ke dalam tabung. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C. Penentuan aktivitas peredaman radikal bebas dari sampel uji menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis, Pengukuran dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit, nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak dihitung sebagai persen inhibisi (%) dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas peredaman radikal bebas adalah IC50 (*Inhibitory Concentration*), nilai IC50 merupakan konsentrasi bahan uji (ppm) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (Bahriul, 2014).

Rumus menentukan nilai IC50 sebagai berikut:

$$Y = a + bx$$

Keterangan : y = IC50, a = intersep, b = slop, x = konsentrasi sampel (ppm)

Pada saat % inhibisi = 50, maka rumus untuk menghitung nilai IC50 persamaannya menjadi (50 = a+bx)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Hasil Pengolahan bahan dan ekstrak.** Buah kawista hasil dari determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang dideterminasi merupakan tanaman buah kawista (*Limonia acidissima*) dari suku Rutaceae, sehingga penelitian dapat dilanjutkan. Kemudian simplisia yang telah kering diserbuk bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia sehingga luas permukaan partikel menjadi besar dan cairan penyari akan mudah melarutkan senyawa aktif dari simplisia, dan diperoleh berat serbuk kulit buah kawista sebesar 458 g dan berat serbuk daging buah kawista seberat 273 g dengan % rendemen untuk serbuk kulit 13,1% dan serbuk daging 24,8 %.

Penelitian ini menggunakan pelarut metanol karena dapat melarutkan metabolit sekunder yang larut dalam pelarut polar. Proses ekstraksi kulit dan daging buah kawista dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi dipilih karena cara yang digunakan sederhana, alat yang sederhana, dan aman untuk senyawa yang tidak tahan panas yang terkandung dalam buah kawista (Mukhriani, 2014).

Hasil proses ekstraksi kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) didapatkan ekstrak metanol kulit buah kawista sebanyak 27,81 g dan ekstrak metanol daging buah kawista sebanyak 29,35 g. Ekstrak yang diperoleh kemudian dihitung persen rendemen ekstraknya lalu didapatkan hasil untuk ekstrak metanol kulit buah kawista 6,07 % dan ekstrak metanol daging buah kawista 10,75 %. Berdasarkan Materia Medika Indonesia senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat semi polar akan terlarut dalam pelarut semi polar, senyawa yang bersifat non polar akan terlarut dalam pelarut non polar. Artinya nilai persen ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak yang dapat larut dalam pelarut polar dan sisanya adalah ampas. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang diperoleh semakin banyak (Purnamasari, 2010).

**Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Metanol Buah Kawista.** Pengujian penapisan fitokimia dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak metanol buah kawista. Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terdapat di dalam serbuk dan ekstrak metanol tersebut. Hasil uji penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak metanol buah kawista dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*)

| Identifikasi | Kulit Buah |         | Daging Buah |         |
|--------------|------------|---------|-------------|---------|
|              | Serbuk     | Ekstrak | Serbuk      | Ekstrak |
| Alkaloid     | +          | +       | +           | +       |
| Flavonoid    | +          | +       | +           | +       |
| Saponin      | +          | +       | +           | +       |
| Tanin        | +          | +       | -           | +       |
| Terpenoid    | +          | +       | +           | +       |

Keterangan : (+): adanya kandungan yang diujikan; (-): tidak adanya kandungan yang diujikan

Berdasarkan Tabel 1 hasil uji penapisan fitokimia menunjukkan bahwa serbuk kulit dan daging buah mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid, sedangkan tanin hanya terdapat pada kulit buah. ekstrak metanol buah kawista mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil ini sama dengan hasil pada penelitian Kusuma., et al., (2019). Hasil penapisan fitokimia alkaloid menunjukkan bahwa ekstrak, serbuk kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) diperoleh hasil positif dengan pereaksi Bouchardat yang menunjukkan terbentuk endapan berwarna coklat. Prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan karena adanya ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut (Sangi, et al., 2012). Untuk pengujian alkaloid dengan pereaksi Mayer hanya ekstrak daging kawista yang sesuai dengan penelitian Rini, et al.,2017.

Hasil penapisan fitokimia pada uji flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak metanol, serbuk kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) diperoleh hasil positif. Hal ini terlihat dari terbentuknya warna oranye, karena penambahan serbuk magnesium dan asam klorida akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid. Sehingga menimbulkan warna oranye-merah karena flavonoid memiliki stuktur benzopyron, jika bereaksi dengan asam mineral yaitu HCl. Selain itu penambahan sedikit serbuk Mg akan menghasilkan flavilium berwarna (Pangesti, et al., 2017).

Hasil penapisan saponin menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan serbuk kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) diperoleh hasil positif yang menunjukkan pembentukan busa stabil setinggi 1 sampai 10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Pangesti, et al., 2017). Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Rini., et al., (2017).

Hasil penapisan fitokimia tanin menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista serta serbuk kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) diperoleh hasil positif yang menunjukkan terbentuknya warna hijau kehitaman sedangkan untuk serbuk daging buah kawista diperoleh hasil negatif yang menunjukkan tidak terbentuknya warna hijau kehitaman. Penambahan FeCl<sub>3</sub> dalam pengujian ini akan menyebabkan golongan tanin terhidrolisis yang menghasilkan warna biru kehitaman dan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman (Pangesti, et al., 2017).

Hasil penapisan fitokimia terpenoid menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan serbuk kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) diperoleh hasil positif terpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat-ungu karena pada penambahan pereaksi Liebermann-Bouchard, molekul-molekul asam asetat anhidrat dan asam sulfat akan berikatan dengan senyawa terpenoid sehingga menghasilkan perubahan warna (Sangi, et al., 2012). Hasil ini sesuai dengan penelitian Rini, et al., 2017.

Senyawa yang memiliki sifat sebagai antioksidan di dalam buah kawista (*Limonia acidissima*) yaitu flavonoid dan tanin. Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Senyawa flavonoid bersifat antioksidan, antikanker, antispetik, dan antiinflamasi (Yuslianti, 2017) (Rustiah, 2018). Aktivitas antioksidan dari senyawa fenol terbentuk karena kemampuan senyawa fenol membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas. Gambaran pada umumnya yaitu, antioksidan senyawa fenol (PhH) dapat bereaksi dengan radikal bebas (ROO•) membentuk ROOH dan sebuah senyawa fenol radikal (Ph•) yang relatif tidak reaktif. Selanjutnya, senyawa fenol radikal (Ph•) dapat bereaksi kembali dengan radikal bebas (ROO•) membentuk senyawa yang bersifat tidak radikal (Dhianawaty, et al., 2015).

**Hasil uji aktivitas antioksidan**

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa absorbansi maksimal yang diberikan DPPH berdasarkan faktor eksternal, lingkungan, dan perlakuan yang berbeda. Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 50 ppm dalam metanol p.a dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 515,5 nm dimana panjang gelombang ini masuk dalam panjang gelombang yang digunakan dalam melakukan uji aktivitas antioksidan yaitu 515-520 nm (Kristiningrum, et al., 2018)

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) dan kontrol positif (vitamin C) serapan dari setiap larutan diukur pada panjang gelombang 515,5 nm sesuai dengan pengukuran panjang gelombang maksimum, hasil pengukuran blanko DPPH pada spektrofotometer UV-Vis diperoleh pada panjang gelombang sebesar 515,5 nm dengan absorbansi 0,528.

**Tabel 2.** Data Konsentrasi, Abs, % Inhibisi, Linearitas, dan IC<sub>50</sub> Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*)

| Konsentrasi (ppm) | Abs   | % Inhibisi | Linearitas                                      | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|-------------------|-------|------------|---|------------------------|
| 6,25              | 0,521 | 1,33       | y = 0,2092x + 1,2463<br>R <sup>2</sup> = 0,9902 | 233,16                 |
| 12,5              | 0,502 | 4,54       |   |                        |
| 25                | 0,490 | 7,19       |   |                        |
| 50                | 0,466 | 11,74      |   |                        |
| 100               | 0,412 | 21,96      |   |                        |

**Tabel 3.** Data Konsentrasi, Abs, % Inhibisi, Linearitas, dan IC<sub>50</sub> Ekstrak Metanol Daging Buah Kawista (*Limonia acidissima*)

| Konsentrasi (ppm) | Abs   | % Inhibisi | Linearitas                             | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|-------------------|-------|------------|--|------------------------|
| 6,25              | 0,522 | 1,13       | $y = 0,07x + 1,1092$<br>$R^2 = 0,9869$ | 698,44                 |
| 12,5              | 0,516 | 2,27       |  |                        |
| 25                | 0,513 | 2,84       |  |                        |
| 50                | 0,502 | 4,92       |  |                        |
| 100               | 0,486 | 7,95       |  |                        |

**Tabel 4.** Data Konsentrasi, Abs, % Inhibisi, Linearitas, dan IC<sub>50</sub> Vitamin C

| Konsentrasi (ppm) | Abs   | % Inhibisi | Linearitas                             | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|-------------------|-------|------------|--|------------------------|
| 1,56              | 0,455 | 13,82      | $y = 2,942x + 6,1895$<br>$R^2 = 0,975$ | 14,89                  |
| 3,13              | 0,451 | 14,58      |  |                        |
| 6,25              | 0,432 | 18,18      |  |                        |
| 12,5              | 0,273 | 48,29      |  |                        |
| 25                | 0,113 | 78,59      |  |                        |

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan vitamin C sebagai pembanding. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan salah satu pengujian untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkal radikal bebas. Metode DPPH dipilih karena metode yang sederhana, memerlukan waktu pengerjaan yang singkat dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak alam dan sensitif terhadap sampel dalam konsentrasi kecil (Karadag, 2009), serta pembanding yang digunakan adalah vitamin C, karena vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin E (Lung, 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan pada ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima*) karena pemanfaatan buah kawista sebagai antioksidan alami masih sedikit serta pengujian aktivitas antioksidan umumnya hanya dilakukan pada bagian daging buah kawista saja. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista menggunakan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25 ppm dan pada vitamin C dengan konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56 ppm. Konsentrasi yang berbeda-beda pada ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui tingkat peredaman sebagai akibat adanya senyawa antioksidan. Pada ketiga larutan uji dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi, makin kecil nilai absorbansinya, hal ini disebabkan oleh semakin banyak substrat yang dapat bereaksi atau berikatan dengan elektron-elektron dari DPPH sehingga nilai absorbansi semakin kecil. Jika semua elektron DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning karena adanya aktivitas antioksidan (Rustiah, 2018). Berdasarkan nilai absorbansi tersebut dapat disimpulkan bahwa konsentrasi berbanding terbalik dengan nilai absorbansi, serta pada ketiga larutan uji dapat dilihat bahwa semakin

besar persen inhibisi yang diperoleh maka akan mempengaruhi nilai linearitas yang berhubungan dengan semakin kecilnya nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh, dikarenakan apabila nilai persen inhibisi semakin besar, menandakan bahwa sampel uji dapat meredam radikal bebas dari DPPH, yang berarti sampel menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan dari larutan uji

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 233,16 ppm, ekstrak metanol daging buah kawista (*Limonia acidissima*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 698,44 ppm, dan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 14,89 ppm. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak metanol kulit dan daging buah kawista mempunyai aktivitas antioksidan atau mampu menangkal radikal bebas dalam kategori sangat lemah yaitu direntang 200 sampai 1000 ppm (Bahriul,2014). Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Rustiah, et al., 2018, ekstrak daging buah kawista yang diekstraksi dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1275 ppm. Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan yang diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol lebih kuat dibandingkan metode refluks dengan pelarut etanol, hal ini disebabkan karena adanya senyawa flavonoid dan tanin yang tidak tahan panas yang terkandung dalam ekstrak metanol buah kawista yang dapat rusak apabila dilakukan ekstraksi dengan metode refluks. Selain itu pelarut metanol juga lebih polar jika dibandingkan dengan etanol, sehingga senyawa yang tersari juga lebih banyak dibandingkan menggunakan pelarut etanol.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kawista (*Limonia acidissima*) yang telah diuji aktivitas antioksidannya diperoleh IC50 sebesar 233,16 ppm yang tergolong antioksidan sangat lemah. Ekstrak metanol daging buah kawista (*Limonia acidissima*) yang telah diuji aktivitas antioksidannya diperoleh IC50 sebesar 698,44 ppm yang tergolong antioksidan sangat lemah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, Sari. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Daging Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) Dengan Metode DPPH Dan Tiosianat. *Jurnal JKK*, 3(1), 2303-1077, 49-56.
- Bahriul, Putrawan., Rahman, Nurdin., Wahid, Anang. (2014). Uji Akitivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Akad. Kim*, 3(3), 2302-6030, 144-149.
- Jami'ah, S.T. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 4(1), 2442-6032, 33-38.
- Katrin., Bendra, Atika. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun Premna oblongata Miq. *Jurnal Pharm Sci Res*, 2(1), 2407-2354, 21-31.
- Karadag. A., B, Ozcelik., S, Saner. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capcitoes. *J Food Analytical Methods*. 2 (1). 41-60.
- Kristiningrum, Nia. (2018). Studi Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangga Bachang (*Mangifera feotida* L.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek III, 2527-533X, 40-46.
- Kusuma, I. M., Veryanti, P. R., & Saragih, E. T. D. (2019). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) Sebagai Anti Asam Urat Secara In Vivo Pada Mencit Jantan. *Sainstech Farma*, 12(2), 65-69.
- Lung, J.K. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmaka*, 15(1), 53-59.
- Muchtadi, Deddy. (2013). *Antioksidan & Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta.
- Mukhriani. (2014). Ekstrasi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361-367.
- Nurdiana, Zulfa., Ariyanti, Nunik., Hartana, Alex. (2016). Variasi Morfologi dan Pengelompokan Kawista (*Limonia acidissima* L.) di Jawa dan Kepulauan Sunda Kecil. *Jurnal Floribunda*, 5(4), 144-156.
- Nugroho, I.A., Dorly., Alex, H. (2011). Keseragaman Kawista (*Limonia adissima* L.) di Kabupaten Rembang. *Prodising Seminar Nasional XXI PBI*.
- Purwanto, Didit. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (Kopsia Arborea Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Jurnal Riset Kimia Kovalen*, 3(1), 2477-5398, 24-32.
- Purnamasari., Gessy. (2010). Perbandingan Daya Antioksidan Infusa Teh Hijau dari Daerah Wonosobo dan Daerah Karanganyar Dengan Menggunakan Metode Deoksiribosa. *Skripsi: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Darma Yogyakarta*.
- Pramesti, Rini. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Caulerpa serrulata Dengan Metode DPPH. *Buletin Osenagrafi Marina*, 2, 2809-3507, 7-15.
- Rini, A.A. & Suprianto. (2018). Uji Fitokimia Dan Antibakteri Ekstrak Etanol Bua Kawista (*Limonia acidissima* L.) Pada Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*, 236-241.
- Rustiah, Waodeh., & Umriani, Nur. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Indo. J. Chem. Res.*, 6(1), 22-25.
- Sangi, Meiske., Momuat, Lidya., Kumaunang. (2012). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127-133.
- Yulistianti, E.R. (2017). Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Yogyakarta: Deepublish.