

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL KULIT
JERUK KEPROK (*CITRUS RETICULATA*)**

TUGAS AKHIR



BELIA BERNADINE FAYLALITA DERYS

611810002

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MA CHUNG
2024**

**LEMBAR PENGESAHAN
TUGAS AKHIR**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL KULIT
JERUK KEPROK (*CITRUS RETICULATA*)**

Oleh:


BELIA BERNADINE FAYLALITA DERYS
NIM: 611810002

dari:


PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MA CHUNG
2024

Telah dinyatakan lulus dalam melaksanakan Tugas Akhir sebagai syarat kelulusan dan berhak mendapatkan gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Dosen Pembimbing 1,


apt. Eva Monica, S.Farm., M.Sc.
NIP.20160016

Dosen Pembimbing 2,


Michael Resta Surya Yanuar,
S.Farm., M.Farm.
NIP.20230010

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan


Dr. an Kollina, S.Farm., M.Sc.
NIP.20160002

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi sebagian maupun keseluruhan Tugas Akhir saya dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)" adalah benar-benar hasil karya intelektual mandiri, diselesaikan tanpa menggunakan bahan-bahan yang tidak diizinkan dan bukan merupakan karya pihak lain yang saya akui sebagai karya sendiri. Semua referensi yang dikutip maupun dirujuk telah ditulis secara lengkap pada daftar pustaka. Apabila ternyata pernyataan ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 31 Juli 2025



Belia Bernadine Faylalita Derys

NIM. 611810002



UNIVERSITAS
MA CHUNG

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunianya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)”. Tugas akhir ini dibuat sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi strata I program studi Farmasi di Universitas Ma Chung tahun ajaran 2024/2025. Dalam penulisan tugas akhir ini, peneliti banyak mendapatkan pengarahan dan bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orangtua penulis, Ibu Deasy Murviyanti dan Bapak Didik Riswanto beserta kedua adek saya Celia Eugenia Geraldine FD dan Davelia Evelinequeta FD serta seluruh saudara dan teman-teman yang telah memberikan dukungan, doa, cinta, dan kasih dalam penyelesaian tugas akhir ini.
2. Ibu apt. Eva Monica, S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan izin, arahan, dan bimbingan dalam melaksanakan pembuatan dan penyelesaian penelitian tugas akhir ini.
3. Bapak Michael Resta Surya Yanuar, S.Farm., M.Farm. selaku dosen pembimbing 2 juga turut membimbing dan membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.
4. Segenap Dosen Program Studi Farmasi yang telah mendidik dan memberikan ilmu selama kuliah serta seluruh staf yang telah melayani dan mendukung segala administrasi selama proses penelitian tugas akhir ini.
5. Terima Kasih kepada Ferro Febrianto yang selalu memberikan semangat, serta para sahabat seperti Candra Widiatono dan M.Ratih Absari. Serta tak lupa kepada teman seangkatan yang tidak pernah melupakan saya sebagai teman dan banyak sekali membantu Dinda Nur Azizah.
6. Terima Kasih lepii Asus yang telah menemani dari awal perkuliahan hingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

Peneliti berharap dengan adanya tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Peneliti menyadari sepenuhnya bahwa tugas akhir ini masih ditemui kekurangan dan jauh dari sempurna. Untuk itu penulis sangat mengharapkan adanya saran-saran yang membangun dari pembaca agar dapat memperbaiki kesalahan peneliti.

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK KEPROK (*CITRUS RETICULATA*)

Belia Bernadine FD, Eva Monica, Michael Resta Surya Yanuar
Universitas Ma Chung

Abstrak

Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) yang belum banyak dimanfaatkan dimana, kulit jeruk keprok mengandung senyawa antioksidan. Kandungan senyawa antioksidan efektif dalam melindungi dari radikal bebas. Untuk membuktikan aktivitas tanaman jeruk yang efektif sebagai antioksidan, maka diperlukan penelitian aktivitas antioksidan bahwa senyawa tersebut dapat menghambat oksidasi radikal bebas reaktif di dalam tubuh sehingga membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas lalu kemudian memutuskan rantai dalam radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) secara in vitro menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencampurkan ekstrak pada berbagai konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dengan larutan DPPH, diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap, dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm. Pembanding yang digunakan yaitu vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk keprok mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Kadar total fenolik yang diperoleh sebesar 9,06%, sedangkan kadar total flavonoid sebesar 8,16%. Nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol kulit jeruk keprok berkisar antara 12,89 hingga 41,36 ppm yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat hingga kuat. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk keprok memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: Radikal Bebas, Antioksidan, Kulit Jeruk Keprok, Maserasi, DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST ON ETHANOL EXTRACT OF TANGERINE PEEL (CITRUS RETICULATA)

Belia Bernadine FD, Eva Monica, Michael Resta Surya Yanuar
Universitas Ma Chung

Abstract

Tangerine peel (Citrus reticulata) which has not been widely utilized where, tangerine peel contains antioxidant compounds. The content of antioxidant compounds is effective in protecting against free radicals. To prove the activity of citrus plants that are effective as antioxidants, antioxidant activity research is needed that the compound can inhibit the oxidation of reactive free radicals in the body to form relatively stable unreactive free radicals. Antioxidant compounds are compounds that have a molecular structure that can provide electrons to free radical molecules and then break the chain in free radicals. This study aims to determine the antioxidant activity of tangerine peel ethanol extract (Citrus reticulata) in vitro using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The extraction process was carried out by maceration method using 96% ethanol solvent. Antioxidant activity test was carried out by mixing extracts at various concentrations of 20, 40, 60, 80, and 100 ppm with DPPH solution, incubated for 30 minutes in dark conditions, and measured the absorbance using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 514 nm. Vitamin C was used as a comparison. The results showed that tangerine peel extract contains secondary metabolite compounds such as alkaloids, tannins, saponins, and terpenoids. The total phenolic content obtained was 9.06%, while the total flavonoid content was 8.16%. The IC₅₀ value of the tangerine peel ethanol extract ranged from 12.89 to 41.36 ppm which is categorized as having very strong to strong antioxidant activity. Based on these results, it can be concluded that tangerine peel extract has potential as a source of natural antioxidants.

Keywords: Free Radicals, Antioxidant, Tangerine Peel, Maceration, DPP

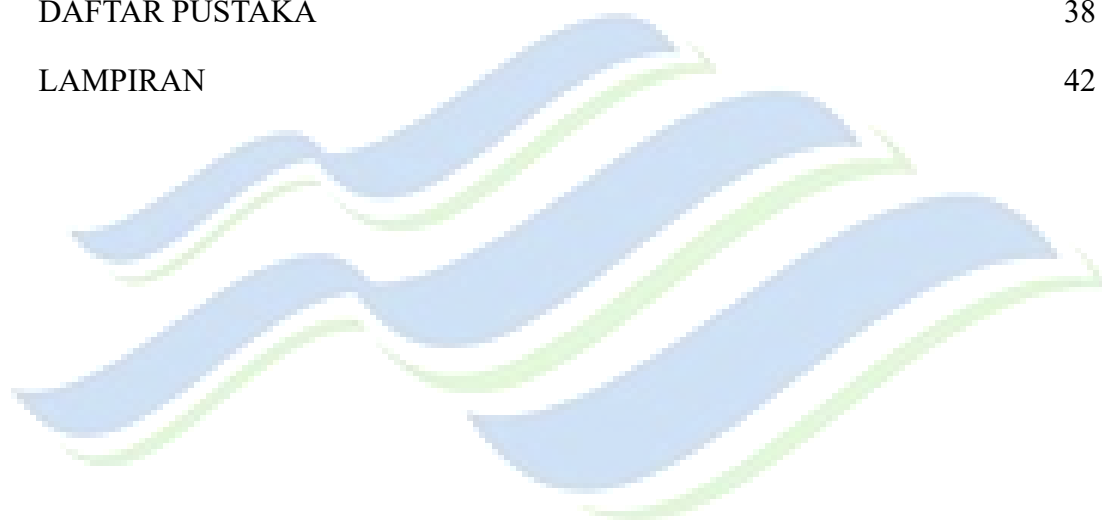
DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	v
Abstrak	vi
Abstract	vii
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
Bab I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Rumuasan Masalah	2
1.4.1 Bagaimana identifikasi senyawa fitokimia pada ekstrak etanol kulit jeruk Jeruk Keprok menggunakan (<i>Citrus Reticulata</i>) secara kualitatif dan kuantitatif ?	2
1.4.2 Bagaimana aktivitas radikal bebas ekstrak etanol kulit Jeruk Keprok (<i>Citrus reticulata</i>) dengan metode in vitro dengan menggunakan DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazil) ?	2
1.4 Tujuan	2
1.4.1 Untuk mengetahui jenis senyawa antioksidan kulit jeruk keprok (<i>Citrus Reticulata</i>).	2
1.4.2 Untuk mengetahui seberapa besar aktivitas peredaman radikal bebas dengan metode in vitro menggunakan DPPH (2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl).	2
1.5 Manfaat	2
1.5.1 Manfaat Ilmiah	2
1.5.2 Manfaat Bagi Peneliti	2

1.7 Luaran	3
1.8 Sistematika Penulisan	3
Bab II Tinjauan Pustaka	5
2.1 Penelitian Terdahulu	5
2.2 Jeruk Keprok (<i>Citrus Reticulata</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Jeruk Keprok	7
2.1.3 Kandungan Kimia	7
2.3 Antioksidan	8
2.4 Ekstraksi	9
2.4.1 Maserasi	11
2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	11
2.5.1 Alkaloid	12
2.5.2 Fenolik	12
2.5.3 Flavonoid	12
2.5.4 Tanin	13
2.5.5 Saponin	13
2.5.6 Terpenoid	13
2.6 Metode DPPH (2,2 diphenyl- 1 – picrylhydrazyl)	14
2.7 Spektrofotometri UV-VIS	15
Bab III Metodologi Penelitian	17
3.1 Rancangan Penelitian	17
3.2 Variabel Penelitian	17
3.2.1 Variabel Bebas	17
3.2.2 Variabel Terikat	17
3.2.3 Variabel Terkontrol	17

3.3 Alat dan Bahan	17
3.3.1 Alat	17
3.3.2 Bahan	18
3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	18
3.5 Prosedur Penelitian	18
3.5.1 Determinasi Tanaman	18
3.5.2 Pengambilan Sampel Kulit Jeruk Keprok	18
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Jeruk	18
3.5.4 Uji Organoleptik	19
3.5.5 Analisis Kualitatif	19
3.5.6 Analisis Kuantitatif	20
3.5.7 Pengujian <i>In-Vitro</i> : Uji Aktivitas Antioksidan	22
3.5.8 Bagan Alur Kerja	25
Bab IV Hasil dan Pembahasan	26
4.1 Hasil Penelitian	26
4.1.1 Determinasi Tanaman	26
4.1.2 Ekstraksi	26
4.1.3 Rendemen Ekstrak	26
4.1.5 Hasil Uji Kualitatif Ekstral Etanol Jeruk Keprok (<i>Citrus Reticulata</i>)	26
4.1.6 Hasil Uji Kuantitatif Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok	27
4.1.7 Hasil Uji Kuantitatif Fenolik Total Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok	28
4.1.8 Hasil Pengujian <i>In-Vitro</i> Aktivitas Antioksidan DPPH	28
4.2 Pembahasan	29
4.2.1 Determinasi Tanaman	29
4.2.2 Rendemen ekstrak	29

4.2.3 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok	30
4.2.4 Hasil Uji Kuantitatif Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok	31
4.2.5 Hasil Uji In-Vitro Antioksidan DPPH	33
Bab V Kesimpulan dan Saran	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42



UNIVERSITAS
MA CHUNG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Jeruk Keprok	7
Gambar 3. 1 Alur Kerja	25



UNIVERSITAS MA CHUNG

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Klasifikasi IC ₅₀	15
Tabel 4. 1 Hasil Uji Organoleptik	26

Tabel 4. 2 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Jeruk Keprok	27
Tabel 4. 3 Hasil penetapan kadar Flavonoid	27
Tabel 4. 4 Hasil Penetapan Kadar Fenolik	28
Tabel 4. 5 Tabel DPPH Replikasi 1	28
Tabel 4. 6 Tabel DPPH Replikasi 2	28
Tabel 4. 7 Tabel DPPH Replikasi 3	29



UNIVERSITAS
MA CHUNG

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang pesat menyebabkan perubahan yang lebih dinamis dalam gaya hidup masyarakat. Hal ini tidak dapat dibedakan dari konsekuensi negatifnya, seperti meningkatnya kerentanan terhadap penyakit, terutama gangguan degeneratif. Stroke dan diabetes melitus merupakan dua penyakit degeneratif yang termasuk penyebab kematian tertinggi di dunia, menurut WHO pada tahun 2011 (Sari dkk, 2023).

Antioksidan, yang terdapat dalam tubuh, dapat melawan radikal bebas. Namun, usia dan gaya hidup yang buruk dapat mengurangi produksi antioksidan. Oleh karena itu, suplementasi antioksidan dari sumber luar sangat penting (Liunokas, 2022).

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas lalu kemudian memutuskan rantai dalam radikal bebas. Senyawa antioksidan sering ditemukan dalam makanan yang berasal dari tumbuhan. Antioksidan yang bersumber dari tanaman berupa metabolit sekunder. Salah satunya senyawa fenolik yang merupakan golongan flavonoid yang berfungsi meredam radikal bebas dan anti radikal bebas. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menemukan obat herbal dari tanaman. Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid adalah kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk mengandung flavonoid, karatenoid, polifenol, minyak atsiri, asam askorbat, magnesium, protein dan lemak (Liunokas dkk, 2022).

Sejumlah metabolit sekunder telah ditemukan dalam ekstrak etanol kulit jeruk keprok dalam penelitian sebelumnya. Semua senyawa ini memiliki peran biologis yang penting. Pemeriksaan fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk keprok menunjukkan adanya metabolit sekunder tambahan, seperti terpenoid, tanin, dan alkaloid. Beragamnya zat bioaktif yang ditemukan dalam kulit jeruk keprok menunjukkan potensi farmakologisnya yang substansial, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut di bidang pengobatan herbal dan kesehatan (Liunokas, 2022).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, bahwa belum ada penelitian secara jelas bahwa ekstrak kulit jeruk keprok dimanfaatkan sebagai antioksidan. Maka

pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yang berfungsi sebagai antioksidan.

1.2 Identifikasi Masalah

Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) yang belum banyak dimanfaatkan dimana, kulit jeruk keprok mengandung senyawa antioksidan. Kandungan senyawa antioksidan efektif dalam melindungi dari radikal bebas. Untuk membuktikan aktivitas tanaman jeruk yang efektif sebagai antioksidan, maka diperlukan penelitian aktivitas antioksidan bahwa senyawa tersebut dapat menghambat oksidasi radikal bebas reaktif di dalam tubuh sehingga membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil.

1.3 Batasan Masalah

Metode yang digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan secara invitro menggunakan DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazil*).

1.4 Rumuasan Masalah

- 1.4.1 Bagaimana identifikasi senyawa fitokimia pada ekstrak etanol kulit jeruk Jeruk Keprok menggunakan (*Citrus Reticulata*) secara kualitatif dan kuantitatif ?
- 1.4.2 Bagaimana aktivitas radikal bebas ekstrak etanol kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) dengan metode in vitro dengan menggunakan DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazil*) ?

1.4 Tujuan

- 1.4.1 Untuk mengetahui jenis senyawa antioksidan kulit jeruk keprok (*Citrus Reticulata*).
- 1.4.2 Untuk mengetahui seberapa besar aktivitas peredaman radikal bebas dengan metode in vitro menggunakan DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

1.5 Manfaat

1.5.1 Manfaat Ilmiah

Mampu menjadi sumbangan pemikiran ilmiah serta dapat memperkaya jurnal tanaman jeruk keprok yang memiliki aktivitas antioksidan.

1.5.2 Manfaat Bagi Peneliti

Memberi pengalaman berharga terutama bagi peneliti dalam memperluas pengetahuan mengenai senyawaan antioksidan.

1.7 Luaran

Target luaran dari penelitian ini yang diharapkan adalah sebuah artikel penelitian dan naskah publikasi.

1.8 Sistematika Penulisan

Penelitian ini dilakukan untuk memenuhi persyaratan Tugas Akhir, terbagi menjadi lima bab dengan sistematika penulisan dibawah ini:

1. Bab I: Pendahuluan

Pada Bab I berisi tentang gagasan awal penelitian yang terdiri dari latar belakang masalah, identifikasi masalah, Batasan-batasan masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, luaran, manfaat dan sistematika penulisan

2. Bab II: Tinjauan Pustaka

Pada Bab II berisi tentang landasan teori yang mendasari penelitian uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit jeruk keprok, antara lain seperti jeruk keprok, klasifikasi jeruk keprok, morfologi, antioksidan ekstraksi, pengujian dengan pereaksi kimia, penentuan kadar fenolik, penentuan kadar.

3. Bab III: Metodologi Penelitian

Pada Bab III memaparkan bagaimana metodologi yang akan digunakan dalam penelitian ini. Metode penelitian yang dibahas mulai dari jenis, waktu, tempat, variabel, alat, bahan, uji organoleptik, analisis kualitatif, analisis kuantitatif, uji aktivitas antioksidan

4. Bab IV: Pembahasan

Pada Bab IV berisi tentang hasil penelitian yang diperoleh dari hasil penelitian yang terdiri dari hasil penelitian berupa uji kualitatif, uji kuantitatif, pengujian in-vitro: uji aktivitas antioksidan

5. Bab V: Kesimpulan dan Saran

Pada V berisi tentang Kesimpulan dan saran dari penelitian yang dilakukan dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti yang terdiri atas kesimpulan dan saran.



Bab II

Tinjauan Pustaka

2.1 Penelitian Terdahulu

No	Deskripsi Jurnal	Hasil penelitian
1	Formulasi Splash Mask Kulit Jeruk Keprok (<i>Citrus reticulata blanco</i>) serta efek sebagai antioksidan Tahun 2019 Peneliti Framesti Finny Dolih	Formulasi Splash Mask ekstrak kulit jeruk keprok memiliki efek antioksidan. Dengan nilai IC_{50} adalah 237.938 ppm, kemudian splash mask dengan konsentrasi 1000x IC_{50} dengan nilai 244,664 ppm dengan kategori antioksidan sedang
2	Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sabun Padat Transparan Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (<i>Citrus reticulata</i>) Tahun 2022 Peneliti Nabilla Oktafia Dwijowati Aulia	Pengaruh ekstrak kulit jeruk keprok (<i>Citrus reticulata</i>) pada sabun terhadap penuaan dini pada kulit menghasilkan IC_{50} terhadap aktivitas antioksidan yaitu 2,51 ppm. Menurut tingkat kesukaran antioksidan dengan DPPH menyatakan intensitas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm
3	Uji Pengaruh Fermentasi Eco Enzyme Kulit Jeruk Keprok (<i>Citrus reticulata</i>) terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH Tahun 2024 Peneliti Akrom Iswandi Jena Hayu	penelitian ini adalah mengetahui kadar vitamin C, nilai IC_{50} , aktivitas antioksidan dan pengaruh fermentasi eco enzyme terhadap aktivitas antioksidan kulit jeruk keprok (<i>Citrus reticulata</i>). Aktivitas antioksidan dengan Nilai IC_{50} dari sampel adalah $157,05 \pm 1,95$ untuk sampel 1, $133,26 \pm 5,12$ untuk sampel 2 dan $329,03 \pm 3,87$ untuk sampel 3

4	Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji AKtivitas Antioksidan Ektrak Kloroform dan Air Kulit Keprok (<i>Citrus reticulata</i>) Tahun 2022	Penelitian dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dari estrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (<i>Citrusreticulata</i>). Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak kloroform dan air memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan
	Peneliti Mafrit Romli Liunokas	

2.2 Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*)

Tanaman jeruk berasal dari Asia Tenggara, akan tetapi penyebaran hingga mencapai Asia, Australia, Afrika. Jeruk keprok sendiri berasal dari asia Tenggara memiliki bentuk sangat bervariasi seperti bulat, oval, dan agak meruncing dengan warna hijau kekuningan. Tanaman jeruk yang ada di Indonesia tersebar secara luas dengan berbagai macam jenis serta ukuran. Salah satu tanaman jeruk yang sering kita jumpai yaitu jeruk keprok. Jeruk keprok merupakan sumber vitamin c dan memiliki kandungan antioksidan alami yang berperan sebagai sistem kekebalan tubuh (Sari, 2022).

Tanaman jeruk memiliki banyak spesie dari enam genus, seperti *Citrus*, *Microcitrus*, *Fortunella*, *Poncitrus*, *Cymedia*, dan *Eremocirus*. Namun, yang memiliki nilai jual tinggi adalah *Citrus*, *Fortunella*, dan *Poncitrus*. Salah satu spesies *Citrus* merupakan yang terkenal di Indonesia seperti *Citrus reticulata* atau biasa dikenal dengan jeruk keprok atau jeruk mandarin. Jeruk merupakan tanaman yang tumbuh hampir di seluruh wilayah Indonesia. Salah satu jeruk yang banyak dibudidayakan yakni jeruk keprok (*Citrus reticulata*) (Nurlivia, 2022).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut *Integrated Taxonomy System* (ITIS), klasifikasi tanaman jeruk keprok (*Citrus reticulata*) sebagai berikut;

1. Kingdom : *Plantae*
2. Divisi : *Spermatophyta*

3. Kelas : *Dicotylodoneae*
4. Ordo : *Rutales*
5. Famili : *Rutaceae*
6. Genus : *Citrus*
7. Spesies : *Citrus reticulata*
8. Sinonim : *Citrus nobilis* *C. deliciosa*, *C. chrysocarpa*



Gambar 2. 1 Jeruk Keprok

2.1.2 Morfologi Tanaman Jeruk Keprok

Jeruk keprok (*Citrus reticulata*) merupakan jenis pohon dengan tinggi 4-8 meter. Batang jeruk keprok mempunyai bentuk bulat atau setengah bulat dan memiliki percabangan yang banyak dengan tajuk yang sangat rindang. Daun jeruk keprok berbentuk bulat telur memanjang, elips atau lanset dengan pangkal tumpul dan ujung meruncing seperti tombak. Permukaan atas daun berwarna hijau tua mengkilat sedangkan permukaan bawah hijau muda. Panjang daun 4-8 cm dan lebar 1,5-4 cm. Tangkai daun bersayap sangat sempit sampai boleh dikatakan tidak bersayap, panjang 0,5-1,5 cm. Bunganya mempunyai diameter 1,5- 2,5 cm, berkelamin dua daun mahkotanya putih. Buahnya berbentuk bola tertekan dengan panjang 5-8 cm, tebal kulitnya 0,2-0,3 cm dan daging buahnya berwarna oranye. Rantingnya tidak berduri dan tangkai daunnya selebar 1-1,5 mm (Nurlivia, 2022).

2.1.3 Kandungan Kimia

Tanamam jeruk merupakan jeruk yang sering dikonsumsi oleh masyarakat, jeruk keprok mengandung beberapa vitamin seperti vitamin C, vitamin A, vitamin B yang dapat disintesis oleh tubuh sehingga tubuh memerlukan vitamin C. Vitamin

C berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas, memperbaiki sistem imunitas tubuh, serta menjaga kesehatan sel (Amnestiya dkk, 2023).

Metabolit sekunder ditemukan pada tumbuhan penghasil jeruk keprok. Di antara zat kimia dalam kulit jeruk yang memiliki efek analgesik, antiinflamasi, antidiuretik, dan antihipertensi adalah hisperidin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Metabolit sekunder diklasifikasikan ke dalam berbagai kelas, termasuk alkaloid, karotenoid, tanin, terpenoid, flavonoid, tiamin, dan steroid. Metabolit sekunder, yang diperlukan tetapi tidak diperlukan untuk kelangsungan hidup, diproduksi melalui proses biosintesis pada makhluk hidup. Lingkungan dapat mendukung keberadaan metabolit sekunder. Tumbuhan tertentu, termasuk tanaman obat, menghasilkan zat-zat ini (Liunokas dkk., 2022).

2.3 Antioksidan

Zat kimia yang mendonorkan elektron disebut antioksidan. Zat kimia yang disebut antioksidan dapat mengurangi atau bahkan membalikkan efek berbahaya oksidan. Elektron yang disuplai antioksidan mencegah oksidan melakukan kerusakannya. Kerusakan oksidatif dapat dicegah atau dikurangi oleh zat kimia atau unsur kimia yang dikenal sebagai antioksidan dalam rasio atau kadar tertentu (Sayuti & Yenrina, 2015).

Akumulasi radikal bebas telah dikaitkan langsung dengan sejumlah gangguan, termasuk kanker, diabetes melitus, dan penyakit kardiovaskular. Antioksidan mendukung pertahanan tubuh terhadap kerusakan oksidatif dan menjaga integritas sel dengan menetralkan efek berbahaya dari radikal bebas (Parwata, 2016).

Karena mendonorkan elektron untuk mencegah proses oksidatif yang merusak sel, antioksidan penting dalam menetralkan radikal bebas. Sejumlah besar makanan yang berasal dari tumbuhan secara alami mengandung antioksidan ini. Molekul antioksidan dalam tumbuhan seringkali termasuk dalam golongan metabolit sekunder, yaitu senyawa kimia yang dibuat untuk adaptasi dan perlindungan lingkungan, alih-alih untuk pertumbuhan primer. Metabolit sekunder dengan kualitas antioksidan yang kuat disebut senyawa fenolik. Senyawa fenolik, yang termasuk dalam kelompok flavonoid, dikenal luas kemampuannya untuk menangkal radikal bebas dan memulihkan sel dari efek buruk stres oksidatif (Parwata, 2016).

Secara umum, antioksidan dapat dibagi menjadi dua kategori utama: enzimatis dan non-enzimatis, tergantung cara kerjanya. Salah satu jenis antioksidan yang menetralkan efek berbahaya radikal bebas adalah antioksidan enzimatis, yang melakukannya dengan bantuan enzim spesifik dalam tubuh. Glutathione peroksidase,

katalase, dan superoksida dismutase (SOD) adalah beberapa contoh dari kelompok ini. Netralisasi spesies oksigen reaktif dan pencegahan kerusakan sel merupakan fungsi penting dari ketiga enzim ini. Sebaliknya, antioksidan non-enzimatik terdiri dari zat kimia yang, tanpa bantuan aktivitas enzim, langsung menyerap dan menghilangkan radikal bebas. Antioksidan jenis ini selanjutnya dipisahkan menjadi dua kelompok berdasarkan kelarutannya: larut dalam air dan larut dalam lemak. Kedua jenis antioksidan ini saling melengkapi agar sel tetap stabil terhadap kerusakan oksidatif (Salmiyah & Bahrudin, 2018)

Secara umum, antioksidan dapat dibagi menjadi dua kategori utama: enzimatik dan non-enzimatik, tergantung cara kerjanya. Salah satu jenis antioksidan yang menetralkan efek berbahaya radikal bebas adalah antioksidan enzimatik, yang melakukannya dengan bantuan enzim spesifik dalam tubuh. Glutation peroksidase, katalase, dan superoksida dismutase (SOD) adalah beberapa contoh dari kelompok ini. Netralisasi spesies oksigen reaktif dan pencegahan kerusakan sel merupakan fungsi penting dari ketiga enzim ini. Sebaliknya, antioksidan non-enzimatik terdiri dari zat kimia yang, tanpa bantuan aktivitas enzim, langsung menyerap dan menghilangkan radikal bebas. Antioksidan jenis ini selanjutnya dipisahkan menjadi dua kelompok berdasarkan kelarutannya: larut dalam air dan larut dalam lemak. Kedua jenis antioksidan ini saling melengkapi agar sel tetap stabil terhadap kerusakan oksidatif

Metabolit sekunder yang disebut antioksidan yang berasal dari tumbuhan biasanya diproduksi oleh tumbuhan sebagai mekanisme pertahanan. Salah satu senyawa tersebut adalah senyawa fenolik, yang diklasifikasikan sebagai flavonoid. Flavonoid memiliki sifat anti-radikal bebas yang memungkinkannya mengurangi atau menghilangkan radikal bebas (Suryanita dkk, 2019).

2.4 Ekstraksi

Dalam proses ekstraksi, pelarut digunakan sebagai pemisah untuk memisahkan suatu komponen dari campuran. Kontak langsung antara pelarut dan serbuk simplisia obat akan meningkatkan proses ekstraksi. Oleh karena itu, ketika tanaman obat diserbuk, kehalusan serbuknya akan meningkatkan kualitasnya. Setiap teknik ekstraksi memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Banyak faktor, termasuk jenis senyawa, pelarut yang digunakan, dan peralatan yang tersedia, harus dipertimbangkan saat memilih metode ekstraksi. Variabel penting dalam semua teknik ekstraksi adalah suhu dan tekanan (Hujjatusnaini dkk, 2021).

Beberapa istilah kunci digunakan dalam proses ekstraksi untuk mengkarakterisasi unsur-unsur utama fase ini. Istilah ekstraktan menggambarkan pelarut yang digunakan untuk menghilangkan komponen tertentu dari suatu zat, sedangkan rafinat adalah larutan asli yang mengandung zat yang perlu diekstraksi atau bahan aktif. Zat kimia yang akan dipisahkan selama proses ekstraksi adalah pelarut, yaitu zat yang diinginkan yang telah dilarutkan dalam rafinat. Kelarutan, polaritas, dan stabilitas suatu senyawa dalam panas atau pelarut hanyalah beberapa contoh karakteristik fisika dan kimianya yang sangat memengaruhi metode ekstraksi yang dipilih. Ekstraksi bertingkat adalah teknik populer yang melibatkan pemilahan senyawa berdasarkan polaritasnya, dimulai dari yang paling polar hingga yang paling tidak polar. Teknik ini memungkinkan pemisahan komponen yang lebih efektif dan selektif. Tergantung pada polaritas senyawa yang akan diekstraksi, berbagai jenis pelarut dapat digunakan dalam praktik. Lipid dan minyak atsiri adalah contoh zat nonpolar yang umumnya diekstraksi menggunakan pelarut nonpolar seperti petroleum eter dan heksana. Pelarut seperti diklorometana atau kloroform dapat digunakan untuk zat yang sedikit lebih polar. Sementara itu, zat polar hingga sangat polar seperti flavonoid dan fenol diekstraksi menggunakan alkohol dan metanol. Ketika bahan kimia yang sangat polar atau larut dalam air perlu diekstraksi, air juga dapat digunakan sebagai pelarut jika diperlukan. Keberhasilan prosedur ekstraksi bergantung pada pemilihan pelarut, yang menjamin rendemen tertinggi dari komponen yang diinginkan (Hujjatusnaini dkk., 2021).

Dasar dari metode ekstraksi dapat berupa pemanasan atau tanpa pemanasan. Terdapat dua jenis teknik ekstraksi: ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Bahan dipanaskan selama proses ekstraksi untuk mempercepat proses ekstraksi. Namun, dengan tidak memanaskan proses ekstraksi, ekstraksi dingin mencegah senyawa yang diinginkan rusak (Hujjatusnaini dkk, 2021).

Tujuannya adalah untuk mengekstrak senyawa dari campuran atau zat sederhana. Berbagai metode ekstraksi yang saat ini digunakan memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Pemilihan prosedur memerlukan pertimbangan pelarut, peralatan yang tersedia, dan sifat senyawa. Suhu, tekanan, dan struktur senyawa harus dipertimbangkan selama proses ekstraksi. Alkohol sering digunakan sebagai pelarut ekstraksi. Beberapa metode ekstraksi yang potensial meliputi infusa, dekokta, distilasi, maserasi, perlokasi, refluks, sokletasi, arus balik, ultrasonik, dan ekstraksi gas berbantuan gelombang mikro (SGE) (Hujjatusnaini dkk., 2021).

2.4.1 Maserasi

Proses ekstraksi yang relatif mudah, yang dikenal sebagai maserasi, melibatkan perendaman bahan yang akan diekstraksi dalam pelarut tertentu selama jangka waktu tertentu. Tujuan prosedur ini adalah untuk menghilangkan bahan aktif yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pada suhu ruangan, atau antara 20-30°, campuran bahan dan pelarut diaduk selama kurang lebih 15 menit selama prosedur. Karena suhu tersebut, pengadukan ini membantu menghindari penguapan pelarut yang berlebihan. Dalam proses ini, zat bubuk berinteraksi dengan pelarut cair. Pelarut memasuki rongga sel, tempat bahan aktif berada, setelah melewati dinding sel. Terjadi perubahan konsentrasi antara bagian dalam dan luar sel saat bahan kimia aktif mulai larut dalam pelarut. Larutan pekat berpindah dari dalam sel ke luar akibat perbedaan ini. Proses ini terus berulang hingga bagian dalam dan luar sel berada dalam keadaan setimbang. Meskipun metode maserasi biasanya digunakan pada suhu ruangan, terdapat variasi lain yang dikenal sebagai digesti, di mana proses ekstraksi dilakukan pada suhu yang lebih tinggi, sekitar 40-60°, untuk mempercepat proses pelarutan. Selain itu, metode maserasi kinetik digunakan untuk mempercepat perpindahan senyawa aktif dari bahan ke pelarut. Metode ini dilakukan dengan pengadukan konstan (Hujjatusnaini dkk., 2021).

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan itu sendiri tetapi tidak memiliki fungsi secara langsung pada fotosintesis pertumbuhan atau respirasi, transportasi zat terlarut, translokasi sintesis protein, asimilasi nutrisi, diferensiasi, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid (Violita dkk, 2023).

Karena metabolit primer berkontribusi langsung pada fungsi-fungsi esensial seperti pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi, metabolit primer merupakan zat yang terdapat pada semua makhluk hidup. Di sisi lain, metabolit sekunder tidak terlibat langsung dalam proses fisiologis penting ini dan hanya diproduksi oleh spesies tertentu. Namun, kemampuan hidup suatu organisme sangat ditingkatkan oleh metabolit sekunder. Zat-zat ini dapat membantu reproduksi dengan memikat penyerbuk atau mencegah pertumbuhan pesaing, dan dapat menjadi pertahanan terhadap berbagai tantangan eksternal, termasuk hama, penyakit, dan persaingan dengan spesies lain. Senyawa yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder meliputi tanin, senyawa fenolik, karotenoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan kumarin (Liunokas., 2022).

2.5.1 Alkaloid

Produk metabolisme sekunder yang terdapat pada daun, kulit kayu, ranting, dan biji merupakan sumber alkaloid, suatu senyawa kimia. Alkaloid berbentuk kristal amorf, tidak berwarna dan agak cair. Beberapa atom nitrogen ditemukan dalam alkaloid dalam cincin heterosiklik basa. Alkaloid adalah racun yang membantu tanaman mempertahankan diri dari serangga dan hewan. Alkaloid juga berfungsi sebagai stimulan pertumbuhan, penyimpan cadangan makanan, dan penetral racun bagi tanaman itu sendiri (Liuonas dkk, 2022).

2.5.2 Fenolik

Produk metabolisme sekunder yang terdapat pada daun, kulit kayu, ranting, dan biji merupakan sumber alkaloid, suatu senyawa kimia. Alkaloid berbentuk kristal amorf, tidak berwarna dan agak cair. Beberapa atom nitrogen ditemukan dalam alkaloid dalam cincin heterosiklik basa. Alkaloid adalah racun yang membantu tanaman mempertahankan diri dari serangga dan hewan. Alkaloid juga berfungsi sebagai stimulan pertumbuhan, penyimpan cadangan makanan, dan penetral racun bagi tanaman itu sendiri (Dhurhanian CE & Novianto A, 2018).

2.5.3 Flavonoid

Senyawa flavonoid dapat dengan mudah diidentifikasi dalam ekstrak tumbuhan apa pun karena ditemukan di semua tumbuhan hijau. Flavonoid adalah senyawa yang terdapat di alam dalam jumlah besar; terdapat sekitar 9.000 flavonoid yang telah diketahui. Salah satu kelompok metabolit sekunder dari famili polifenol yang dihasilkan tumbuhan disebut flavonoid. Keberadaan flavonoid memengaruhi warna alami organ tumbuhan seperti buah, daun, dan bunga. Untuk menghasilkan warna-warna cerah seperti kuning, merah, biru, jingga, dan ungu, flavonoid tumbuhan sangat penting. Flavonoid adalah zat kimia polifenol yang larut dalam air, yang dapat dengan mudah diserap dan digunakan oleh tubuh untuk berbagai tujuan. Flavonoid terutama aktif sebagai antioksidan karena mereka mengkelat ion logam yang dapat menyebabkan reaksi oksidatif dan menyumbangkan atom hidrogen untuk menghancurkan radikal bebas. Glikosida adalah flavonoid yang terdapat dalam bentuk bebas, sedangkan glukosida adalah flavonoid yang memiliki rantai samping berupa molekul glukosa (Arifin & Ibrahim, 2018).

2.5.4 Tanin

Tumbuhan mengandung metabolit sekunder penting yang disebut tanin. Senyawa yang dikenal sebagai tanin, yang mengandung polifenol, memiliki kemampuan untuk mengikat dan mengendapkan protein. Tanin juga dapat menghambat pembentukan protein baru. Namun, dalam biologi, tanin berfungsi sebagai pengkelat logam. Zat kompleks yang disebut tanin ditemukan di hampir setiap spesies tumbuhan dan terdistribusi secara merata di berbagai jenis tumbuhan. Bagian tumbuhan yang mengandung tanin antara lain buah, daun, batang, dan kulit kayu. Sebagai astringen, antibakteri, antidiare, dan antioksidan, tanin memiliki sifat farmakologis (Sunani & Hendriani, 2023).

2.5.5 Saponin

Tumbuhan mengandung beragam zat metabolit sekunder, termasuk senyawa saponin. Golongan senyawa saponin yang dikenal sebagai glikosida triterpena dan sterol dibedakan berdasarkan keberadaan glikosida triterpenoid dan steroid. Senyawa-senyawa ini dapat bereaksi dengan air dan terguncang menghasilkan busa yang persisten karena juga mengandung gugus gula dalam bentuk busa. Meskipun saponin tidak larut dalam eter, ia larut dalam air. Molekul saponin bersifat polar dan akan lebih mudah larut dalam pelarut etanol 70–95%, biasanya metanol, dibandingkan dengan jenis pelarut lainnya, sehingga merupakan cara termudah untuk mengekstraknya dari tumbuhan. Aktivitas farmakologis saponin antara lain bersifat antiinflamasi, antivirus, antijamur, imunomodulator, dan antikanker (Riani dkk, 2021).

2.5.6 Terpenoid

Rute asam mevalonat mengubah asetat menjadi unit isoprena 5-karbon ($-C_5$), yang membentuk molekul terpenoid, yang merupakan metabolit sekunder. Terpenoid merupakan metabolit sekunder yang paling melimpah, mengandung beragam zat kimia. Karet dengan ribuan unit isoprena dan hemiterpena lima-karbon merupakan contoh senyawa terpenoid dengan ukuran dan struktur yang bervariasi, mulai dari molekul linear hingga polisiklik. Hemiterpena, monoterpena, seskuiterpena, diterpena, tetraterpena, dan politerpena merupakan pengelompokan terpenoid berdasarkan jumlah unit isoprena yang dikandungnya (Kurniasari dkk, 2016). Pada aktivitas farmakologi terpenoid berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antidiemensi, penghambat sel kanker, patukan ular, gangguan kulit (Sanini dkk, 2023).

2.6 Metode DPPH (2,2 diphenyl- 1 – picrylhydrazyl)

DPPH merupakan cara yang sederhana, cepat, dan ekonomis untuk mengukur aktivitas penangkal radikal bebas. Beberapa tanaman terapeutik diuji aktivitas antioksidannya menggunakan teknik DPPH. Kemampuan metode ini untuk mendeteksi DPPH secara akurat dan praktis telah terbukti. DPPH, sebuah radikal bebas yang stabil, digunakan untuk mendeteksi hal ini. Antioksidan dalam bahan uji berfungsi sebagai radikal bebas yang dihilangkan dengan metode DPPH. Ketika DPPH menangkap hidrogen dari molekul antioksidan, antioksidan tersebut akan mendonorkan atom hidrogen untuk menarik DPPH, menghasilkan DPPH-H.

Prinsip dasar DPPH adalah antioksidan melawan radikal bebas DPPH dengan berinteraksi dan bertukar elektron atau radikal hidrogen. Oleh karena itu, jumlah elektron yang ditangkap setara dengan dekolorisasi yang disebabkan oleh antioksidan, dan absorbansi diukur pada 517 nm. Untuk mengevaluasi kemampuan pemulungan bahan alami, kami menggunakan DPPH, suatu radikal bebas yang stabil. Melalui donasi hidrogen atau elektron, teknik DPPH mengkatalisis reaksi ini, yang mengubah warna ungu menjadi kuning. Absorbansi DPPH kemudian menurun, dan intensitas pergeseran warna sebanding dengan jumlah kontribusi elektron. Berwarna ungu hingga kuning, DPPH adalah radikal yang relatif stabil yang direduksi oleh hidrogen atau donasi elektron. Zat-zat tersebut termasuk pemulung radikal dan antioksidan. Untuk mengetahui seberapa baik senyawa polihidroksi aromatik dalam memulung radikal, diperlukan penggunaan DPPH (Risma, 2022).

Metode DPPH dapat diterapkan pada bahan cair maupun padat. Untuk penyaringan awal berbagai bahan, metode ini sangat efektif untuk ekstrak tumbuhan. Dengan menggunakan metode DPPH, hasil uji antioksidan ditentukan oleh faktor persentase inhibitor dan kemampuan antioksidan. Saat menghitung kapasitas inhibitor, digunakan nilai Konsentrasi Inhibitor (IC₅₀), yaitu konsentrasi molekul antioksidan yang menghasilkan 50% inhibisi. Jika terdapat hubungan terbalik antara nilai IC₅₀ dan kapasitas antioksidan, kapasitas antioksidan sampel akan meningkat dengan nilai IC₅₀ yang lebih rendah (Risma, 2022).

Metode DPPH dapat diterapkan pada bahan cair maupun padat. Untuk penyaringan awal berbagai bahan, metode ini sangat efektif untuk ekstrak tumbuhan. Dengan menggunakan metode DPPH, hasil uji antioksidan ditentukan oleh faktor persentase inhibitor dan kemampuan antioksidan. Saat menghitung kapasitas inhibitor, digunakan nilai Konsentrasi Inhibitor (IC₅₀), yaitu konsentrasi molekul antioksidan yang menghasilkan 50% inhibisi. Jika terdapat hubungan terbalik antara nilai IC₅₀ dan kapasitas

antioksidan, kapasitas antioksidan sampel akan meningkat dengan nilai IC₅₀ yang lebih rendah (Risma, 2022).

Indikator kemampuan suatu senyawa atau larutan uji untuk secara efektif menekan aktivitas radikal bebas adalah nilai IC₅₀. Berdasarkan angka ini, 50% dari aktivitas radikal bebas yang ada harus dihambat. Dengan kata lain, aktivitas antioksidan suatu senyawa akan lebih kuat atau lebih tinggi jika nilai IC₅₀-nya lebih kecil. Nilai IC₅₀ dihitung dengan membandingkan persentase penghambatan aktivitas radikal bebas dengan konsentrasi larutan uji. Setelah itu, grafik regresi linier dibuat menggunakan hasil uji, dengan konsentrasi pada sumbu x dan persentase penghambatan pada sumbu y. Untuk menentukan nilai IC₅₀ secara numerik, persamaan linier yang diperoleh dari grafik ini digunakan. Dalam penelitian farmasi, kuliner, dan bioteknologi yang berkaitan dengan zat bioaktif alami dan sintetis, nilai IC₅₀ sering digunakan sebagai sinyal krusial untuk mengevaluasi potensi suatu senyawa sebagai antioksidan (Sari dkk, 2023)

Tabel 2. 1 Klasifikasi IC₅₀

Aktivitas Antioksidan	Nilai IC₅₀
Sangat Kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-150 ppm
Lemah	150-200 ppm

2.7 Spektrofotometri UV-VIS

Dengan menggunakan spektrofotometer, transmitansi atau absorbansi suatu zat dapat ditentukan sebagai fungsi panjang gelombang. Warna atau komponen kimia setiap medium menentukan seberapa banyak panjang gelombang cahaya yang dapat diserapnya. Untuk mengukur absorbansi, spektrofotometer melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu melalui kuvet, kaca, atau benda kuarsa. Dengan menyentuh larutan, sebagian cahaya akan ditransmisikan dan sisanya akan diserap oleh material. Konsentrasi suatu zat dalam kuvet secara langsung berkorelasi dengan jumlah cahaya yang diserap; semakin tinggi konsentrasinya, semakin besar absorbansinya. Spektrofotometer UV-VIS dapat digunakan untuk mengukur jumlah cahaya tampak dan ultraviolet yang diserap suatu zat. Konsentrasi suatu zat dalam larutan dapat dipastikan dengan mengukur jumlah cahaya yang diserap pada panjang gelombang tertentu. Dengan memindahkan elektron secara mekanis dari orbital keadaan dasar berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi

lebih tinggi, penyerapan cahaya menghasilkan transisi elektronik. Spektrum serapan yang berbeda tercipta untuk setiap material ketika energi cahaya yang diserap sama dengan selisih energi antara kedua tingkat orbital tersebut (Suhartati, 2017).



UNIVERSITAS
MA CHUNG

Bab III **Metodologi Penelitian**

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan penelitian eksperimental secara *in vitro*. Rancangan penelitian ini menguji aktivitas antioksidan dari limbah kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*). Rancangan penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dikarenakan terdapat perlakuan terhadap subjek penelitian.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan sesuatu yang akan menjadi objek pengamatan analisis pada penelitian dan variabel penelitian berperan dalam peristiwa yang akan diteliti. Variabel penelitian ada tiga yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkontrol.

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol limbah kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil uji kualitatif senyawa fitokimia, uji kuantitatif kadar fenolik total dan flavonoid total, serta aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3.2.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut, bahan, ekstrak limbah kulit jeruk keprok.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Rotary Evaporator (IKA tipe RV 10 Basic D), Oven, Timbangan Analitik gram (Ohaus); milligram (Shimadzu), Laboratory Blender (Waring Blender), Waterbath, Ultrasonic (Mosinix USA), Kertas Saring, Spatula Logam, Sendok Tanduk, Cawan, Tabung reaksi (Pyrex), Penjepit kayu, Bunsen, Pipet Tetes, Mikropipet 100-1000 μ l (, Tip, Labu Ukur (Pyrex), Beaker glass 1000 ml (Duran) ; 50 mL (Pyrex), Erlenmeyer 1000 mL (Pyrex), Corong, Spektrofotometri UV-Vis (Jasco V-760).

3.3.2 Bahan

Kulit Jeruk Keprok, Etanol 96%, Etanol P.a, Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, Pereaksi Dragendorff, Asam Klorida, Magnesium, Kloroform, Feri klorida, Asam sulfat, Alumunium klorida, Asam asetat anhidrat, Kuersetin, Asam galat, Natrium Karbonat, Folin-Ciocalteu, Asam askorbat, DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Lt. 3 Universitas Ma Chung Malang. Lokasi tepatnya di Villa Puncak Tidar N-01 Malang, Jawa Timur, Indonesia. Lokasi pengambilan sampel di Jl Raya Tegalweru No.14, Selorejo, Kec. Dau, Malang, Jawa Timur. Penelitian ini dilakukan dalam rentang waktu bulan Agustus 2024 – Januari 2025.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi tumbuhan, determinasi tanaman dilakukan di Materia Medica Batu.

3.5.2 Pengambilan Sampel Kulit Jeruk Keprok

Setelah kulit jeruk dipotong-potong kecil berukuran 1-2 cm dan dipisahkan dari daging buahnya, kulit jeruk dibilas dengan air bersih dan ditiriskan. Kulit jeruk dijemur selama tiga hari, kemudian dioven selama empat hari untuk memastikannya benar-benar kering. Setelah itu, kulit jeruk yang telah kering diblender hingga halus untuk memperoleh serbuk ekstrak kering.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Jeruk

Setelah menimbang seratus gram bubuk kulit jeruk, teknik maserasi digunakan untuk melarutkannya dalam 1000 mL etanol 96% sebagai pelarut. Campuran tersebut diaduk dengan ultrasonografi selama 45 menit sebelum disimpan selama lima hari dengan pengadukan berkala. Ekstrak kental dibuat dengan mengkonsentrasikan larutan selama kurang lebih satu jam pada suhu 80°C dalam rotary evaporator setelah disaring menggunakan kertas saring. Pada tahap ini, ekstrak kental kulit jeruk dituangkan ke dalam cawan dan ditaruh di atas penangas air agar siap digunakan.

3.5.4 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan panca indera untuk menjelaskan warna, bau, rasa, dan bentuk ekstrak kulit jeruk keprok.

3.5.5 Analisis Kualitatif

1. Identifikasi Uji Alkaloid

5 mL HCl digunakan untuk melarutkan 1 gr ekstrak, yang kemudian dibagi menjadi tiga bagian dan dimasukkan ke dalam setiap tabung reaksi bersama dengan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff. (Nurlivia, 2022).

2. Identifikasi Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gr ekstrak di masukkan dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan kurang lebih 3 menit, lalu di tambahkan 2 mL HCL 0.1 gram magnesium, apabila terdapat senyawa flavonoid ditandai dengan warna kuning, merah, (Liunokas, 2022).

3. Identifikasi Uji Saponin

Sebanyak 1 gr ekstrak di masukkan dalam tabung reaksi ditambahkan menggunakan aquadest hingga larut kemudian dikocok kuat kemudian didihkan 2-3 menit. Jika terdapat buih yang stabil maka hasilnya positif (Nurlivia, 2022).

4. Identifikasi Uji Terpenoid

Dalam tabung reaksi, satu gram ekstrak ditambahkan ke dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. kemudian menambahkan 2 mililiter asam sulfat pekat (H_2SO_4), cairan diaduk untuk memastikan keseragamannya. Berdasarkan hasil uji, zat terpenoid terkandung dalam ekstrak jika muncul warna cokelat kemerahan setelah pencampuran (Nurlivia, 2022).

5. Identifikasi Uji Tanin

Sebanyak 1 gr di masukkan dalam tabung reaksi dilarutkan menggunakan aquadest lalu disaring kemudian filtratnya ditambahkan 2-3 tetes FeCl 1%. Apabila menghasilkan warna hijau-biru (hijau-kehitaman) maka positif adanya tanin katekol dan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tanin pirogalol (Nurlivia, 2022).

3.5.6 Analisis Kuantitatif

1. Penentuan Kadar Fenolik Total

a. Pembuatan pereaksi Na_2CO_3 7 %

Sebanyak 3,5gram Na_2CO_3 ditimbang, kemudian dilarutkan dengan aquadest hingga volume mencapai 50 mL (Malik dkk, 2015).

b. Pembuatan Baku Induk Asam galat 1000 ppm

Larutan stok dibuat dengan melarutkan 10 mg asam galat dalam 10 mL etanol p.a. Kemudian, 2,5 mL larutan stok dipipet, dan 25 mL etanol ditambahkan secara bertahap hingga volumenya mencapai 100 ppm, menghasilkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm (Malik dkk, 2015).

c. Penentuan Panjang Gelombang Asam galat

Sebanyak 1 mL larutan 100 ppm dipipet, kemudian ditambahkan 0,4 mL reagen Folin–Ciocalteu, dan dikocok hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dibiarkan selama 4–8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 , lalu campuran diinkubasi selama 2 jam. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400–800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum (Malik dkk, 2015).

d. Penentuan Operating Time

Sebanyak 1 mL larutan 100 ppm dipipet, kemudian ditambahkan 0,4 mL reagen Folin–Ciocalteu, dan dikocok hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dibiarkan selama 4–8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 , dan volume dicukupkan dengan etanol p.a hingga mencapai 10mL. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400–800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum, hingga diperoleh absorbansi yang stabil dalam rentang waktu tertentu (Malik dkk, 2015).

e. Pembuatan Kurva Baku Asam galat

Sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL larutan standar 100 ppm diambil, kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 10 mL untuk menghasilkan larutan dengan konsentrasi masing-masing 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Untuk masing-masing larutan, ditambahkan 0,4 mL reagen Folin–

Ciocalteu, kemudian dikocok dan dibiarkan selama 4–8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 , lalu dikocok hingga homogen. Volume campuran dicukupkan kembali dengan etanol p.a hingga 10 mL, kemudian diinkubasi selama beberapa menit pada suhu ruang. Selanjutnya, pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 720 nm (Malik dkk, 2015).

f. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kulit Jeruk Keprok

Sebanyak 10 mg ekstrak kulit jeruk keprok ditimbang. Kemudian, ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, dikocok dan dibiarkan selama 4–8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 , kemudian dikocok hingga homogen. Volume campuran dicukupkan dengan etanol p.a hingga 10 mL, lalu diinkubasi selama beberapa menit pada suhu ruang. Selanjutnya, pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 720 nm.

2. Penentuan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan pereaksi AlCl_3 10%

Sebanyak 2,5 gram AlCl_3 ditimbang, kemudian dilarutkan dengan 25 mL aquadest di dalam labu ukur 25 mL.

b. Pembuatan pereaksi Asam asetat 5%

Sebanyak 5 mL asam asetat dipipet, kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga volume 100 mL.

c. Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 mL larutan AlCl_3 dan 8 mL asam asetat dipipet, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga volume mencapai 10 mL.

d. Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Sebanyak 25 mg kuersetin ditimbang, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume mencapai 25 mL untuk membentuk larutan baku induk. Selanjutnya, sebanyak 1 mL larutan baku dipipet dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga volume 10 mL, sehingga diperoleh larutan kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm.

e. Penentuan Operating Time

Sebanyak 1 mL larutan kuersetin 100 ppm dipipet, kemudian ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ dan 8 mL asam asetat. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 16 menit. Setelah inkubasi, pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan untuk mengukur absorbansi sampel ekstrak kulit jeruk.

f. Pembuatan Kurva Baku Kuarsetin

Sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL larutan baku induk 1000 ppm dipipet, kemudian masing-masing dicukupkan volumenya dengan pelarut hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Setelah itu, pada masing-masing larutan ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ dan 8 mL asam asetat, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

g. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Jeruk Keprok

Sebanyak 10 mg ekstrak kulit jeruk ditimbang, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume mencapai 10 mL. Selanjutnya, sebanyak 1 mL larutan ekstrak dipipet, lalu ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ dan 8 mL asam asetat. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, dan absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm.

3.5.7 Pengujian In-Vitro: Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan pelarut hingga mencapai tandabatasvolume. Setelah itu, larutan disimpan dalam vial gelap atau ditutup menggunakan aluminium foil untuk menghindari paparan cahaya.

b. Pembuatan Larutan Kontrol Pembanding Vitamin C

Sebanyak 25 mg vitamin C ditimbang, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur hingga volume mencapai 25 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm.

Sebanyak 1 mL dari masing-masing konsentrasi dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan ditutup menggunakan aluminium foil. Campuran tersebut divortex selama 30 detik hingga homogen, lalu diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian dihitung persen inhibisinya.

c. Pembuatan Larutan Sampel Kulit Jeruk Keprok

Sebanyak 25 mg ekstrak ditimbang, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur hingga volume mencapai 25 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100ppm. Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan diambil, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH, dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a dalam labu ukur hingga 100 mL. Campuran tersebut kemudian divortex selama 30 detik hingga homogen, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm.

d. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 5 mL larutan induk DPPH dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga mencapai tanda batas volume dan dikocok hingga homogen. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam vial gelap atau ditutup menggunakan aluminium foil, lalu diinkubasi selama 30 menit di ruangan yang gelap. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–800 nm, dan panjang gelombang maksimum ditentukan pada 514 nm.

d. Pengujian Aktivitas DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Sampel dan kontrol positif (vitamin C) dilarutkan dalam etanol p.a, kemudian ditambahkan larutan DPPH. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam wadah gelap, dan

setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.8 Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu data kuantitati kadar fenolik total dan flavonoid total dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh sampel ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*). Kadar fenolik total dan flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linier: $y = bx + a$

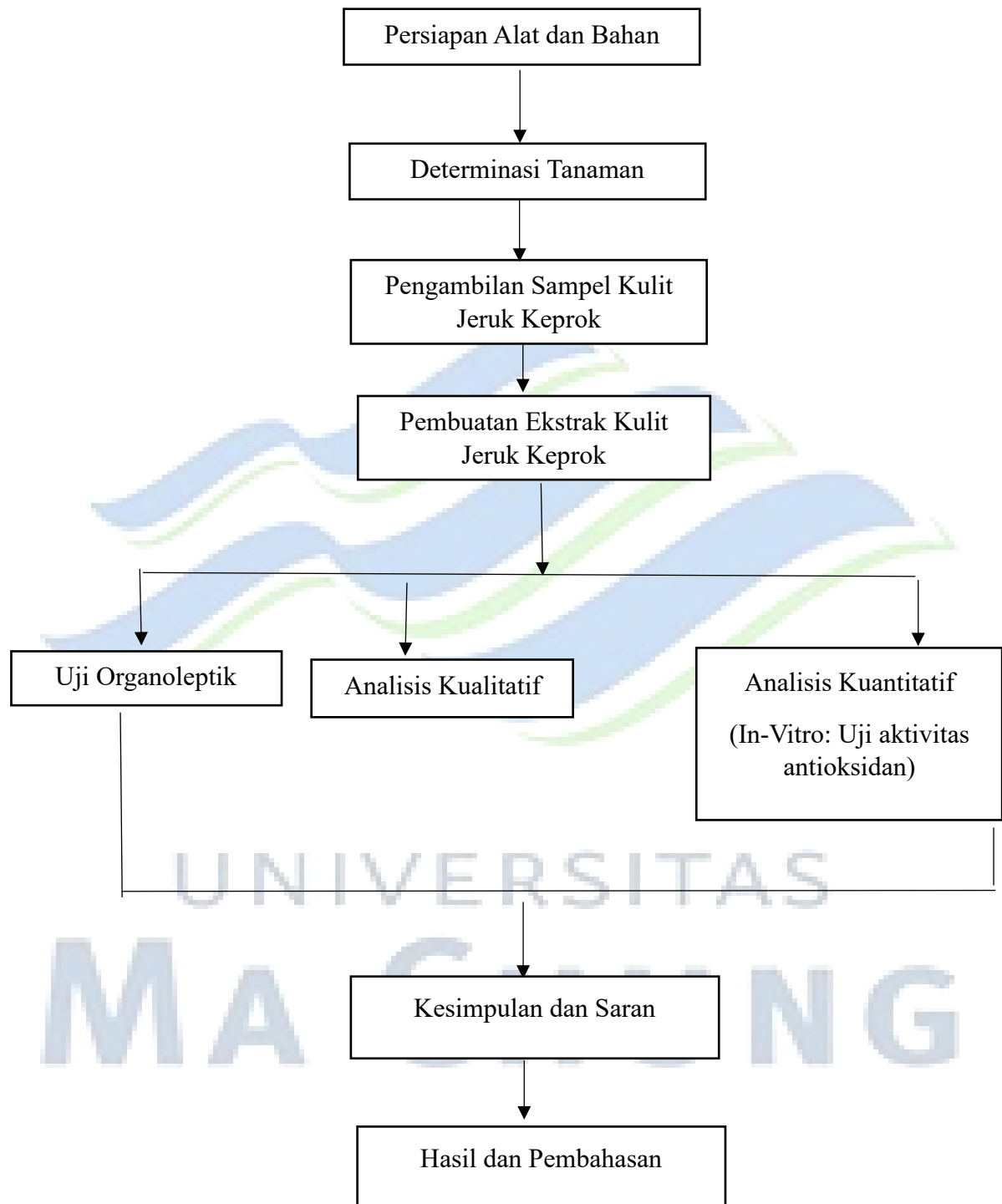
Pada aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC_{50} edasarkan kategori sangat kuat (<50 ppm), kuat (50-100 ppm), sedang (100-250 ppm), lemah (250-500 bpj), tidak aktif (>500 ppm). Hasil absorbansi (abs) dianalisis menggunakan persamaan

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{S_n - C_n}{C_p - C_n} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} dikategorikan aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada sampel. Perhitungan nilai tersebut berdasarkan persamaan regresi linear. $y = bx + a$

UNIVERSITAS
MA CHUNG

3.5.9 Bagan Alur Kerja



Gambar 3. 1 Alur Kerja

Bab IV Hasil dan Pembahasan

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang.

4.1.2 Ekstraksi

Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak bahan. 10 gr simplisia kering ditimbang, ditempatkan dalam beaker glass 1000 mL, dilarutkan dalam 1000 mL etanol 96%, kemudian diaduk dengan ultrasonik selama kurang lebih empat puluh lima menit. Selanjutnya, didiamkan selama kurang lebih 5 hari, sambil sesekali diaduk. Kemudian filtrat dilakukan pengentalan menggunakan rotary evaporasi sehingga didapatkan ekstrak kental 19,5gram dengan hasil rendemen 18,75 %.

4.1.3 Rendemen Ekstrak

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat hasil ekstrak}}{\text{Berat ekstrak awal}} \times 100\%$$

Sebanyak 4 kg jeruk keprok menghasilkan 500gram kulit jeruk dan memperoleh 104gram simplisia kering dan diperoleh 19,5gram ekstrak kental. Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan diperoleh % rendemen sejumlah 18,75%.

Tabel 4. 1 Hasil Uji Organoleptik

Organoleptik Ekstrak	Hasil Pengamatan
Warna	Coklat pekat
Rasa	Pahit
Bau	Khas kulit jeruk
Bentuk	Cairan kental

4.1.5 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*)

Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Universitas Ma Chung secara kualitatif dengan menggunakan metode tabung. Hasil tabel analisis skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk keprok.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Jeruk Keprok

Parameter Uji	Reagen	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan	Keterangan
Alkaloid	Dragendroff	Jingga	Endapan jingga kecoklatan	Positif
	Mayer	Jingga	Kuning pekat	Positif
	Wagner	Jingga	Endapan jingga kecoklatan	Positif
Flavonoid	HCL	Jingga	Endapan hitam kehijauan	Negatif
Saponin	Magnesium			
	Aquadest	Jingga tidak berbuih	Jingga berbuih	Positif
Terpenoid	H2SO4	Jingga	Kecoklatan pekat	Positif
Tanin	FeCl3	Jingga	Hijau kehitaman	Positif

4.1.6 Hasil Uji Kuantitatif Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok**Tabel 4. 3 Hasil penetapan kadar Flavonoid**

Replikasi	Absorbansi (Y)	Kandungan Flavonoid Awal	Kandungan Flavonoid total (mg GAE/ g ekstrak)	Rata-rata Flavonoid total (%)
1	0.806	8.651	8.651	
2	0.7342	7.890	7.890	8.16 %
3	0.7396	7.947	7.947	

4.1.7 Hasil Uji Kuantitatif Fenolik Total Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok

Tabel 4. 4 Hasil Penetapan Kadar Fenolik

Replikasi	Absorbansi (Y)	Kandungan Fenolik Awal (mg/mL)	Kandungan Fenolik total	Rata-rata Fenolik total (%)
1	0.3635	90.409	9.040	9.06%
2	0.3641	90.716	9.071	
3	0.3644	90.870	9.087	

4.1.8 Hasil Pengujian *In-Vitro* Aktivitas Antioksidan DPPH

a. Replikasi 1

Tabel 4. 5 Tabel DPPH Replikasi 1

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.4969	53.1804281	12.8909032
40	0.4675	62.1712538	
60	0.432	73.0275229	
80	0.4002	82.7522936	
100	0.3761	90.1223242	

b. Replikasi 2

Tabel 4. 6 Tabel DPPH Replikasi 2

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.5412	36.2393126	41.3602941
40	0.4917	50.3418803	
60	0.4532	61.3105413	
80	0.4123	72.962963	
100	0.3633	86.9230769	

C. Replikasi 3

Tabel 4. 7 Tabel DPPH Replikasi 3

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.5395	47.3829201	24.6595828
40	0.5049	56.9146006	
60	0.4863	62.0385675	
80	0.4598	69.338843	
100	0.435	76.1707989	

4.2 Pembahasan

4.2.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman yang dilakukan pada UPT Laboratorium Herbal Materia Batu Malang menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*).

4.2.2 Rendemen ekstrak

Rendemen ekstrak pada penelitian ini diperoleh melalui metode ekstraksi maserasi. Metode ini dipilih karena baik untuk menarik senyawa yang tidak tahan panas sehingga komponen senyawa tidak terurai atau rusak, pada pengerjaan dan peralatan yang digunakan juga sederhana. Senyawa bioaktif seperti flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pada proses ekstraksi ini pelarut yang digunakan merupakan etanol 96% karena mudah berpenetrasi ke dalam membran sel tanaman. Pemilihan jenis pelarut didasarkan pada polaritasnya agar memudahkan pada saat pemisahan senyawa aktif pada sampel. Pelarut etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar. Pelarut etanol juga lebih selektif, tidak toksik, dan netral. Semakin tinggi konsentrasi dari pelarut, maka daya merusak sel tanaman lebih besar sehingga zat aktif mudah tertarik dan hasil ekstraksi lebih maksimal (Subaryanti dkk, 2022).

Jeruk keprok (*Citrus reticulata*) menghasilkan 19,5 gram ekstrak kental, yang diekstraksi dengan rendemen 18,75%. Kita perlu mengetahui rendemen sampel untuk menentukan berapa banyak ekstrak yang terekstraksi selama proses ekstraksi. Rendemen sampel berkorelasi dengan zat aktifnya; nilai rendemen yang tinggi berarti senyawa aktif dalam sampel juga tinggi. Konsentrasi bahan aktif yang tinggi ditunjukkan oleh rendemen

yang tinggi. Rendemen yang dikatakan baik jika nilainya lebih tinggi dari 10% (Subaryanti dkk, 2022).

Rendemen merupakan perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang dimiliki pada tumbuhan. Apabila semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Dotulong dkk, 2020). Faktor yang dapat mempengaruhi hasil rendemen diantaranya metode ekstraksi yang digunakan, durasi dalam proses ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, temperatur dan rasio simplisia dengan pelarut dan ukuran partikel simplisia (Nurlivia, 2022).

4.2.3 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok

Skrining fitokimia ekstrak kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit jeruk keprok. Uji skrining fitokimia dilakukan secara uji kualitatif menggunakan tabung reaksi, prinsip yang digunakan apabila terdapat perubahan warna yang disebabkan penambahan suatu reaksi. Ketidaksesuaian pelarut yang digunakan menjadi faktor yang dapat mempengaruhi tertariknya senyawa aktif. Berdasarkan hasil skrining fitokimia bahwa ekstrak kulit jeruk keprok mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid.

Hasil uji kandungan alkaloid ekstrak menunjukkan terbentuknya endapan, yang warnanya bervariasi tergantung jenis reagen. Reagen Dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga atau kuning kecokelatan dalam uji. Ketika reagen Wagner digunakan, hasilnya adalah endapan berwarna gelap, tetapi reagen Mayer menghasilkan endapan berwarna putih. Reaksi antara alkaloid dan salah satu komponen reagen garam bismut yang mengandung bismut nitrat menghasilkan endapan dalam uji reagen Dragendorff. Ketika ion Bi^{3+} dalam garam bismut terhidrolisis, ion bismutit (BiO^+) terbentuk. Proses hidrolisis terhenti ketika bismut nitrat larut dalam asam klorida (HCl), karena kesetimbangan reaksi bergeser ke kiri. Endapan berwarna khas dihasilkan ketika ion Bi^{3+} dan kalium iodida bereaksi menghasilkan kalium tetraiodobismutat. Dengan bereaksi dengan ion logam dalam reagen, alkaloid dalam uji alkaloid reagen Mayer menghasilkan endapan putih. Kompleks terbentuk ketika atom nitrogen dalam molekul alkaloid, yang memiliki sepasang elektron tunggal, membentuk ikatan dengan ion logam K^+ yang terdapat dalam reagen Mayer, yang meliputi kalium tetraiodomercurat (II). Ketika ikatan kovalen koordinat

terbentuk, senyawa kompleks kalium-alkaloid mengendap. Endapan coklat terbentuk sebagai tanda keberadaan alkaloid dalam uji reagen Wagner, yang menggunakan iodine dan kalium iodida. Struktur kompleks ini mirip dengan reagen Mayer, yang terbentuk ketika elektron tunggal atom nitrogen alkaloid berikatan dengan ion logam dalam reagen. Di sini, ikatan kovalen koordinasi terbentuk antara ion logam K^+ dan tetraiodomerkurat (II) dalam reagen untuk membentuk kompleks kalium-alkaloid. Ketika komponen logam dalam reagen berinteraksi dengan struktur nitrogen dalam alkaloid, terbentuk endapan coklat (Nurchayati dkk, 2023).

Hasil dari identifikasi uji saponin ekstrak menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya buih selama pengocokkan pada tabung reaksi, buih terbentuk karena saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat di kocok gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan pada gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih (Nento dkk, 2022).

Hasil dari identifikasi tanin menunjukkan warna hitam kehijauan. $FeCl_3$ bereaksi dengan senyawa tanin dan mengubahnya menjadi hitam legam, ungu, hijau, dan merah ketika ditambahkan. Ekstrak bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk kompleks kalium trioksalferat Ferri(III), sehingga berubah menjadi hitam kehijauan ketika larutan $FeCl_3$ ditambahkan (Yumareta dkk, 2022).

Hasil dari uji identifikasi uji terpenoid menunjukkan hasil positif dengan adanya warna berupa cincin kecoklatan. Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 pekat. Pada saat H_2SO_4 pekat diteteskan melalui dinding tabung reaksi maka reaksi anhidrat asetat bereaksi dengan asam sehingga atom C pada anhidrat membentuk karbokation. Pada karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus $-OH$ yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrat asetat (Leo dkk, 2023).

4.2.4 Hasil Uji Kuantitatif Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok

4.2.4.1 Uji Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Jeruk Keprok

Pengukuran kadar senyawa flavonoid total diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Penentuan kadar senyawa flavonoid total dinyatakan dalam gram ekuivalen kuersetin tiap gram subfraksi (b/b QE) (Karimah dkk, 2023). Penentuan kadar flavonoid total dinyatakan dalam *Quercetin Equivalent*

(QE) dengan menggunakan prinsip AlCl_3 . Pada pengukuran total flavonoid total ekstrak etanol kulit jeruk keprok diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum diperoleh 435 nm. Standar kuersetin digunakan sebagai pembanding dikarenakan masih salah satu golongan flavonoid (Pratiwi dkk, 2020).

Pengukuran absorbnasi dengan panjang gelombang 435 nm dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Dari hasil kurva kalibrasi flavonoid total ditunjukkan seperti diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0.0943x - 0.0102$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0.992. Nilai r yang mendekati angka 1 menunjukkan adanya linieritas dalam persamaan regresi tersebut (Nurlivia, 2022).

Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena menjadi senyawa dengan penyebaran paling luas untuk setiap tumbuhan dan glikosidanya dengan jumlah 60-75% dari flavonoid. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang bisa bereaksi dengan AlCl_3 membentuk kompleks (Karimah dkk, 2023). AlCl_3 digunakan untuk pembentukan kompleks dengan gugus hidroksi pada flavonoid sehingga menghasilkan warna. Pada pengukuran kadar flavonoid dilakukan penambahan kadar AlCl_3 dapat membentuk kompleks dengan kuersetin, sehingga terjadi penggeseran panjang gelombang ke arah *visible* (nampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Pratiwi dkk, 2020). Sedangkan penambahan asam asetat sebagai menstabilkan pembentukan kompleks AlCl_3 (Karimah dkk, 2023). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh ditunjukkan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*citrus reticulata*) sebesar 8,16%.

4.2.4.2 Uji Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Keprok

Pada uji kuantitatif ekstrak etanol kulit jeruk dilakukan dengan analisis kadar fenolik total menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteau. Metode yang sering digunakan dalam penentuan kandungan fenolik total pada tanaman dengan teknik pengerjaan sederhana menggunakan reagen Folin Ciocalteau. Senyawa fenolik yang bereaksi dengan folin membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya (Syafrianti dkk, 2020).

Rentang panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur total kandungan senyawa fenolik dalam larutan asam galat adalah 400–800 nanometer. Berdasarkan hasil pengukuran, panjang gelombang dengan nilai serapan tertinggi adalah 712 nanometer. Oleh

karena itu, pengukuran absorbansi untuk berbagai konsentrasi larutan asam galat dilakukan pada panjang gelombang tersebut. Setelah pengukuran absorbansi pada setiap konsentrasi, kurva kalibrasi dibuat menggunakan data yang terkumpul. Hubungan antara konsentrasi standar larutan asam galat dan nilai absorbansinya digambarkan oleh kurva ini. Persamaan regresi linier diturunkan dari kurva kalibrasi dan digunakan sebagai panduan untuk menentukan total kandungan fenolik sampel uji berdasarkan nilai absorbansi terukur. Kadar fenolik total akan ditentukan menggunakan ekstrak etanol kulit jeruk keprok, dan koefisien korelasi (r) harus berada di antara 0,996 dan 1 agar memenuhi syarat metode analisis yang diterima (Syafrianti dkk, 2020). Berdasarkan uji yang telah dilakukan diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0.0195x + 0.1868$ dengan perolehan koefisien korelasi (r) = 0.9909 yang memenuhi syarat kelayakan metode analisis.

Asam galat adalah molekul fenolik stabil yang terbentuk secara alami dan digunakan sebagai larutan standar atau referensi dalam percobaan. Asam galat merupakan anggota gugus fenolik sederhana dan merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat. Reagen Folin-Ciocalteu dan asam galat berikatan menghasilkan larutan berwarna kuning dalam metode analisis kandungan fenolik total. Karena munculnya warna ini menunjukkan adanya gugus fenol, evaluasi kuantitatif senyawa fenolik dalam sampel uji didasarkan pada reaksi ini. Setelah itu, penambahan larutan Na_2CO_3 akan memberikan warna biru pada area tersebut (Ahmad dkk, 2015).

Gugus hidroksil dari senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin Ciocalteu untuk menghasilkan kompleks molibdenum-tungsten biru yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer. Struktur kompleks ini belum diketahui. Asam heteropoli fosfomolibdat-fosfotungstik akan tereduksi menjadi kompleks molibdenum-tungsten pada konsentrasi ion fenolik yang lebih tinggi, menghasilkan rona biru yang lebih pekat. Konsentrasi ion fenolik yang terbentuk setara dengan konsentrasi ini (Syafrianti, 2020). Pada pengukuran senyawa fenolik total dibuat sebanyak tiga replikasi untuk akurasi data. Ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) memiliki total kandungan fenolik sebesar 9,06%.

4.2.5 Hasil Uji In-Vitro Antioksidan DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip dari metode ini mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan pengukuran aktivitas perendaman radikal DPPH oleh ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis

dengan panjang gelombang 517 nm sehingga akan diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibitory concentration*).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Sn - Cn}{Cp - Cn} \times 100\%$$

Keterangan

Sn : Sampel

Cp : Kontrol positif

Cn : Kontrol negatif

Nilai IC_{50} konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas DPPH dihitung menggunakan data persentase inhibisi dari berbagai konsentrasi ekstrak. Pembuatan kurva regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan persentase inhibisi memungkinkan perhitungan IC_{50} . Dengan x adalah konsentrasi sampel dan y adalah persentase inhibisi, persamaan regresi linier yang digunakan adalah $y = bx + a$. Nilai x dihitung sebagai representasi IC_{50} setelah $y = 50$ dimasukkan ke dalam persamaan untuk menentukan nilai IC_{50} . Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan efek inhibisi 50% juga ditunjukkan oleh nilai x yang dihitung menggunakan persamaan ini. Indikator kuantitatif aktivitas antioksidan suatu zat adalah IC_{50} -nya. Antioksidan dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah lebih baik dalam menetralkan radikal bebas (Liunokas dkk, 2022).

Etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) digunakan untuk menganalisis data antioksidan radikal DPPH (% penghambatan) dan kemudian menghitung nilai IC_{50} . Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah. Pada penelitian ini nilai IC_{50} dianalisis dan dihitung menggunakan persamaan regresi linear. $y = bx + a$ Pada penelitian ini nilai IC_{50} dianalisis dan dihitung menggunakan persamaan regresi linear. $y = bx + a$ (Liunokas dkk, 2022).

Keterangan :

y = Persentase aktivitas antioksidan

x = Konsentrasi larutan uji (ppm)

a = Kemiringan Kurva (slope atau gradien)

b = Tetapan intersep

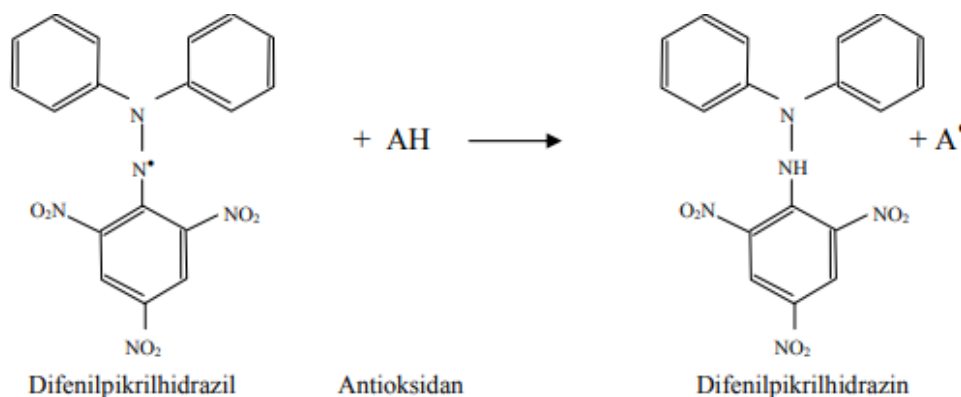
Hasil perhitungan dimasukan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak sebagai absis (sumbu x) dan nilai persentase peredaman (aktivitas antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y). Hasil analisis regresi linear berupa nilai x, dimasukan ke dalam rumus $IC_{50} = \text{antilog } x$ dan ditentukan tingkat kekuatan antioksidan.

Proses ekstraksi simplisia kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena cara pengerjaan yang sederhana, cepat menarik senyawa kimia yang terdapat dalam sampel, peralatan yang digunakan mudah di dapatkan dan tidak memerlukan peralatan khusus. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol juga memiliki sifat toksisitas rendah sehingga tidak merusak sampel, absorbansinya baik dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur (Antasionasti dkk, 2022).

Pada ekstraksi metode maserasi dipilih karena metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana. Selain itu metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa-senyawa yang tidak tahan panas tidak akan terurai dan dimungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi (Wuri dkk, 2022).

Maserasi yang dilakukan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut ini didasarkan karena etanol merupakan pelarut bersifat polar, selektif, dan tidak toksik memiliki kemampuan menyari yang baik dan dapat menyari senyawa yang bersifat polar, nonpolar, dan semi polar. Selain itu pelarut etanol 96% mampu berpenetrasi sampai ke dinding sel sampel dibandingkan dengan etanol yang konsentrasinya lebih rendah dan mudah diuapkan sehingga mudah diperoleh ekstrak etanol yang pekat (Wuri dkk, 2022).

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*). Metode DPPH digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah dilakukan, waktu analisis yang cepat dan sampel yang digunakan dalam jumlah yang sedikit. Pada tabel 4.5, dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka aktivitas antioksidan juga semakin besar. Ditandai dengan berkurangnya intensitas warna menggambarkan penurunan konsentrasi DPPH yang diberi sampel maupun pembanding. Semakin besar aktivitas peredaman radikal DPPH maka konsentrasi DPPH yang masih ada semakin kecil, sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan semakin turun. Berikut reaksi senyawa yang bersifat sebagai antioksidan dengan molekul DPPH (Khasanah & Ulfah, 2014).



Gambar 4. 1 Reaksi Peredaman DPPH dengan Senyawa Antioksidan

(Khasanah & Ulfah, 2014)

Prinsip dari metode DPPH adalah terjadinya interaksi antioksidan dengan DPPH secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan radikal bebas dari DPPH. Pada metode DPPH hasil positif adanya aktivitas antioksidan pada sampel maka akan mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH, dari warna ungu menjadi warna kuning. Perubahan warna yang terjadi dikarenakan adanya senyawa yang memberikan radikal kepada DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H. Metode DPPH memiliki keunggulan yakni metode analisisnya bersifat sederhana, cepat, mudah, dan sensitive terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil namun pengujian menggunakan DPPH (Amnestiya dkk, 2023).

Besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai IC_{50} . IC_{50} adalah besarnya konsentrasi inhibisi larutan uji terhadap kemampuannya menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan cara menghitung konsentrasi dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik regresi linier hubungan konsentrasi vs %inhibisi. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Berdasarkan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) mendapatkan aktivitas antioksidan dengan 3 kali replikasi dengan ditunjukkan pada tabel 4.5 replikasi 1 sebesar 12,89 ppm, pada tabel 4.6 replikasi 2 sebesar 41,36 ppm, dan pada tabel 4.7 replikasi 3 sebesar 24,65 ppm. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (< 50 ppm).

Bab V

Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan peneliti dapat menarik Kesimpulan antara lain:

1. Pada Uji kualitatif kadar flavonoid total memiliki kandungan sebesar 8,16% dan uji kualitatif kadar fenolik total sebesar 9.06%
2. Pada uji aktivitas antioksidan dengan hasil 12,89 – 41,36 ppm, dengan \pm SD 14,31 besar nilai tersebut menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat (<50 ppm) yang mana sesuai dengan literatur yang ada.

5.2 Saran

1. penelitian selanjutnya, perlu dilakukan uji GC/LC untuk mengetahui senyawa kimia yang lebih spesifik pada tanaman jeruk keprok (*Citrus reticulata*)
2. Pada penelitian selanjutnya, perlu dilakukan uji LC-MS untuk mengetahui senyawa kimia yang paling berperan sebagai senyawa antioksidan pada tanaman jeruk keprok (*Citrus reticulata*).
3. Pada penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan ABTS dan FRAP sebagai pembanding guna memperoleh hasil yang lebih valid.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Afrianty, S., Ratulangi, D., Malik, A., & Sm, J. R. M. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) Abstrak, 2(1).
- Amnestiya, P., Putra, A. Y., Sari, Y., Kimia, P., & Riau, U. I. (2023). Review : Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Limbah Kulit Buah Indonesia Review Journal : Identification of Secondary Metabolite Compounds. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 20(2), 98–104.
- Anggraeni Putri, P., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2)(2), 251–258.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Azalia, D., Rachmawati, I., Zahira, S., Andriyani, F., Melia Sanini, T., & Rahmi Aulya. (2023). Uji Kualitatif Senyawa Aktif Flavonoid Dan Terpenoid Pada Beberapa Jenis Tumbuhan Fabaceae Dan Apocynaceae Di Kawasan Tngpp Bodogol. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 8(1), 32–43. Retrieved from <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Citrus, S., Dengan, L., Dpph, M., Paat, S. F. A., & Antasionasti, I. (2022). Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Lemon Peel (Citrus UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH LEMON, 11, 1315–1320.
- Cunha, T. M. Da, Suwari, & Liunokas, M. R. (2022). Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*). *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia I*, (2017), 69–77.
- Dhurhanian CE, & Novianto A. (2018). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62.
- Hartati, I., Nurfaizin, S., Suwardiyono, & Kurniasari, L. (2016). Ekstraksi Gelombang Mikro Terpenoid Daun Surian (*Toona sureni merr*). *Inovasi Teknik Kimia*, 1(2), 98–103.

- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afitri, E., Widyastuti, R., & Ardiansyah, A. (2021). Buku Referensi Ekstraksi. IAIN Palangka Raya.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., & Khoirunnisa, N. (2023). Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 8 Nomor 1 Februari 2023 Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional Qualitative Test of Secondary Metabolites in Several Plants Efficacious as Traditional Medicine, 8.
- Khasanah, I., & Ulfah, M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Metode DPPH (1 , 1-difenil-2- pikrilhidrazil), 9–17.
- Nurlivia, S. (2022). Optimasi Formula Tablet Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) Dengan Kombinasi Polyvinilpirolidone Dan Croscarmellose Sodium. Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, (April), 1–54.
- Putria, D. K., Salsabila, I., Darmawan, S. A. N., Pratiwi, E. W. G., & Nihan, Y. A. (2022). Identifikasi Tanin pada Tumbuh-tumbuhan di Indonesia. *PharmaCine : Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 3(1), 11–24. <https://doi.org/10.35706/pc.v3i1.7238>
- Qonitah, F., Ariastuti, R., Maharani, P., & Wuri, N. A. (2022). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dari Kabupaten Klaten, 34(01), 47–51.
- Ramadhani, N., Samudra, A. G., & Pratiwi, L. W. I. (2020). Analisis Penetapan Kadar Flavonoid Sari Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(01), 53–58. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.57>
- Ravelliani, A., Nisrina, H., Komala Sari, L., Marisah, M., & Riani, R. (2021). Identifikasi dan Isolasi Senyawa Glikosida Saponin dari Beberapa Tanaman di Indonesia. *Jurnal Sosial Sains*, 1(8), 786–799. <https://doi.org/10.59188/jurnalsosains.v1i8.176>
- RISMA, A. (2022). Studi Perbandingan Metode Pengukuran

ANTIOKSIDAN. UIN RADEN INTAN LAMPUNG.

- Rizky Saputra, D., Melati, R., & Karimah, U. (2023). PENGUKURAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL & FRAKSI ETIL ASETAT DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Journal of Sustainable Transformation*, 2(01), 36–44. <https://doi.org/10.59310/jst.v2i01.26>
- Salmiyah, S., & Bahrudin, A. (2018). Fitokimia dan antioksidan pada buah tometome (*Flacourtia inermis*). *Hospital Majapahit (Jurnal Ilmiah Kesehatan Politeknik Kesehatan Majapahit Mojokerto)*, 10(1).
- Sari, N. K. (2022). UJI AKTIVITAS SEDIAAN TABLET ANTIKOLESTEROL EKSTRAK KULIT JERUK KEPROK (*Citrus reticulata*) TERHADAP KADAR HDL DAN TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR. Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan alami dan sintetis. Padang: Andalas University Press.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Subaryanti, Sabat, D. M. D., & Trijuliamos, M. R. (2022). Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* Antimicrobial. *Sainstech Farma*, 15(2), 93–102.
- Suhartati, T. (2017). Dasar-dasar Spektrofotometri UV-VIS dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, 59, 106.
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Manteu, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94–102. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v4i2.15213>
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Classification and Pharmacological Activities

of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(2), 130–136. Retrieved from <https://jurnal.unpad.ac.id/ijbp>

Suryanita, S., Aliyah, A., Djabir, Y. Y., Wahyudin, E., Rahman, L., & Yulianty, R. (2019). IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK BALI (*Citrus maxima* Merr.). *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(1), 16–20. <https://doi.org/10.20956/mff.v23i1.6461>

Tahir, M., Muflihunna, & Syafrianti. (2020). Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 215–218.

Takaeb, M. J., & Leo, M. I. (2023). Identifikasi Metabolit Sekunder pada Sopi Kualin (SOKLIN) yang Dibuat Dengan dan Tanpa Fermentasi di Desa Kualin Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 6(2), 111–116. <https://doi.org/10.24246/juses.v6i2p111-116>

UNIVERSITAS
MA CHUNG

LAMPIRAN

Lampiran A Surat Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 000.9.3/ 2850/ 102.20/ 2024
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Jeruk Keprok**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : BELIA BERNADINE FD
NIDN : 611810002
Fakultas : FAKULTAS ILMU KESEHATAN, UNIVERSITAS MA CHUNG

1. Perihal determinasi tanaman jeruk keprok

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae (suku jeruk-jerukan)
Genus : Citrus
Spesies : *Citrus reticulata* Blanco
Nama Daerah : Jeruk keprok (Melayu), Jeruk jepun, Jeruk keprok (Sunda), Jeruk keprok (Jawa), Jeruk keprok (Madura).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-197b-208b- 219b-220b-224b-225b-227b-229a:Rutaceae-1a:Citrus-1b-3a:*C. reticulata*.

2. Morfologi

: Habitus: Pohon, tinggi 6-8 m. Batang: Tegak, bulat, percabangan simpodial, hijau kotor. Daun: Tunggal, berseling, lonjong, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, panjang 4-8 cm, lebar 2-4 cm, tangkai bersayap, panjang 0,5-1,5 cm, hijau, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Majemuk, di ujung batang dan di ketiak daun, tangkai segi tiga, panjang 3-4 cm, hijau kekuningan, kelopak bentuk bintang, berbagi lima, hijau, benang sari silindris, panjang \pm 0,5 cm, kepala sari bentuk ginjal, kuning, tangkai putik silindris, kepala putik bulat, kuning, mahkota bentuk bintang, lima helai, putih. Buah: Buni, bulat, diameter 5-8 cm, permukaan kasar, masih muda hijau setelah tua kuning. Biji: Bulat telur, diameter \pm 3 mm, putih. Akar: Tunggang, putih kekuningan.

3. Bagian yang digunakan : Kulit Buah.

4. Penggunaan : Penelitian (Tugas Akhir / Skripsi).

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

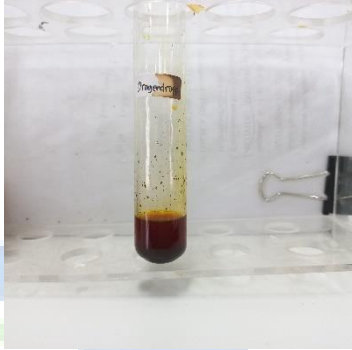
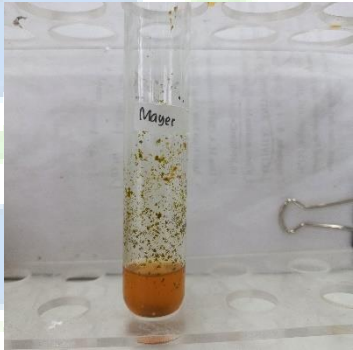
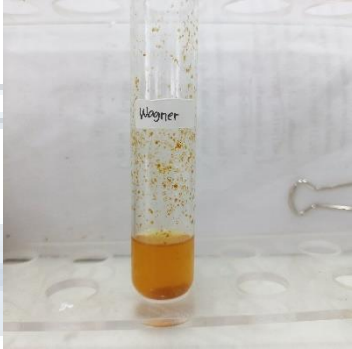
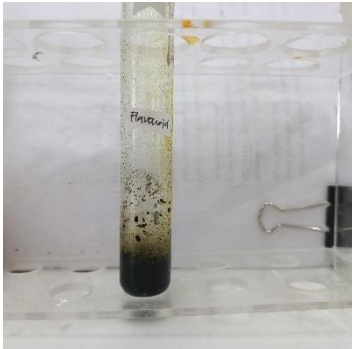
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

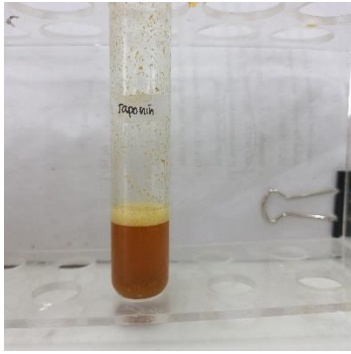
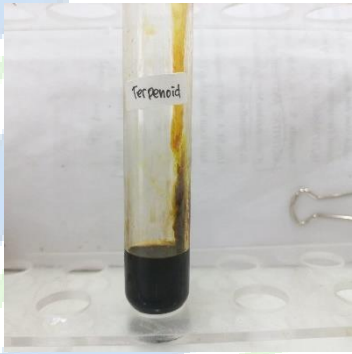
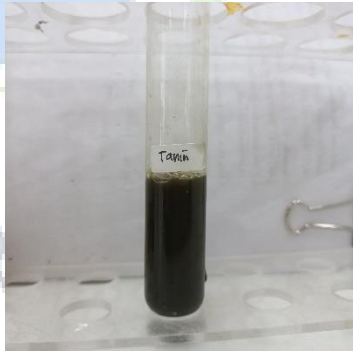
Batu, 02 September 2024

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

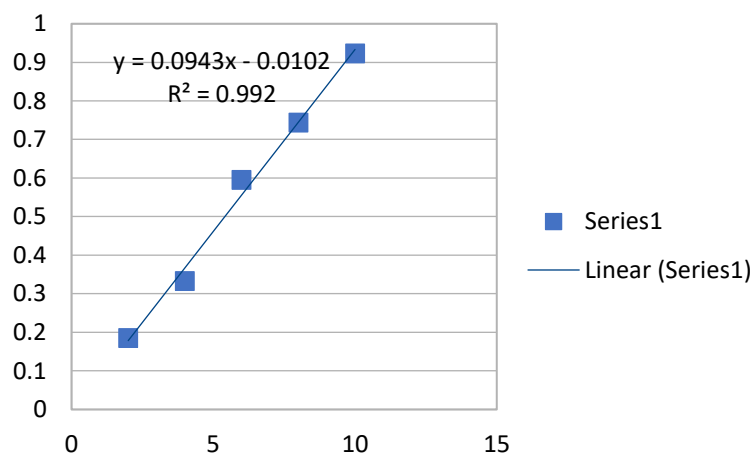
Dr. RATNA YULIANTI, M.M.
Pembina Tk. I
NIP. 19710711 200012 2 002

Lampiran B Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Jeruk Keprok

No	Perlakuan	Gambar
1	Uji Dragendroff	
2	Uji Mayer	
3	Uji Wagner	
4	Uji Flavonoid	

5	Uji Saponin	
6	Uji Terpenoid	
7	Uji Tanin	

Lampiran C Uji Kuantitatif Flavonoid Total Ektrak Kulit Jeruk Keprok

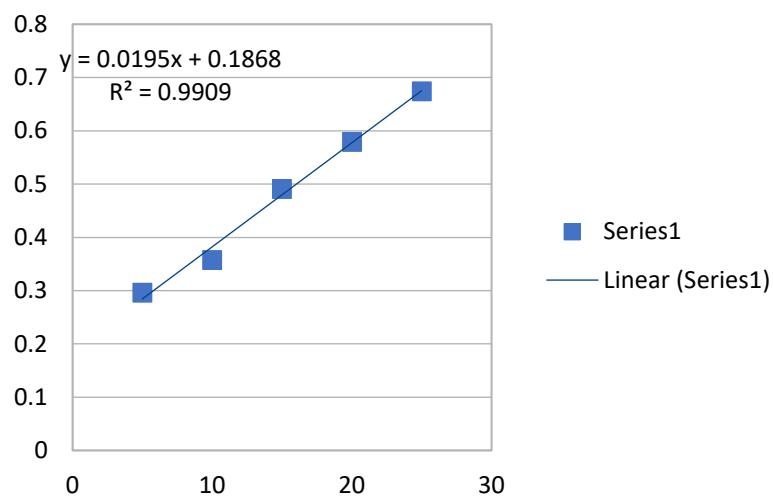


C.1 Gambar Kurva Standar Kuersetin

C.2 Tabel Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Replikasi	Absorbansi (Y)	Kandungan Flavonoid Awal	Kandungan Flavonoid total (mg GAE/ g ekstrak)	Rata-rata Flavonoid total (%)
1	0.806	8.651	8.651	8.16 %
2	0.7342	7.890	7.890	
3	0.7396	7.947	7.947	

Lampiran D Uji Kuantitatif Fenolik Total Ekstrak Kulit Jeruk Keprok



D.1 Gambar Kurva Standar Asam Galat

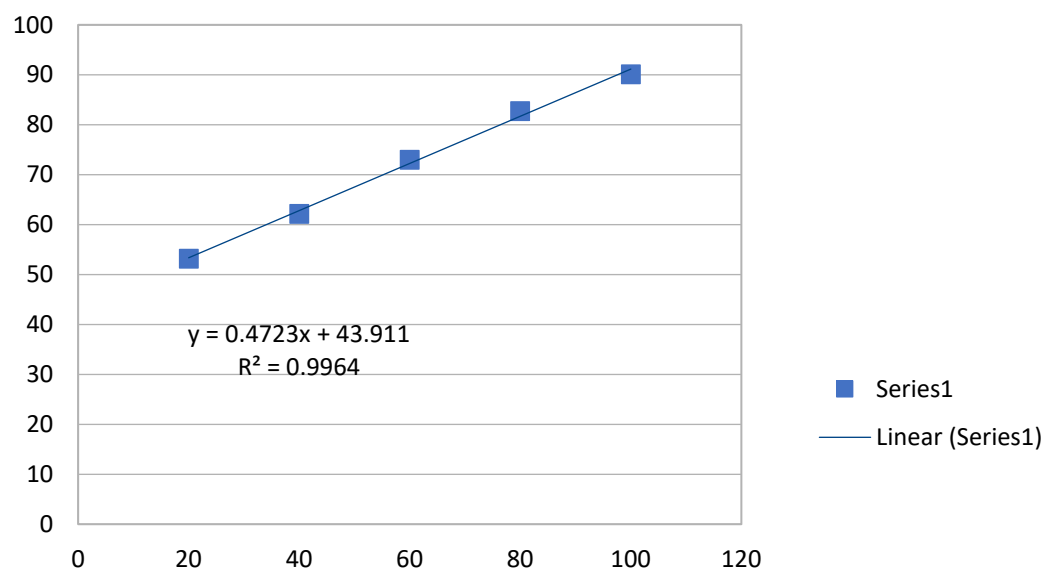
D.2 Tabel Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total

Replikasi	Absorbansi (Y)	Kandungan Fenolik Awal (mg/mL)	Kandungan Fenolik total	Rata-rata Fenolik total (%)
1	0.3635	90.409	9.040	9.06%
2	0.3641	90.716	9.071	
3	0.3644	90.870	9.087	

Lampiran E Hasil Pengujian In-Vitro Aktivitas Antioksidan

E.1 Tabel Replikasi 1

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.4969	53.1804281	12.8909032
40	0.4675	62.1712538	
60	0.432	73.0275229	
80	0.4002	82.7522936	
100	0.3761	90.1223242	



E.2 Gambar Kurva DPPH Replikasi 1

Perhitungan IC₅₀

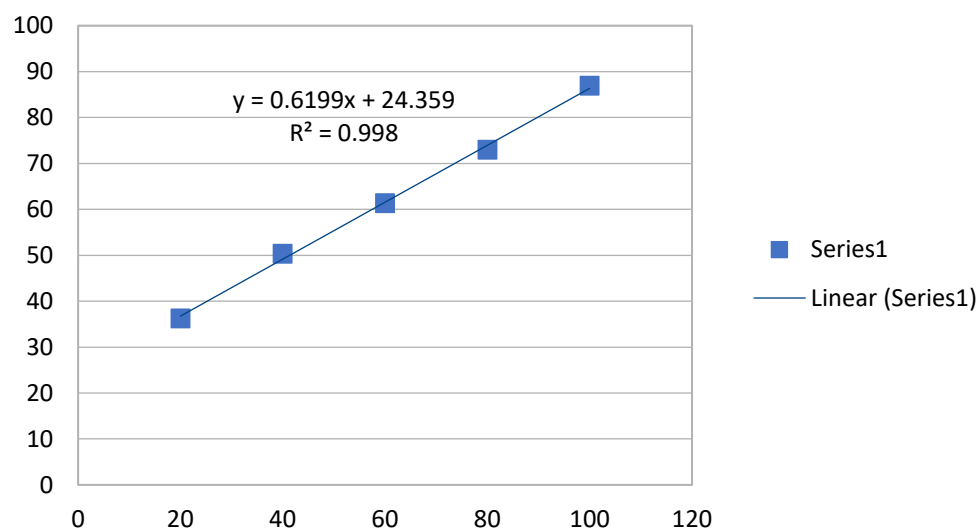
$$y = 0.4723x + 43.911$$

$$50 = 0.4723x + 43.911$$

$$x = \frac{50 - 43.911}{0.4723} = 12.89222952$$

E.3 Tabel Replikasi 2

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.5412	36.2393126	41.3602941
40	0.4917	50.3418803	
60	0.4532	61.3105413	
80	0.4123	72.962963	
100	0.3633	86.9230769	



E.4 Gambar Kurva Replikasi 2

Perhitungan IC₅₀

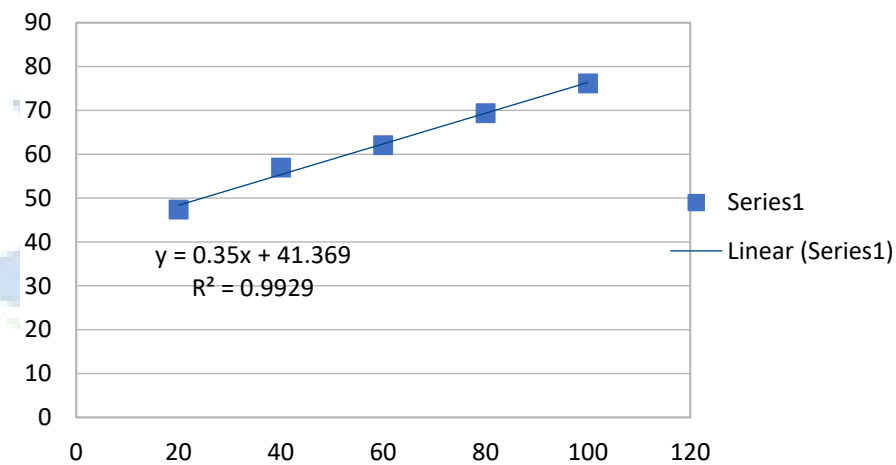
$$y = 0.6199x + 24.359$$

$$50 = 0.6199x + 24.359$$

$$x = \frac{50 - 24.359}{0.6199} = 41.36312308$$

E.5 Tabel Replikasi 3

Konsentrasi	Sn (Sampel)	% DPPH	IC ₅₀
20	0.5395	47.3829201	24.6595828
40	0.5049	56.9146006	
60	0.4863	62.0385675	
80	0.4598	69.338843	
100	0.435	76.1707989	



E.6 Gambar Kurva Replikasi 3

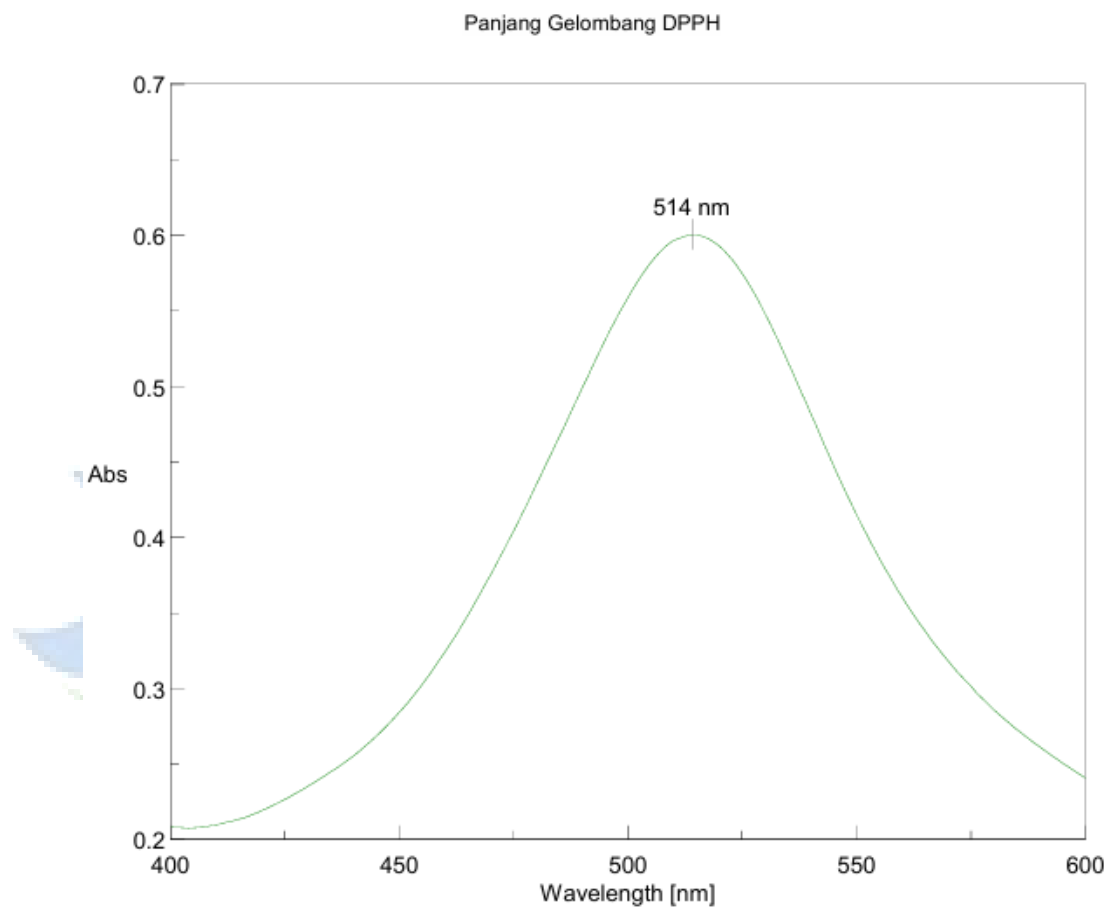
Perhitungan IC₅₀

$$y = 0.4723x + 43.911$$

$$50 = 0.4723x + 43.911$$

$$x = \frac{50 - 43.911}{0.4723} = 12.89222952$$

Lampiran F Panjang Gelombang DPPH

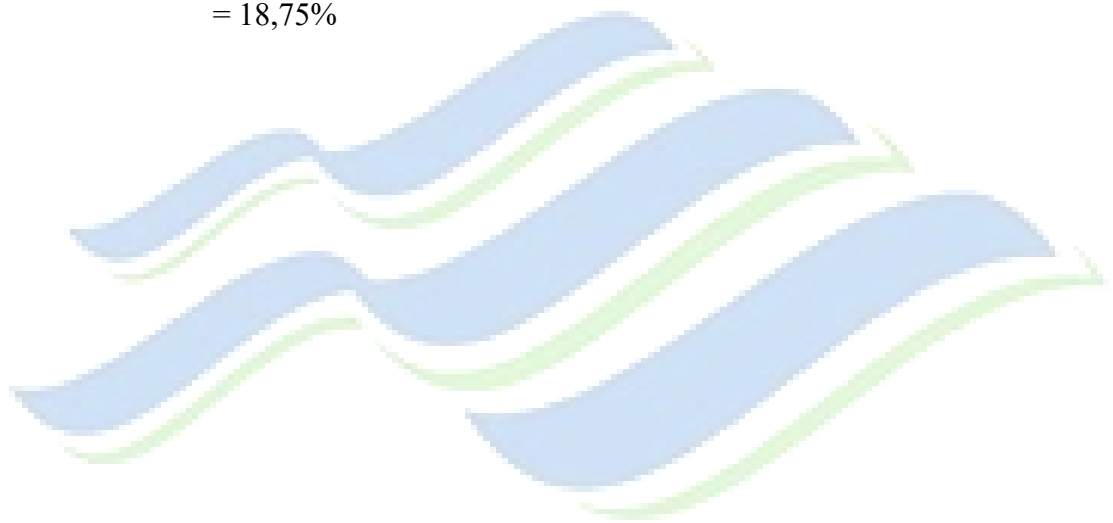


Lampiran G Perhitungan

Perhitungan Ekstraksi

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat hasil ekstrak}}{\text{Berat ekstrak awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{19,5 \text{ gram}}{104 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 18,75\% \end{aligned}$$



UNIVERSITAS
MA CHUNG