

# Aktivitas Peredaman Radikal ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) oleh Ekstrak Etanol Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* L.Merr)

Dwi Endah Kusumawati<sup>1\*</sup>, Muhammad Dhiya'ul Chaq<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Free radicals trigger various degenerative diseases, making the exploration of natural antioxidants essential. Honey pineapple (*Ananas comosus* L.) peel, often considered agricultural waste, contains bioactive compounds such as phenolics and flavonoids with potential antioxidant activity. This study aims to quantify the antioxidant activity of honey pineapple peel ethanolic extract, expressed as the IC<sub>50</sub> value. **Methods:** Honey pineapple peel powder was macerated using 70% ethanol. The antioxidant activity was evaluated using the ABTS cation radical assay. Extract concentrations (10, 20, 30, 40, and 50 µg/mL) were mixed with ABTS solution, and absorbance was measured at 747 nm using a UV-Vis spectrophotometer. **Results:** The IC<sub>50</sub> value for Vitamin C was 6.173 µg/mL, whereas the honey pineapple peel extract yielded an IC<sub>50</sub> of 61.476 µg/mL. This indicates that the antioxidant potency of the extract is 9.958 times lower than that of Vitamin C. **Conclusion:** The ethanolic extract of honey pineapple peel exhibits antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> of 61.476 µg/mL. Since the inhibition percentages within the tested range did not reach 50%, this value was determined through linear regression extrapolation. Future studies should employ higher concentration ranges to confirm the inhibitory effectiveness.

**Keywords:** ABTS; Antioxidant; Extract; Honey Pineapple Peel

## PENDAHULUAN

Tanaman nanas madu (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan di Indonesia yang pemanfaatannya masih didominasi pada bagian daging buah, sementara bagian kulitnya sering kali hanya berakhir sebagai limbah organik. Berdasarkan perspektif biologi farmasi, kulit buah merupakan jaringan protektor yang memiliki mekanisme pertahanan kimiawi lebih kompleks dibandingkan daging buahnya. Kulit nanas madu dilaporkan mengandung berbagai metabolit sekunder potensial, terutama golongan senyawa fenolik, flavonoid, dan enzim bromelain.<sup>1,2</sup> Senyawa polifenol pada kulit nanas memiliki gugus hidroksil yang berperan penting dalam mendonorkan atom hidrogen atau

elektron untuk menstabilkan radikal bebas, sehingga pemanfaatan limbah ini menjadi sediaan bernilai ekonomi tinggi merupakan langkah strategis dalam konsep *green pharmacy*.

Aktivitas antioksidan pada kulit nanas terutama dikaitkan dengan tingginya kandungan senyawa fenolik dan flavonoid di dalamnya. Senyawa-senyawa ini dikenal mampu meredam radikal bebas, sehingga dapat mencegah stres oksidatif dan penyakit-penyakit terkait. Potensi antioksidan dari kulit nanas dapat dievaluasi menggunakan berbagai metode pengujian, di mana uji peredaman radikal kation ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) menjadi salah satu metode yang paling umum digunakan.<sup>2,4,5</sup> Pengujian ini mengukur kemampuan antioksidan dalam menetralkan

\*Correspondence: [dwiendahkusumawati@unissula.ac.id](mailto:dwiendahkusumawati@unissula.ac.id)

<sup>1</sup>Universitas Islam Sultan Agung, Indonesia

kation radikal ABTS, sehingga memberikan gambaran mengenai kapasitas antioksidan total dari sampel tersebut.

Uji peredaman radikal kation ABTS digunakan secara luas karena kemudahan dan efektivitasnya dalam mengukur aktivitas antioksidan. Metode ini melibatkan pembentukan kation radikal ABTS melalui proses oksidasi ABTS dengan agen pengoksidasi (oksidator), seperti kalium persulfat. Keberadaan antioksidan dalam sampel akan mereduksi kation radikal ABTS, yang menyebabkan penurunan nilai absorbansi yang diukur secara spektrofotometri.<sup>5</sup> Penurunan absorbansi ini berbanding lurus dengan kapasitas antioksidan yang dimiliki oleh sampel tersebut. Namun demikian, akurasi dari uji ABTS dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk pH, jenis pelarut yang digunakan, serta keberadaan zat-zat pengganggu.<sup>6</sup>

Berdasarkan pertimbangan tersebut, penelitian ini bertujuan mengkuantifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit nanas madu yang dinyatakan dalam nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration 50%*) yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas. Data yang dihasilkan diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah yang komprehensif mengenai potensi kulit nanas madu sebagai sumber antioksidan alami. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk memperkuat data riset sebelumnya dan memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan produk farmasi berbasis limbah buah di masa depan.

## **METODE**

### **Bahan dan Alat**

**Bahan:** Kulit nanas madu (*Ananas comosus* L.), etanol 70%, reagen ABTS, kalium persulfat, asam askorbat (sebagai kontrol positif), dan akuades.

**Alat:** Spektrofotometer UV-Vis, timbangan

analitik, *rotary evaporator*, dan alat-alat gelas laboratorium.

## **Prosedur Kerja**

### **Preparasi Sampel dan Ekstraksi**

Kulit nanas madu dibersihkan, dirajang, dan dikeringkan dalam lemari pengering. Simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental.

### **Pembuatan Larutan Radikal ABTS**

Sebanyak 18 mg bubuk ABTS dan 3,5 mg bubuk kalium persulfat masing masing dilarutkan ke dalam 5 mL akuades. Langkah berikutnya, kedua larutan dicampur dalam labu ukur dan dicukupkan volumenya hingga 25 mL kemudian didiamkan selama 12-16 jam di tempat gelap.

### **Pembuatan Larutan Stok Vitamin C**

Larutan stok vitamin C 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang vitamin C murni sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a. di dalam labu ukur dan dicukupkan hingga tanda batas 10 mL.

### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Sebanyak 1 mL larutan ABTS dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm.

### **Penentuan Operating Time (OT)**

Sebanyak 1 mL larutan ABTS dicampur dengan 1 mL vitamin C pada konsentrasi 5 µg/mL, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 1 menit hingga 60 menit sampai diperoleh nilai absorbansi yang stabil.

### **Pengujian Aktivitas Antioksidan**

Sampel uji dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan

50 µg/mL masing-masing diambil sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambahkan 2 mL radikal ABTS dan 4 mL etanol. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi terlindung dari cahaya selama waktu reaksi optimal. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian dihitung persentase peredaman (inhibisi) radikal ABTS.

### Analisis Data

Persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

Ditetapkan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Rumus persamaan regresi linear yang digunakan untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari grafik regresi linear hubungan konsentrasi vs % inhibisi yaitu  $y = a + bx$ , dimana a yaitu *intercept* dan b adalah *slope*, dengan persamaan berikut:

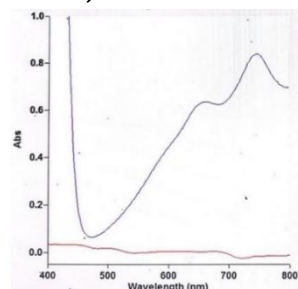
$$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

## HASIL

### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Tahap awal yang penting dalam analisis aktivitas antioksidan melalui metode spektrofotometri UV-Vis, adalah penetapan panjang gelombang maksimum. Titik ini merepresentasikan kondisi ketika analit menyerap cahaya secara optimal, sehingga

menghasilkan nilai absorbansi puncak yang menjamin sensitivitas serta akurasi data. Pada penelitian ini, radikal ABTS menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 747 nm (Gambar 1).



**Gambar 1.** Hasil scan panjang gelombang maksimum ABTS pada 400-800 nm

### Penentuan Operating Time

Penetapan *operating time* merupakan langkah krusial sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS. Berdasarkan hasil observasi, kestabilan absorbansi campuran reagen ABTS dan sampel tercapai setelah 25 menit.

### Penentuan Nilai Inhibisi 50% Radikal Kation ABTS

Hasil pengujian dan perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak kulit nanas madu dengan menggunakan metode ABTS ditampilkan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Sampel	Konsentrasi (µg/mL) (X)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (Y)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> µg/mL
Vitamin C	2	0.558	28.050	$Y = 5.1589X + 18.153$ $R^2 = 0.9957$	6.173
	4	0.474	38.960		
	6	0.397	48.840		
	8	0.302	61.125		
	10	0.244	68.557		

Sampel	Konsentrasi (µg/mL) (X)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (Y)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> µg/mL
Ekstrak Etanol Kulit Nanas Madu	10	0.766	1.332	Y = 0.7294X + 5.1594 R <sup>2</sup> = 0.9967	61.476
	20	0.698	10.030		
	30	0.641	17.405		
	40	0.589	24.064		
	50	0.537	30.786		

## PEMBAHASAN

Langkah awal dalam memanfaatkan potensi antioksidan kulit nanas adalah preparasi sampel dalam bentuk ekstrak. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol umum dilakukan karena efektivitasnya dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid dari bahan alam. Proses ekstraksi ini meliputi maserasi kulit nanas dalam etanol, yang dilanjutkan dengan tahap filtrasi dan pemekatan ekstrak. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian dilakukan uji peredaman radikal kation ABTS, guna menguantifikasi kapasitas antioksidannya secara akurat.

ABTS merupakan metode yang digunakan secara luas untuk menentukan kapasitas antioksidan dari berbagai zat. Pengujian ini melibatkan pembentukan kation radikal ABTS<sup>•+</sup> yang berwarna biru-hijau dan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu.<sup>7</sup> Keberadaan antioksidan dalam sampel akan mereduksi radikal ABTS<sup>•+</sup> menjadi bentuk yang tidak berwarna, dan tingkat pemucatan warna (dekolorisasi) tersebut dapat diukur menggunakan spektrofotometer.<sup>8,9</sup>

Penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode spektrofotometri, merupakan langkah penting yang dilakukan sebelum analisis utama. Panjang gelombang maksimum adalah titik di mana senyawa menyerap cahaya paling kuat

(ditunjukkan dengan nilai absorbansi tertinggi).<sup>7</sup> Dalam penelitian ini,  $\lambda$  maks untuk metode ABTS diperoleh pada 747 nm.

Penetapan *operating time* bertujuan menentukan waktu inkubasi optimal yang diperlukan agar reaksi mencapai titik sempurna. Tahap ini sangat krusial karena setiap antioksidan dapat bereaksi dengan laju yang berbeda, sehingga pengujian harus dibiarkan berlangsung hingga mencapai titik akhir yang stabil guna memastikan pengukuran kapasitas antioksidan yang akurat.<sup>10</sup> Pengukuran yang dilakukan sebelum tercapainya stabilitas dapat mengakibatkan variasi hasil yang tidak mencerminkan kapasitas antioksidan yang sebenarnya. Berdasarkan hasil pengujian, kestabilan absorbansi campuran reagen ABTS dan sampel tercapai setelah 25 menit. Oleh karena itu, periode tersebut digunakan sebagai *operating time* standar dalam setiap analisis sampel untuk memastikan konsistensi hasil serta stabilitas reaksi selama proses pengukuran.

Penentuan nilai IC<sub>50</sub> yang merupakan konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal ABTS<sup>•+</sup> dilakukan dengan menyiapkan seri pengenceran sampel dan mengukur nilai absorbansinya.<sup>11</sup> Persentase inhibisi (hambatan) terhadap radikal ABTS<sup>•+</sup> dihitung untuk setiap konsentrasi, kemudian nilai tersebut (sumbu y) diplotkan terhadap konsentrasi sampel (sumbu x). Nilai IC<sub>50</sub>

selanjutnya ditentukan dari plot tersebut sebagai konsentrasi yang setara dengan 50% inhibisi, di mana nilai IC<sub>50</sub> yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.<sup>12</sup> Berdasarkan hasil pengujian, nilai IC<sub>50</sub> vitamin C dengan metode ABTS diperoleh 6.173 µg/mL, sedangkan pada ekstrak etanol kulit nanas madu yaitu 61.476 µg/mL. Berdasarkan hasil penelitian, nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh melebihi seri konsentrasi yang diujikan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak belum memiliki kemampuan yang cukup untuk menghambat 50% radikal bebas, bahkan pada konsentrasi tertingginya. Kurva inhibisi tidak mencapai titik 50%, sehingga nilai IC<sub>50</sub> tidak dapat ditentukan secara langsung dan hanya bisa diperkirakan melalui ekstrapolasi, namun potensi antioksidannya dapat diprediksi secara matematis berada pada kategori kuat.

Daya antioksidan antara ekstrak etanol 70% kulit nanas madu dan vitamin C dapat dihitung dengan cara membandingkan antara nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol kulit nanas madu dan nilai IC<sub>50</sub> vitamin C, sehingga diperoleh daya aktivitas antioksidannya. Berdasarkan perhitungan dapat diinterpretasikan bahwa ekstrak etanol 70% kulit nanas madu memiliki aktivitas antioksidan rentang 9.958 kali lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C.

## KESIMPULAN

Persentase inhibisi (nilai IC<sub>50</sub>) dari ekstrak etanol kulit nanas madu diperoleh 61.476 µg/mL (9.958 kali lebih rendah dibandingkan dengan daya antioksidan vitamin C). Nilai ini diprediksi melalui teknik ekstrapolasi dari data kurva regresi linier. Penyesuaian rentang konsentrasi ke tingkat yang lebih tinggi sangat disarankan pada penelitian berikutnya guna memastikan efektivitas hambatan radikal kation ABTS dapat teramati secara langsung.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Soni, S., Noor, U., & Gupta, E. (2022). Ananas comosus peel waste, a novel substrate of therapeutic potential: Evidences and prospects. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 13(2), 129–143. Scopus. <https://doi.org/10.56042/ijnpr.v13i2.37958>
2. Mehraj, M., Das, S., Feroz, F., Waheed Wani, A., Dar, S. Q., Kumar, S., Wani, A. K., & Farid, A. (2024). Nutritional Composition and Therapeutic Potential of Pineapple Peel – A Comprehensive Review. *Chemistry and Biodiversity*, 21(5). Scopus. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400315>
3. Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2008). Anti-oxidant capacity of dietary polyphenols determined by ABTS assay: A kinetic expression of the results. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(1), 185–191. Scopus. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01425.x>
4. Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2011). Antioxidant properties of BHT estimated by ABTS assay in systems differing in pH or metal ion or water concentration. *European Food Research and Technology*, 232(5), 837–842. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1451-7>
5. Dong, J.-W., Cai, L., Xing, Y., Yu, J., & Ding, Z.-T. (2015). Re-evaluation of ABTS·G+ assay for total antioxidant capacity of natural products. *Natural Product Communications*, 10(12), 2169–2172. Scopus.
6. Lee, H.-H., & Moon, Y.-S. (2019). Assessment of the important factors influencing consistent and accurate ABTS assay. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 48(3), 390–393. Scopus. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2019.48.3.390>
7. Cano, A., Maestre, A. B., Hernández-Ruiz, J., & Arnao, M. B. (2023). ABTS/TAC

- Methodology: Main Milestones and Recent Applications. *Processes*, 11(1). Scopus.  
<https://doi.org/10.3390/pr11010185>
8. Fidrianny, I., & Ruslan, K. (2016). Antioxidant activities of arabica green coffee from three regions using ABTS and DPPH assays. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 189–193. Scopus.
  9. Kainama, H., Fatmawati, S., Santoso, M., Papilaya, P. M., & Ersam, T. (2020). The Relationship of Free Radical Scavenging and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Garcinia lasoar* PAM. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53(12), 1151–1157. Scopus.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-020-02139-5>
  10. Walker, R. B., & Everette, J. D. (2009). Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1156–1161. Scopus.  
<https://doi.org/10.1021/jf8026765>
  11. Zhou, W., He, Y., Lei, X., Liao, L., Fu, T., Yuan, Y., Huang, X., Zou, L., Liu, Y., Ruan, R., & Li, J. (2020). Chemical composition and evaluation of antioxidant activities, antimicrobial, and anti-melanogenesis effect of the essential oils extracted from *Dalbergia pinnata* (Lour.) Prain. *Journal of Ethnopharmacology*, 254. Scopus.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112731>
  12. Singh, M., Singh, S. P., & Rachana, R. (2017). Antioxidant, cytotoxicity, and stability evaluation of *Ginkgo biloba* extract-based microemulsions for enhanced therapeutic activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8), 335–340. Scopus.  
<https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.19537>