

# AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR VITAMIN C PERASAN DAGING BUAH LEMON (*Citrus limon* (L.) Osbeck) MENGGUNAKAN METODE ABTS

Anita Dwi Puspitasari<sup>1)</sup>, Emy Susanti<sup>2)</sup>, Ana Khustiana<sup>3)</sup>

<sup>1) 2) 3)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang, Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan, Semarang

Telp. 024-8505681. Email: <sup>1)</sup>anita@unwahas.ac.id

## Abstrak

Buah lemon (*Citrus limon*) diketahui mengandung senyawa vitamin C yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penetapan kadar vitamin C pada perasan daging buah lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) menggunakan metode ABTS.

Daging buah lemon diperas dan diambil sarinya sehingga diperoleh perasan daging buah lemon. Perasan daging buah lemon diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum 730,6 nm sehingga diperoleh nilai IC<sub>50</sub> yang kemudian dianalisis menggunakan persamaan regresi linier ( $Y=Bx+A$ ). Identifikasi adanya senyawa vitamin C menggunakan pereaksi KMnO<sub>4</sub> dan penetapan kadar vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perasan daging buah lemon memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena berada pada rentang 50 – 100 ppm yaitu nilai IC<sub>50</sub> sebesar 76,83 ppm, perbandingan vitamin C memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 7,81 ppm, perasan daging buah lemon mengandung senyawa vitamin C dengan kadar vitamin C sebesar 0,66 mg/g sampel.

**Kata kunci:** ABTS, Antioksidan, *Citrus limon*, Vitamin C.

## Abstract

*Citrus limon* be familiar to contain vitamin C has the potential as an antioxidant. This study aims to the antioxidant activity and determination vitamin C levels of citrus limon juice use ABTS method.

*Citrus limon* flesh squeezed and taken the lemon juice. Antioxidant activity of the lemon juice tested use ABTS with visible spectrophotometry, maximum long wave 730,6 nm. So, it can obtained IC<sub>50</sub> then it is analyzed use linier regression equation ( $Y = Bx + A$ ). Identification of compound vitamin C use KMnO<sub>4</sub> reagent and determination vitamin C level use UV spectrophotometry method.

The result of this research shows that the lemon juice has a strong antioxidant activity because it is in the range of 50 – 100 ppm has IC<sub>50</sub> value 76,83 ppm, while the comparison of vitamin C has IC<sub>50</sub> value 7,81 ppm, lemon juice contain of compound vitamin C 0,66 mg/g sample.

**Keywords:** ABTS, Antioxidant, *Citrus limon*, Vitamin C.

## 1. PENDAHULUAN

Masyarakat sering mengkonsumsi buah lemon impor yang dibeli di supermarket karena dipercaya memiliki kualitas yang lebih bagus. Buah lemon yang dipilih biasanya buah yang masih segar, memiliki permukaan kulit yang bagus, berwarna kuning dan yang memiliki ukuran yang besar. Beberapa penelitian mengatakan bahwa buah lemon memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meredam radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit kronis dan degeneratif seperti stroke, asma, diabetes melitus, radang usus, penyumbatan pembuluh darah di jantung, parkinson, dan penuaan dini (Ardhie, 2011).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara

mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal bebas sehingga menjadikannya lebih stabil (Muhammad, 2009). Antioksidan sintesis yang sering digunakan oleh masyarakat yaitu BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksil Toluen*) tetapi pada penggunaannya memiliki beberapa efek samping yaitu merusak paru-paru dan hati yang bersifat karsinogenik (Sun dan Fukuhara., 1997; Hirose *et al.*, 1998).

Potensi antioksidan menggunakan metode DPPH didapatkan Nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak kulit buah lemon lokal sebesar 1002.57 ppm dan lemon impor 269.38 ppm, sedangkan untuk perasan buah lemon lokal sebesar 19205.96 ppm dan lemon impor 5388.58 ppm (Krisnawan dkk., 2017). Berbagai jenis Jeruk mengandung vitamin C sebesar ±60 mg/100gram sedangkan kandungan asam sitrat dalam jeruk lemon sebesar 48,6 g/Kg (Astawan, 2008).

Pengujian aktivitas antioksidan pada daun kelor menggunakan metode ABTS lebih baik daripada metode DPPH karena metode ABTS memiliki kesensitifan yang tinggi dimana nilai aktivitas antioksidan pada uji DPPH sebesar 85,4% dan 92,12% pada uji ABTS (Fitriana dkk., 2015), dapat dioperasikan pada range pH yang besar serta mudah dan cepat berkorelasi terhadap aktivitas antioksidan dalam sistem biologis (Arts *et al.*, 2004).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan perasan daging buah lemon impor (*Citrus limon* (L.) Osbeck) menggunakan metode ABTS dan penetapan kadar vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV.

## 2. METODE

### Alat penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (Pyrex), timbangan elektrik (Ohaus), yellow/blue tip, mikropipet (Socorex Swiss), pipet tetes, alat pemeras jeruk, tissue, aluminium foil, sendok tanduk, batang pengaduk, kuvet, spektrofotometri UV 1800 (Shimadzu).

### Bahan penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu buah lemon impor yang diperoleh di supermarket Superindo Semarang, ABTS (2,2-Azinobis(3-Ethylbenzothiazoline)-6-Sulfonic Acid) p.a (Merck), kalium persulfat ( $K_2S_2O_8$ ) (Merck), vitamin C (Brataco), etanol p.a (Merck), aquadest, etanol 70% (Brataco), kalium permanganat ( $KMnO_4$ ) p.a (Merck).

### Metode Penelitian

#### Pengumpulan bahan

Buah lemon yang digunakan di impor dari Australia yang diperoleh di supermarket Superindo, Semarang. Buah lemon yang dipilih memiliki kriteria yaitu buah yang segar, berwarna kuning, memiliki permukaan kulit yang bagus, dan yang berukuran besar.

#### Pembuatan perasan daging buah lemon

Satu buah lemon dengan berat 100 gram dicuci dengan air mengalir, setelah itu ditiadakan, lalu buah lemon dipotong menjadi 2 bagian. Kemudian daging buah lemon diperas menggunakan alat pemeras jeruk, airnya ditampung dalam *beaker glass* dan disaring menggunakan kertas saring filtratnya disimpan dalam *beaker glass*. (Pradani, 2012).

### Identifikasi senyawa vitamin C

Perasan daging buah lemon 1 mL dan standar vitamin C 1 mL dalam masing-masing tabung di tambahkan 1 mL aquadest, dan di tambahkan 3 tetes  $KMnO_4$  0,1 %. Jika berwarna coklat menunjukkan adanya vitamin C (Auterhoff, 1987).

### Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

Larutan ABTS 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambah dengan 1 mL perasan daging buah lemon dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, dan 80 ppm kemudian didiamkan di tempat gelap selama 30 menit (*operating time*). Serapan ABTS terhadap perasan daging buah lemon dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 730,6 nm dan dihitung % daya antioksidan perasan daging buah lemon terhadap radikal bebas ABTS (Fardah, 2019).

$$\text{Daya Antioksidan (\%)} = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100\%$$

#### Keterangan :

$A_o$  : Absorbansi larutan kontrol

$A_s$  : Absorbansi larutan sampel setelah ditambahkan ABTS

#### Penetapan kadar vitamin C

Perasan daging buah lemon dengan konsentrasi 500.000 ppm diambil 1 mL dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas kemudian dihomogenkan sehingga konsentrasi yang di peroleh 10.000 ppm Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 265,2 nm. Setiap penentuan kadar sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Kadar vitamin C diperoleh dari persamaan regresi linier standar vitamin C ( $Y = Bx + A$ ) kemudian dihitung menggunakan rumus (Azizah dkk, 2017):

Kadar vitamin C =

$$\frac{x \times \text{pengenceran} \times \text{volume total sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$$

#### Analisa data

Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dari persamaan regresi linier konsentrasi larutan uji dengan % daya antioksidan. Kadar vitamin C diperoleh dari persamaan regresi linier standar vitamin C ( $Y = Bx + A$ ) dimana  $Y$  = Absorbansi,  $B$  = Slope,  $X$  = kadar, dan  $A$  = intersep. Kadar vitamin C dalam perasan daging buah lemon (mg/g) diperoleh dengan mengalikan nilai  $x$  dengan faktor pengenceran

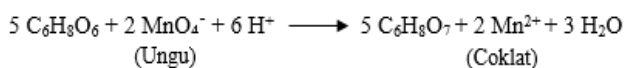
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Pembuatan perasan daging buah lemon

Satu buah lemon impor dengan berat 100 g diperoleh perasan daging buah lemon sebanyak 19 mL berwarna kuning.

#### Identifikasi senyawa vitamin C

Uji identifikasi senyawa vitamin C pada perasan daging buah lemon dilakukan dengan menambahkan pereaksi  $\text{KMnO}_4$  0,1 %. Hasil uji identifikasi senyawa vitamin C dari perasan daging buah lemon menunjukkan terdapat kandungan vitamin C dengan indikasi perubahan warna dari kuning menjadi coklat. Mekanisme reaksi senyawa vitamin C dengan  $\text{KMnO}_4$  dapat dilihat pada Gambar 1.

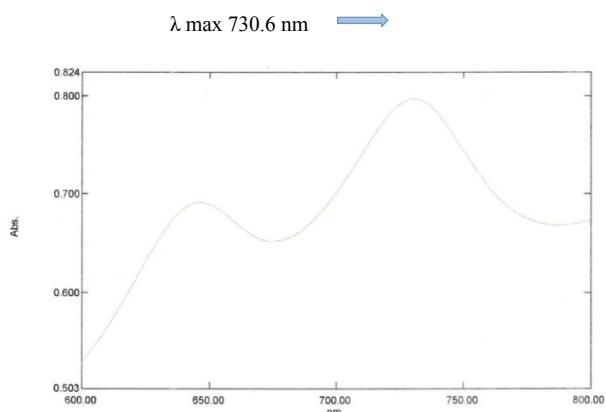


**Gambar 1.** Mekanisme reaksi vitamin C dengan  $\text{KMnO}_4$

Penambahan  $\text{KMnO}_4$  pada larutan uji menyebabkan terjadinya reaksi reduksi dan oksidasi antara vitamin C dengan  $\text{KMnO}_4$  dimana  $\text{KMnO}_4$  berperan sebagai oksidator dan vitamin C yang terdapat pada buah lemon berperan sebagai reduktor.  $\text{MnO}_4^-$  berwarna ungu akan tereduksi oleh vitamin C menjadi  $\text{Mn}^{2+}$  sehingga terbentuk endapan coklat.

#### Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

Penentuan panjang gelombang maksimum dibaca pada area puncak kurva tertinggi karena puncak kurva tertinggi merupakan daerah yang paling sensitif. Blanko yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol p.a. Hasil penentuan panjang gelombang ABTS dapat lihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Panjang gelombang maksimum ABTS

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 730,6 nm. Hasil pengukuran yang diperoleh sama dengan hasil Mohamed *et al.*, (2016)

yaitu diperoleh pengukuran panjang gelombang maksimum 730 nm sehingga bisa dilakukan pembacaan absorbansi.

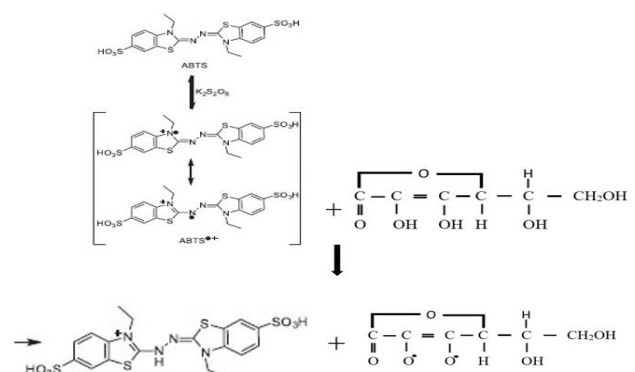
*Operating time* merupakan waktu pengukuran absorbansi yang stabil antara reaksi larutan ABTS dengan vitamin C dengan tidak adanya penurunan absorbansi. Waktu pengukuran absorbansi dihitung ketika penambahan larutan ABTS pada larutan vitamin C. Hasil *operating time* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** *Operating time* larutan ABTS dengan vitamin C

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,742
5	0,745
10	0,741
15	0,739
20	0,737
25	0,732
30	0,732
35	0,732
40	0,731
45	0,730
50	0,728
55	0,727
60	0,726

Absorbansi stabil dari larutan ABTS dengan vitamin C pada penelitian ini terjadi pada menit ke-30. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fardah (2019) yang menyatakan bahwa *operating time* larutan ABTS dan vitamin C terjadi pada pada menit ke-30.

Reaksi peredaman radikal bebas oleh vitamin C dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Reaksi peredaman radikal bebas oleh vitamin C

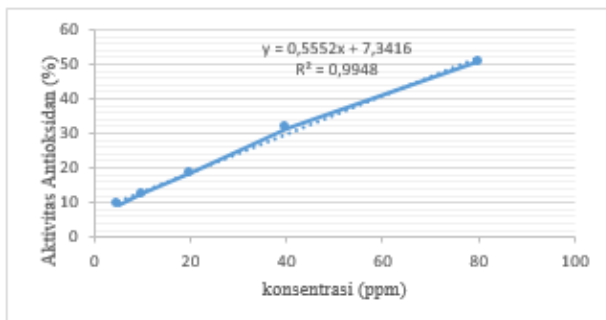
ABTS dioksidasi oleh kalium persulfat sehingga menghasilkan kation radikal  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Kation

radikal ABTS distabilkan dengan vitamin C dengan mendonorkan elektron kepada radikal bebas sehingga kation radikal ABTS stabil, sedangkan vitamin C teroksidasi menjadi *semidehydroascorbut acid* yang relatif stabil. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan perasan daging buah lemon dengan metode ABTS dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil pengukuran aktivitas antioksidan perasan daging buah lemon dengan metode ABTS

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi Sampel	% aktivitas antioksidan	IC <sub>50</sub> (ppm)
5		0,963	9,407	76,83
10		0,932	12,324	
20	1,063	0,865	18,627	
40		0,727	31,609	
80		0,523	50,800	

Kurva persamaan regresi linier  $Y = Bx + A$  antara konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) dari perasan daging buah lemon dapat dilihat pada Gambar 4.



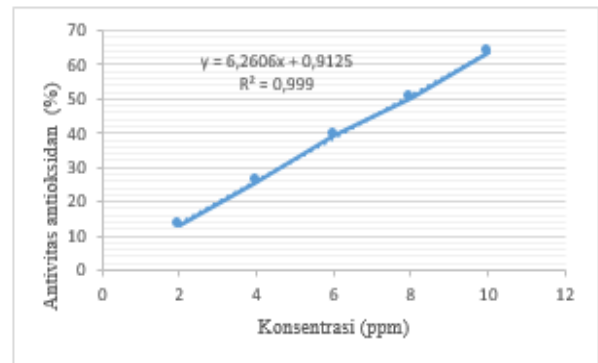
**Gambar 4.** Kurva persamaan regresi linier % aktivitas antioksidan Perasan daging buah lemon

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C dengan metode ABTS dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C dengan metode ABTS

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi vitamin C	% aktivitas antioksidan	IC <sub>50</sub> (ppm)
2		0,924	13,076	7,81
4		0,786	26,058	
6	1,063	0,644	39,417	
8		0,529	50,235	
10		0,387	63,594	

Kurva persamaan regresi linier  $Y = Bx + A$  antara konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) dari vitamin C dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Kurva persamaan regresi linier % aktivitas antioksidan vitamin C

Nilai IC<sub>50</sub> perasan daging buah lemon yaitu 76,83 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa perasan daging buah lemon mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Suatu senyawa dikatakan berpotensi sebagai antioksidan kuat jika memiliki nilai IC<sub>50</sub> 50 – 100 ppm (Blois, 1958), sedangkan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu sebesar 7,81 ppm. Hal ini menunjukkan vitamin C merupakan senyawa sintesis murni yang sangat kuat sebagai antioksidan karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 50 ppm (Blois, 1958).

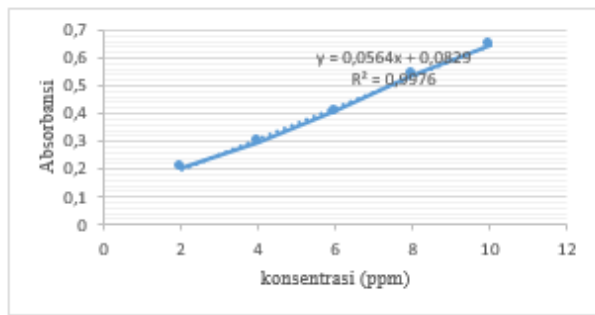
### Penetapan kadar vitamin C

Penetapan kadar vitamin C pada perasan daging buah lemon dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV karena pada struktur vitamin C terdapat gugus kromofor dan auksokrom sehingga dapat dibaca spektrofotometri UV (Dachriyanus, 2004). Panjang gelombang yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 265,2 nm kemudian di tentukan kurva baku vitamin C. Hasil absorbansi kurva baku vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil absorbansi kurva baku vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi Linier
2	0,205	Y=0,0564x + 0,0829 R=0,9976
4	0,301	
6	0,410	
8	0,540	
10	0,649	

Persamaan regresi linier kurva baku vitamin C dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Persamaan regresi linier kurva baku vitamin C

Hasil penetapan kadar vitamin C pada perasan daging buah lemon dapat dilihat pada Tabel 5

**Tabel 5.** Penetapan kadar vitamin C pada perasan daging buah lemon

Replikasi	Nilai absorpsi	Pengenceran (f)	Kadar vitamin C tiap gram sampel (mg/gram)	Rata-rata kadar vitamin C tiap gram sampel (mg/gram)
1	0,463	50	0,674	0,66±0,034
2	0,433	50	0,621	
3	0,469	50	0,685	

Hasil penetapan kadar vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV pada perasan daging buah lemon impor yaitu 0,66 mg/g perasan buah lemon. Buah lemon yang digunakan pada penelitian ini tidak dipetik secara langsung dari tanaman buah lemon yang dibudidayakan pada tempat tertentu sehingga dapat memberikan hasil yang berbeda. Penelitian sebelumnya sudah dilakukan uji aktivitas buah lemon menggunakan metode DPPH namun pada penelitian ini tidak dilakukan perbandingan 2 metode antara DPPH dan ABTS pada sampel yang sama.

#### 4. SIMPULAN

Perasan daging buah lemon memiliki aktivitas antioksidan yang dapat diuji menggunakan metode ABTS. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh berada pada rentang 50 – 100 ppm yaitu sebesar 76,83 ppm sehingga aktivitas antioksidan dikatakan kuat. Penetapan kadar vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV diperoleh 0,66 mg/g sampel perasan daging buah lemon.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arts, J.T.J., Dalingga, S.J., Voss P.H., Haen, R.M.M., 2004, *A New Approach to Assess the Total Antioxidant Capacity Using the TEAC Assay*, *J Food Chemistry*, 88, 567-570.
- Ardhie, A.M., 2011, *Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan*, *Medicinus* 24, 1.
- Astawan, M., 2008, *Khasiat Warna-Warni Makanan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Autorhoff, H, dan Kovar, K.A, 1987, *Identifikasi Obat*, ITB, Bandung.
- Azizah, Z., Zulharmita, Zulfian, E., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Vitamin C Ekstrak Buah Naga Merah Keunguan (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) Secara Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Farmasi Higea*, 1, 9.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200.
- Budiana, N.S., 2013, *Buah Ajaib Tumpas Penyakit*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas, Sumatera Barat.
- Fardah, U, J., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Air Perasan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) Dan Penetapan Kadar Flavonoidnya. *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., dan Ersam T., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*, Bandung.
- Guclu, K., Altun, M., Ozyurek, M., Karademir, S.E. and Apak, R. (2006). Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulfited-dried Malatya apricot (*Prunus Armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin Methods. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 41, 76-85.
- Hirose, M., Takesada, Y., Tanaka, H., Tamano, S., Kato, T., and Shirai, T., 1998, Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination and

modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model, *Carcinogenesis* **19**, 207–212.

Krisnawan, A.H., Budiono, R., Sari., D.R., dan Salim, W., 2017, Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus lemon*) Lokal dan Impor, *Prosiding Seminar Nasional*

Muhammad, I., 2009, Efek Antioksidan Vitamin C Terhadap Tikus (*Rattus norvegicus* L) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Mohamed, H. B., Fiori, L., Duba, K., Abdelgawad, H., Tlili, I., Tounekti, T., and Zrig, A., 2016, Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.)

seed oils extracted by supercritical CO<sub>2</sub> and organic solvent, *Food Science and Technology* **74**, 557- 562.

Pradani, N.R., 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Purut (*Citrus aurantifolia* S.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro, *Skripsi*, Jurusan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.

Sun, B., and Fukuhara, M., 1997, Effects of co-administration of butylatedhydroxytoluene, butylatedhydroxyanisole and flavonoid on the activation of mutagens and drug metabolizing enzymes in mice, *Toxicology* **122**, 61–72.