

BAB 5

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktifitas antioksidan pada ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) pada setiap konsentrasinya. Terdapat 10 perlakuan konsentrasi ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) pada penelitian ini yaitu konsentrasi 12 μg , 24 μg , 48 μg , 48 μg , 72 μg , 96 μg , 120 μg , 144 μg , 168 μg , 192 μg , dan 216 μg .

Berdasarkan tabel 4.3 dan tabel 4.4 diperoleh hasil bahwa konsentrasi (μg) dengan % inhibisi pada ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) dan Vitamin C, dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan % inhibisi pada setiap kenaikan konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kenaikan peningkatan peredaman radikal bebas. Hubungan tersebut diberikan oleh persamaan regresi linier sampel uji seperti yang tersedia pada gambar 4.1. dan gambar 4.2. Nilai Rata-rata yang diperoleh pada regresi konsentrasi (μg) dengan % inhibisi pada sampel uji ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) di atas 0,900 menunjukkan bahwa kurva tersebut linier.

Parameter yang umum digunakan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada suatu ekstrak bahan adalah dengan menentukan nilai *Inhibitor concentration* 50% (IC50) bahan antioksidan tersebut. IC50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50% (Wulan et al., 2019). Nilai IC50 diperoleh dari regresi linier dengan

mengganti nilai y dengan 50 dari persamaan $y = a + bx$. Semakin kecil nilai IC50, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan.

Nilai IC50 <50 μg menunjukkan kekuatan antioksidan sangat aktif, nilai IC50 50-100 μg menunjukkan kekuatan antioksidan aktif, nilai IC50 101-250 μg menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, nilai IC50 250-500 μg menunjukkan kekuatan antioksidan lemah, dan nilai IC50 >500 μg menunjukkan kekuatan antioksidan tidak aktif (Wijayanti et al., 2018). Ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) mempunyai IC50 sebesar 102,78 μg sehingga dapat dikategorikan kekuatan antioksidannya sedang.

DPPH adalah radikal bebas yang stabil pada suhu kamar yang berwarna ungu. Apabila DPPH direaksikan dengan senyawa peredam radikal bebas, misalnya flavonoid maka intensitas warna ungu akan berkurang dan bila senyawa peredam radikal bebas yang bereaksi jumlahnya besar, maka DPPH dapat berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna ini dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Nurisyah et al., 2020)

Pada sampel yang mengandung senyawa antioksidan, semakin tinggi konsentrasi berarti semakin banyak pula senyawa yang akan menyumbangkan elektron atau atom hidrogennya kepada radikal bebas yang turut menyebabkan pemudaran warna pada

DPPH. DPPH yang awalnya berwarna ungu tua, jika direaksikan dengan senyawa antioksidan dalam jumlah besar akan berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna DPPH ini terkait pula dengan energi yang dimiliki radikal bebas DPPH. Saat berada dalam bentuk radikal, DPPH cenderung tidak stabil (reaktif) dan memiliki energi yang besar karena selalu bereaksi mencari pasangan elektronnya, namun setelah mendapat pasangan elektronnya, DPPH menjadi lebih stabil (energinya rendah).

Ekstrak Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis*) yang direaksikan dengan DPPH akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Setelah itu, ada rentang waktu masa inkubasi sampel yang bercampur dengan reagen DPPH selama ± 30 menit yang menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Prasetyo et al., 2021). Setelah itu, sampel harus segera diukur agar didapatkan nilai absorbansi dari masing-masing sampel.

Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh senyawa antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dan dicatat dengan spektrofotometer. Aktivitas antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis*) ini masih tergolong sedang karena nilai IC₅₀ dari ekstrak tersebut diantara 100 – 150 μg .

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan memipet masing-masing larutan uji kemudian dimasukkan ke dalam microplate, ditambahkan Metanol PA

hingga volume 100 μg , dan ditambahkan 100 μg larutan DPPH, kemudian didiamkan diruangan gelap selama 30 menit. Tujuan dilakukan penyimpanan diruangan gelap ini agar tidak ada radikal yang terbentuk selain radikal bebas DPPH yang sengaja ditambahkan atau bereaksi dengan sampel. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena Vitamin C berfungsi sebagai senyawa murni yang berasal peredaman radikal bebas DPPH ditandai dengan nilai IC50 (50% *Inhibitory Concentration*).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Paat et al., 2022) di dapatkan hasil nilai IC50 pada ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus lemon L.*) sebesar 14,41 μg yang menunjukkan kekuatan antioksidan sangat aktif, sedangkan pada ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) di dapatkan hasil 102,78 μg yang kekuatan antioksidan yang sedang. Dan berdasarkan penelitian dapat diketahui bahwa ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan Vitamin C sebagai kontrol positifnya dengan nilai IC50 sebesar 1,31 μg . Walaupun demikian, ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinensis*) memiliki kekuatan antioksidan yang sedang, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan.