

**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle) SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN ALAMI SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**KARYA TULIS ILMIAH**

**OLEH  
FERA YUDA LAILUL KOVIFAH  
NIM. 2182042**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle) SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN ALAMI SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**THE POTENCY OF ETHANOL EXTRACT AND ETHYL ACETATE  
FRACTION OF LIME PEEL ETHANOL EXTRACT (*Citrus aurantifolia*  
Swingle.) AS A NATURAL ANTIOXIDANT BY  
SPEKTROFOTOMETRY UV-VIS**



**KARYA TULIS ILMIAH  
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN  
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH  
FERA YUDA LAILUL KOVIFAH  
NIM. 2182042**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT  
KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle)  
SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Disusun Oleh :

**FERA YUDA LAILUL KOVIFAH**  
**NIM. 2182042**

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji  
dan telah dinyatakan memenuhi syarat / sah

Pada tanggal 16 Maret 2021 Ujian KTI

**Tim Penguji :**

Novena Yety L, M.Sc, Apt (Ketua) .....

Nastiti Utami, S.Si., M.Sc (Anggota) .....

Drs. Suharyanto, M.Si (Anggota) .....

Menyetujui,  
**Pembimbing Utama**



Drs. Suharyanto, M.Si



Mengetahui,  
**Ketua Program Studi  
DIII Farmasi**



Apt. Dwi Saryanti, S.Farm.,M.Sc

## HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah dengan judul :

### **POTENSI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi Karya Tulis Ilmiah yang sudah diduplikasikan dan/atau dipakai untuk mendapatkan gelar pada Progam Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional maupun Perguruan Tinggi atau Instansi manapu, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 24 Februari 2021



Fera Yuda Lailul Kovifah

Nim.2182042

## **MOTTO**

Hanya ada dua pilihan untuk memenangkan kehidupan; keberanian atau keikhlasan. Jika tidak berani, ikhlaslah menerimanya. Jika tidak ikhlas, maka beranilah mengubahnya

(Lenang Manggala)

## **PERSEMBAHAN**

Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada kemudahan. Karena itu bila kau telah selesai (mengerjakan yang lain) dan kepada Tuhan, maka berharaplah (Q.S. Al-Insyirah : 6-8).

Kesalahan terbesar manusia dalam kehidupan adalah terus takut bahwa mereka akan membuat kesalahan. Manisnya keberhasilan akan menghapus pahitnya kesabaran, nikmatnya kemenangan melenyapkan letihnya perjuangan, menuntaskan pekerjaan dengan baik akan melenyapkan lelahnya jerih payah (Dr. Aidh Al-Qarni).

Alhamdulillah adalah kata pertama yang terucap ketika karya tulis ilmiah ini selesai, terimakasih dan puji syukur kehadirat ALLAH SWT

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan kepada

- ❖ Kedua orang tua sebagai wujud bakti karena beliau yang selalu memberikan perlindungan, kasih sayang, didikan, do'a serta dukungan moril dan spiritual.
- ❖ Keluarga dan sahabat atas kasih sayang dan bantuan moril maupun spiritual yang selama ini telah diberikan
- ❖ Dosen Farmasi STIKES Nasional
- ❖ Almamaterku

## PRAKATA

Segala puji syukur “Alhamdulillahirobbil-alamin” kehadiran Allah SWT, Tuhan semesta alam. Sang pemberi petunjuk, sang pemberi pertolongan dan sang maha segalanya yang telah memberikan kemudahan bagi penulis untuk menyelesaikan karya tulis ini. Shalawat serta salam tetap penulis curahkan kepada Nabi Muhammad saw beserta keluarga, sahabat, dan orang-orang yang selalu berjuang di jalan Allah swt. Karena jasa beliau yang telah memberikan contoh suri tauladan yang baik sehingga secara tidak langsung penulis termotivasi menyelesaikan karya tulis ini sebagai bagian dari menuntut ilmu.

Karya tulis ilmiah yang berjudul "POTENSI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* L.). SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS" merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang studi D3 di Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Selama pembuatan karya tulis ilmiah ini, tidak sedikit kesulitan dan hambatan yang dialami oleh penulis, baik yang menyangkut pengaturan waktu, pengumpulan bahan-bahan (data) maupun pembiayaan dan sebagainya. Namun dengan hidayah dan inayah Allah swt dan berkat kerja penulis disertai dorongan dan bantuan dari berbagai pihak, maka segala kesulitan dan hambatan itu dapat diatasi dengan sebaik-baiknya sehingga karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. apt. Hartono, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

2. apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc., selaku Ketua Program Studi D3 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
3. Drs. Suharyanto, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat, serta bantuan dalam penyelesaian karya tulis ilmiah
4. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., Msc., selaku penguji I atas saran dan masukan yang diberikan
5. Nastiti Utami, S.Si., M.Sc., selaku penguji II atas saran dan masukan yang diberikan
6. Kedua orang tuaku, Bapak Suparmin dan Ibu Sri Wahyuni tercinta yang telah mendidik, merawatku serta tak pernah letih memanjatkan do'a untuk anak-anaknya dan telah memberi motivasi
7. Adikku tercinta, Naila Faidzatun Musyarofah dan Jesika Anastasya Valentina yang selalu memberikan keceriaan dalam hidup ini
8. Sahabat terbaikku, Elisa Terania Agustin dan Ira Mayasari yang selalu ada menemani dan yang selalu setia memberikan semangat, dukungan, dan nasihat dalam proses penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini serta ketulusan yang tak terlupakan
9. Gabriela Sara Vinta dan Muhammad Yusril Ihza Maulana yang telah berjuang bersama-sama dalam penelitian karya tulis ilmiah ini
10. Sahabat-sahabatku, Azizahtun Navi'ah, Khafifah Alawy Zera, Desty Putri Pancawati, Afdrian Kusumawardianingrum, Gabriela Sara Vinta, Gabriella Mukti Yupita Putri, Anggun Bella Indrisari, dan Elma Vistakul Mala yang telah memberikan semangat, pengertian, dan kebersamaan
11. Teman-Teman D3 Farmasi Reguler B angkatan 2018 yang telah memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian

12. Staf dan Karyawan Program Studi D3 Farmasi STIKES Nasional, serta Laboran-laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses karya tulis ilmiah ini
13. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun materi. Mudah-mudahan atas segala bantuan yang diberikan diterima Allah SWT sebagai amal yang diridhoi. Akhir Kata, penulis berharap karya tulis ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 24 Februari 2021

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO .....	vi
PERSEMBAHAN .....	vi
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
INTISARI.....	xviii
ABSTRACT .....	xix
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Landasan Teori .....	4
1. COVID-19 .....	4
2. Jeruk Nipis.....	5
3. Ekstraksi .....	8

4. Maserasi.....	9
5. Radikal Bebas.....	9
6. Antioksidan.....	10
7. Vitamin C.....	13
8. Fenolik dan Flavonoid.....	14
9. Uji Aktivitas Antioksidan.....	14
10. Spektrofotometri UV-Vis.....	15
B. Kerangka Pikir.....	22
C. Hipotesis.....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
A. Desain Penelitian.....	23
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
C. Populasi dan Sampel.....	24
D. Instrumen Penelitian.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan.....	24
E. Besar Sampel.....	25
F. Identifikasi Variabel Penelitian.....	25
G. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	25
H. Alur Penelitian.....	27
1. Bagan.....	27
2. Cara Kerja.....	28
I. Analisis Data Penelitian.....	35
<b>BAB IV.....</b>	<b>37</b>
A. Preparasi Sampel.....	37
B. Ekstraksi Etanol Kulit Jeruk Nipis.....	37
C. Pembuatan Fraksi Etil Asetat Kulit Jeruk Nipis.....	39

D. Skrining Fitokimia .....	40
E. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Radikal ABTS.....	45
BAB V .....	55
A. Kesimpulan.....	55
B. Saran .....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN .....	59

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi aktivitas antioksidan.....	36
Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak kulit jeruk nipis .....	41
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawan fraksi etil asetat.....	42
Tabel 4. Hasil penentuan <i>operating time</i> .....	47
Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi, dan nilai $IC_{50}$ vitamin C .....	49
Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi, dan nilai $IC_{50}$ ekstrak etanol kulit jeruk nipis .....	50
Tabel 7. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi, dan nilai $IC_{50}$ fraksi etil asetat kulit jeruk nipis .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka pikir .....	22
Gambar 2. Bagan alur penelitian .....	27
Gambar 3. Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi Mg dan HCl .....	43
Gambar 4. Reaksi senyawa fenol dengan pereaksi $FeCl_3$ .....	43
Gambar 5. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Wagner .....	44
Gambar 6. Reaksi senyawa vitamin C dengan pereaksi $KMnO_4$ .....	44
Gambar 7. Reaksi pembentukan radikal ABTS dengan kalium persulfate menjadi $ABTS^+$ dan reaksi pemerangkapan radikal bebas oleh antioksidan menjadi ABTS yang stabil .....	46
Gambar 8. Panjang gelombang maksimum .....	48
Gambar 9. Kurva regresi linier konsentrasi dengan % inhibisi vitamin c replikasi 1,2,3 ....	49
Gambar 10. Kurva regresi linier konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak etanol kulit jeruk nipis replikasi 1,2,3.....	51
Gambar 11. Kurva regresi linier konsentrasi dengan % inhibisi fraksi etil asetat kulit jeruk nipis replikasi 1,2,3.....	52

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Serbuk kulit jeruk nipis dan maserasi .....	60
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol .....	62
Lampiran 3. Uji Skrining Fitokimia .....	63
Lampiran 4. Proses Fraksinasi.....	65
Lampiran 5. Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan .....	65
Lampiran 6. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Spektrofotometri .....	71
Lampiran 7. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Pembanding Vitamin C .....	77
Lampiran 8. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis.....	80
Lampiran 9. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Jeruk Nipis .....	83
Lampiran 10. Larutan ABTS, $K_2S_2O_8$ dan kontrol ABTS .....	88

## INTISARI

Radikal bebas dapat berasal dari polusi, debu, maupun, metabolisme dari dalam tubuh, sehingga diperlukan suatu antioksidan yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari dampak negatif radikal bebas. Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) mempunyai kandungan flavonoid, fenol, alkaloid, dan vitamin C yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis. Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan radikal ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) yang dianalisis dengan spektrofotometri uv-vis kemudian dinyatakan dengan nilai *Inhibition Concentration* 50 ( $IC_{50}$ ). Keberadaan senyawa antioksidan akan mereduksi radikal ABTS dengan karakteristik yang berwarna biru-hijau menjadi bentuk nonradikal yang tidak berwarna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis menghasilkan  $IC_{50}$  sebesar  $13,5533 \pm 0,0973$  ppm dengan kategori sangat kuat dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis sebesar  $51,9045 \pm 0,7215$  ppm dengan kategori kuat.

**Kata kunci : Radikal bebas, Kulit jeruk nipis, Antioksidan, ABTS,  $IC_{50}$ .**

## ABSTRACT

Free radicals can be derived from pollution dust and metabolism of the body, so we need an antioxidant that functions to protect the body from the negative effect of the free radicals. Lime peel (*Citrus aurantifolia* L.) contains flavonoids, phenolics, alkaloids, and vitamin C which have potential as natural antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extract and ethyl acetate fraction of lime peel. The study used maceration methods and antioxidant activity testing using ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and expressed as an Inhibition Concentration 50 ( $IC_{50}$ ) value. The presence of antioxidant compounds will reduce ABTS radicals with blue-green characteristics to form colorless non-radicals. The results showed that the ethanol extract of lime peel zest resulted in an  $IC_{50}$  of  $13,5533 \pm 0,0973$  ppm in the very strong category and ethyl acetate fraction of lime peel zest resulted in an  $IC_{50}$  of  $51,9045 \pm 0,7215$  ppm in the strong category.

**Keywords :** free radicals, Lime peel, Antioxidant, ABTS,  $IC_{50}$ .



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Virus Corona (COVID-19) adalah penyakit jenis baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya pada manusia. Berdasarkan bukti ilmiah, COVID-19 dapat menular dari manusia ke manusia melalui percikan batuk atau bersin (droplet), tidak melalui udara. Rekomendasi standar untuk mencegah penyebaran infeksi adalah melalui cuci tangan secara teratur menggunakan sabun dan air bersih, menerapkan etika batuk dan bersin, menghindari kontak secara langsung dengan ternak atau hewan liar serta menjaga jarak. Virus dapat menginfeksi organ sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel-sel tubuh (Lanny Lingga, 2012).

Tubuh memerlukan antioksidan untuk menjaga kekebalan tubuh, mencegah kerusakan sel, dan melindungi dari serangan radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan, menurunkan, dan menghambat pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh sehingga dapat mencegah kerusakan membran sel dan timbulnya penyakit degeneratif (Rao & Moller., 2011 dalam Quinzheilla dkk., 2019).

Salah satu yang mempunyai potensi untuk meredam radikal bebas dan mempunyai potensi sebagai stimulan kekebalan tubuh, yaitu kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle), karena mengandung flavonoid yang merupakan

salah satu zat metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan (Nurul, dkk., 2019). Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol pada limbah kulit jeruk nipis dengan DPPH sebesar 61,93 ppm (intensitas kuat) (Nurul, dkk., 2019).

Penelitian tentang kulit jeruk nipis di Indonesia sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian karena ketersediaannya yang berlimpah. Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) dengan metode ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) untuk membandingkan dengan sebelumnya.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Berapakah nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) menggunakan radikal ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle)

2. Mengetahui nilai  $IC_{50}$  dari fraksi etil asetat dan ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis menggunakan radikal ABTS

#### **D. Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi bagi penelitian lebih lanjut maupun masyarakat luas mengenai aktivitas antioksidan kulit buah jeruk nipis untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian yang akan dilakukan menggunakan jenis desain penelitian deskriptif analitik yaitu melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada kulit jeruk nipis menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

Adapun pengertian dari metode deskriptif analitik menurut (Sugiono, 2009) adalah suatu metode yang berfungsi untuk mendiskripsikan atau memberi gambaran terhadap objek yang diteliti melalui data atau sampel yang telah terkumpul sebagaimana adanya tanpa melakukan analisis dan membuat kesimpulan berlaku untuk umum.

#### **B. Tempat dan Waktu**

##### 1. Tempat

Tempat penelitian di Laboratorium Obat Tradisional, Laboratorium Kimia Instrumen, Laboratorium Kimia Kualitatif dan Kuantitatif Sekolah Tinggi Kesehatan Nasional Surakarta.

##### 2. Waktu

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020 – Februari 2021

### C. Populasi dan Sampel

#### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah jeruk nipis yang diperoleh dari Dukuh Karangbendo, Kelurahan Krikilan, Kecamatan Masaran, Kabupaten Sragen dan Pasar Masaran.

#### 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) yang dipanen berusia 7 bulan dengan warna kulit yang warna hijau mulai sedikit menguning.

### D. Instrumen Penelitian

#### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi neraca analitik (Ohaus dan Asic), blender (Panasonic), kompor listrik (Maspion), spektrofotometri UV-Visible (Shimadzu), *rotary evaporator* (IKA RV 10 basic), *waterbath* (Memmert), labu ukur (Pyrex), labu ukur (Iwaki), beaker glass (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), gelas ukur (pyrex), pipet ukur, batang pengaduk, corong kaca, cawan penguap, pushball, ayakan no 60, corong pisah, oven

#### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle), reagen ABTS (Sigma), etanol 96% (pro analisis), aquadest, standar vitamin C, n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), reagen

Wagner, asam klorida pekat (Merck), Asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) (Merck),  $FeCl_3$  (Merck), serbuk Mg (merck),  $KMnO_4$ , HCl 2N,  $K_2S_2O_8$ , aquades,

### **E. Besar Sampel**

Dalam penelitian ini diperlukan buah jeruk nipis sebanyak 3 kg. Buah jeruk nipis dengan kulit berwarna hijau yang mulai sedikit menguning diperoleh dari Pasar Masaran dan Dukuh Karangbendo, Kelurahan Krikilan, Kecamatan Masaran, Kabupaten Sragen. Selanjutnya kulit buah jeruk nipis tersebut di serbuk dan diambil serbuk sebanyak 200 gram untuk dilakukan penelitian.

### **F. Identifikasi Variabel Penelitian**

#### 1. Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle)

#### 2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah efektivitas penangkapan radikal bebas ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

#### 3. Variabel Kontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah konsentrasi pada baku induk ABTS 100 ppm dengan volume 5 ml

### **G. Definisi Operasional Variabel Penelitian**

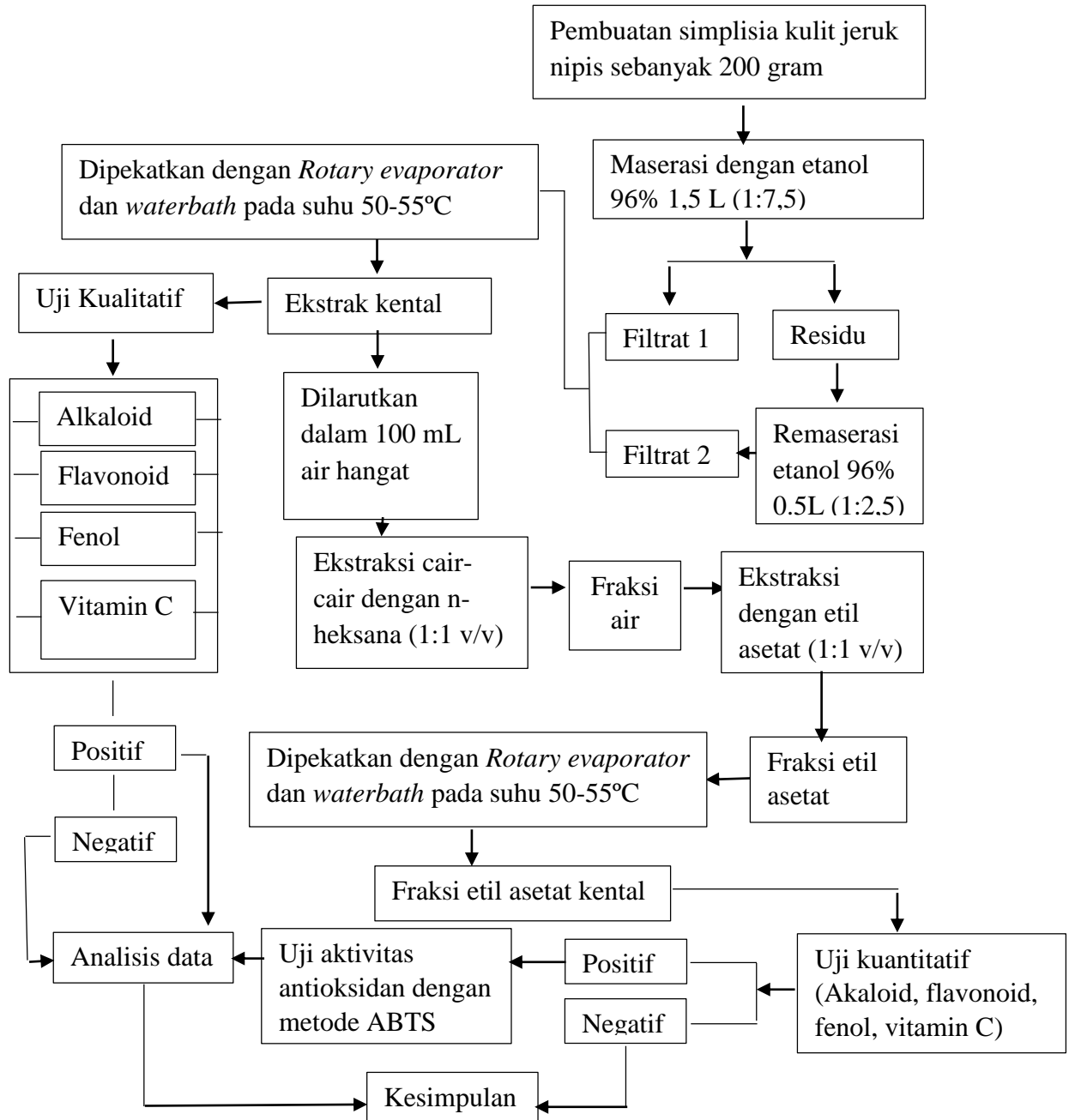
1. Kulit jeruk nipis adalah kulit dari buah jeruk nipis yang buahnya didapatkan dari salah satu desa dan pasar di Sragen, buah berbentuk bundar seperti bola

atau bulat lonjong. Saat masih muda buah berwarna hijau, semakin tua warna buah semakin hijau kekuningan.

2. Ekstrak kulit jeruk nipis adalah ekstrak kental kulit jeruk nipis yang diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol 96%
3. Fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan menggunakan etil asetat yang telah difraksinasi dengan air dan n-heksana
4. Persen *inhibition concentration* (%*IC*) adalah kemampuan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis untuk menangkap radikal ABTS yang dinyatakan dalam persen
5. *Inhibition concentration* 50 (*IC*<sub>50</sub>) merupakan nilai konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis yang mampu menangkap 50% radikal ABTS

## H. Alur Penelitian

### 1. Bagan



Gambar 2. Bagan alur penelitian



## 2. Cara Kerja

### a. Pemilihan dan Pengumpulan Bahan

Pengumpulan sampel jeruk nipis diambil langsung di halaman yang berlokasi di Dukuh Karangbendo, Desa Krikilan, Kecamatan Masaran, Kabupaten Sragen dan di Pasar Masaran, dengan memilih jeruk nipis yang berusia 7 bulan dan berwarna hijau mulai menguning. Jeruk nipis dipilih dan dipilah yang memiliki kondisi paling baik kemudian dikupas dan diambil kulitnya sebagai sampel yang akan dipreparasi dan diuji.

### b. Preparasi Simplisia

Kulit jeruk nipis dicuci bersih, ditiriskan, dan diiris tipis. Kemudian kulit jeruk nipis dikeringkan menggunakan oven pada suhu pengeringan 50°C dengan waktu pengeringan 24 jam. Kulit jeruk nipis yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan blender, serbuk yang didapat kemudian dilakukan penyaringan menggunakan ayakan ukuran 60 mesh. Serbuk yang didapat digunakan sebagai sampel penelitian.

### c. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 200 gram serbuk simplisia kulit jeruk nipis dimasukkan ke dalam bejana maserasi, ditambah dengan 1500 mL etanol 96% (1:7,5) sampai terendam sempurna dan dibiarkan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Maserasi disaring dengan menggunakan kain flannel, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 500 ml (1:2,5) selama 2 x 24 jam. Selanjutnya disaring menggunakan kain flannel untuk memperoleh filtrat. Hasil filtrat

pertama dan kedua dicampur menjadi satu, selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu 50-55°C sehingga diperoleh ekstrak etanol kental kulit jeruk nipis tetapi masih dapat dituang (Depkes RI, 1979; Voight 1995).

Ekstrak etanol kental kulit jeruk nipis dilarutkan dalam 100 mL air hangat dan dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksana (1:1 v/v), sehingga didapatkan fraksi air dan n-heksana. Fraksi yang diambil yaitu fraksi air untuk kemudian diekstraksi kembali menggunakan etil asetat (1:1 v/v), sehingga didapatkan fraksi air dan fraksi etil asetat. Diambil fraksi asetat, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu 50-55°C sehingga diperoleh fraksi etil asetat kental. Fraksi etil asetat ini yang digunakan untuk analisis selanjutnya.

d. Uji Kualitatif

1) Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara memipet sampel sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat dan sedikit serbuk Mg (Theodora, 2019).

2) Uji Fenol

Pengujian dilakukan dengan cara memipet sampel sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan FeCl 5% sebanyak 2 tetes (Bintang dkk., 2014).

### 3) Uji Alkaloid

Pengujian dilakukan dengan cara memipet sampel sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3-5 tetes  $H_2SO_4$  2 N lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Kemudian dianalisis dengan pereaksi Wagner sebanyak 4-5 (Harbone, 1987).

### 4) Uji Vitamin C

Pengujian dilakukan dengan cara memipet sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes tetes  $KMnO_4$  0,1% (Auterhoff, 1987).

#### e. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol kulit jeruk nipis kental dimasukkan dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas 10 mL untuk mencapai konsentrasi 1000 ppm (larutan stok). Larutan stok ekstrak etanol kulit jeruk nipis di pipet sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml untuk mencapai konsentrasi 100 ppm (larutan intermediet).

#### f. Pembuatan Larutan Stok Fraksi Etil Asetat Kulit Jeruk Nipis 1000 ppm

Sebanyak 10 mg fraksi etil asetat kulit jeruk nipis kental dimasukkan dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml untuk mencapai konsentrasi 1000 ppm (larutan stok). Larutan stok fraksi etil asetat kulit jeruk nipis di pipet sebanyak 1 mL dimasukkan

dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml untuk mencapai konsentrasi 100 ppm (larutan intermediet).

g. Pembuatan Larutan Standar Induk Vitamin C

Larutan standar induk vitamin C murni 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg serbuk vitamin C murni kemudian dimasukkan dalam labu ukur dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas 10 mL. Larutan stok vitamin C di pipet sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas 10 ml untuk mencapai konsentrasi 100 ppm (larutan intermediet).

h. Pembuatan Larutan

1) Larutan ABTS

Larutan ABTS (7 mM) di buat dengan cara ditimbang seksama 18,011 mg ABTS kemudian di larutkan dalam 5 mL etanol 96% (diperoleh larutan a). Larutan  $K_2S_2O_8$  (2,45 mM) dibuat dengan cara ditimbang seksama 14 mg  $K_2S_2O_8$  kemudian di larutkan dalam 20 mL etanol 96% (diperoleh larutan b). Selanjutnya sebanyak 5,0 mL larutan a dan sebanyak 5,0 mL larutan b di campur sampai homogen dan di inkubasi dalam ruangan yang gelap selama 14 jam (Mirnawati, dkk., 2019).

## 2) Larutan blangko

Larutan persulfat sebanyak 5,0 mL ditambahkan 5 ml akuades, diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu 22-24°C selama 12-16 jam (Pulungan, 2018).

## 3) Larutan PBS Ph 7,4

Natrium klorida ditimbang seksama sebanyak 0,8 g, 0,02 g kalium klorida, 0,142 g natrium hidrogen fosfat, 0,024 g kalium dihidrogen fosfat dilarutkan dalam akuades sampai 100,0 mL.

### i. Penentuan *Operating Time*

Larutan baku Vitamin C 100 ppm sebanyak 1 ml di masukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan dengan larutan ABTS 0,1 mL dan etanol 96% hingga tanda batas 5 mL. Setelah itu baca absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 734 nm dengan interval waktu 1 menit hingga 30 menit sehingga didapat waktu optimum yang stabil

### j. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan ABTS dipipet sebanyak 0,1 mL di masukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan dengan larutan PBS pH 7,4 hingga tanda batas 5 mL. Selanjutnya di inkubasi selama waktu yang diperoleh dari *operating time*. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 700-800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimal.

#### k. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

##### 1) Pembuatan Serapan Larutan Kontrol ABTS

Larutan ABTS dipipet sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 mL dengan etanol 96% dalam labu ukur. Selanjutnya di diamkan selama waktu yang diperoleh dari operating time. Larutan ini kemudian diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh.

##### 2) Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas ABTS dengan Sampel

###### a) Pengikatan Radikal Bebas ABTS dengan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Larutan stok ekstrak etanol 100 ppm dipipet masing-masing 0,75 mL, 1,5 mL, 2,25 mL, 3 mL, dan 3,75 mL, kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 5 ml dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 ml, selanjutnya ditambahkan larutan ABTS sebanyak 0,1 ml dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 3 ppm, 6 ppm 9 ppm, 12 ppm, 15 ppm. Selanjutnya didiamkan selama waktu yang diperoleh dari *operating*

*time*, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh serta dilakukan replikasi 3 kali.

b) Pengikatan Radikal Bebas ABTS dengan Fraksi Etil Asetat Kulit Jeruk Nipis

Larutan stok fraksi etil asetat 100 ppm dipipet masing-masing 1,5 ml, 2,25 ml, 3 ml, 3,75 ml, dan 4,5 mL, kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 5 ml dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm, dan 90 ppm. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 ml, selanjutnya ditambahkan larutan ABTS sebanyak 0,1 ml dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 6 ppm 9 ppm, 12 ppm, 15 ppm, dan 18 ppm. Selanjutnya didiamkan selama waktu yang diperoleh dari *operating time*, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh serta dilakukan replikasi 3 kali.

3) Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas ABTS dengan Standar Vitamin C

Pengujian dilakukan dengan memipet larutan stok vitamin C 100 ppm masing-masing 0,5 mL, 0,75 mL, 1,0 mL, 1,25 mL, dan 1,5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 ml kemudian masing-

masing volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Larutan baku kerja pada setiap konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 ml, selanjutnya ditambahkan larutan ABTS sebanyak 0,1 mL dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm. Selanjutnya di diamkan selama waktu yang diperoleh dari *operating time* dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal serta dilakukan replikasi 3 kali.

## I. Analisis Data Penelitian

### 1) Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai hambatan dalam bentuk persen (%IC)

$$\% \text{ Hambatan} = \left( \frac{\text{serapan radikal ABTS} - \text{serapan radikal ABTS sisa}}{\text{serapan radikal ABTS}} \right) \times 100\%$$

### 2) Validasi Metode Uji Aktivitas Antioksidan

Validasi dilakukan dengan menghitung nilai presisi (% KV) spesifitas dan linearitas

$$\% \text{ KV} = \left( \frac{\text{standar deviasi konsentrasi terukur}}{\text{rata-rata kadar sampel}} \right) \times 100\%$$

### 3) Estimasi Aktivitas Antioksidan

Data antioksidan pada radikal ABTS (% penghambatan) ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis dianalisis dan dihitung nilai IC<sub>50</sub>.



Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti aktivitas antioksidan semakin kuat. Pada penelitian ini nilai  $IC_{50}$  dianalisis dan dihitung menggunakan persamaan regresi linear.

Data hambatan dan konsentrasi larutan digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  dengan persamaan regresi linear  $y = a + bx$ , dimana  $y$  adalah % hambatan 50 (senilai 50) dan  $x$  adalah nilai  $IC_{50}$ . Berikut ini table mengenai klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois dalam Nilam, 2013:

**Tabel 1. Klasifikasi aktivitas antioksidan**

<b>No</b>	<b>Nilai <math>IC_{50}</math></b>	<b>Antioksidan</b>
1.	<50 ppm	Sangat kuat
2.	50-100 ppm	Kuat
3.	100-150 ppm	Sedang
4.	151-200 ppm	Lemah



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) memiliki aktivitas antioksidan
2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) menghasilkan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar  $13,5533 \pm 0,0973$  ppm yang masuk dalam klasifikasi antioksidan sangat kuat dan  $51,9045 \pm 0,7215$  ppm yang masuk dalam klasifikasi antioksidan kuat

#### **B. Saran**

Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan aktivitas antioksidasi pada limbah kulit jeruk nipis yang berwarna hijau dan yang berwarna kuning.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifia Nur Rizki, 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Limbah Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citru aurantifolia* S.) yang Berwarna Hijau dan Kuning dengan Metode DPPH (1,1-difenil,2-pikrilhidrasil), *Karya Tulis Ilmiah*, Program Studi D-3 Farmasi, Poltekkes Kemenkes Makassar
- Anita Dwi Puspitasari., Emy Susanti., Ana Khustiana., 2019, Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Menggunakan Metode ABTS, *Jurnal Ilmiah Teknosains*, **V** (2), 99-104
- Anonim, 2020, Upaya Pencegahan dan Pengendalian COVID-19 Poltekkes Kemenkes Banjarmasin, *Laporan Mitigasi COVID-19*, Poltekkes Kemenkes Banjarmasin
- Ayndri Nico Prayudo., Okky Novian., Setyadi., Antaresti, 2015, Koefisien Transfer Masa Kurkumin dari Temulawak, *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, **14** (01), 26-31
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determinations By The Use Of A Stable Free Radicals, *Nature*, 181, 1199-1200
- CCRC Farmasi UGM, 2014, Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) diakses pada tanggal 21 September 2020
- Depkes RI, 1979, Farmakope Indonesia Edisi IV, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Diah Handayani., Dwi Rendra, H., Fathiyah Isbaniah., Erlina Burhan., Heidy Agustin., 2020, Penyakit Virus Corona, *Jurnal Respirologi Indonesia*, **40** (2): 119-129
- Febrin Nussy Triana, 2013, Uji Daya Antioksidan Menggunakan Radikal Bebas 1,1-Difenil,2-Pikrilhidrazil dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle), *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

- Finna Setiawan., Oeke Yunita., Ade Kurniawan, 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, *Media Pharmaceutica Indonesiana*, **2** (2)
- Harbone, J.B., 1988, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Penerbit ITB, Bandung
- I Made Oka Adi Perwata, 2016, Bahan Ajar Antioksidan, *Program Pascasarjana Kimia Terapan*, Universitas 56 yana
- Ismiyatun Khasanah., Maria Ulfah., Sumantri, 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Metode DPPH
- Magfira, 2018, Analisis Penghambatan Ekstrak Etanol Batang Kembang Bulan (*Thitonia diversifolia*) Terhadap Reaksi Oksidasi dari Radikal Bebas dengan Metode DPPH ABTS dan FRAP, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar
- Mirnawati Salampe., Zulfaidah Rahma., Syamsu Nur., Sukanto S. Mamada, 2019, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Beroma (*Cajanus cajan* (L.) Milps), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **23** (1), 29-31
- Nurul Auliasari., Aji Najihudin., Erni Restuny, 2019. Utilization Of Lime Skin Waste (*Citrus aurantifolia*) In Gel Formulas As Anti-Wrinkle, *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, **10** (2), 171-182
- Quinzheilla Putri, A., Rina Fajri, N., 2019, Review Article: Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker, *Jurnal Farmaka*, **17** (2)
- Resat Apak., Shela Gorinstein., Volker Bohm., Karen M. Schaich., Mustafa Ozyurek., dan Kubilay Guclu, 2013, Methods of Measurement and Evaluation of Natural Antioxidant Capacity or Activity (IPAC Technical Report), *Pure Appl., Chem*, **85** (5), 957-998
- Ricki Hardiana., Rudiyansyah., Titin Anita Zaharah, 2012, Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae, *JKK*, **1** (1), 8-13
- Shalaby *et al.*, 2011, Protective Effect of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantifolia* Against Osteoporosis and Their Phytochemical Constituents, *Journal Med. Plants Res*, **5**, 579-588

- Ukkas., Ernita Putri, 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus Amaryllifous* Roxb.) dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl,2-Picrilhidrazil*), Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar
- Wisnu Brahma Putra, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil,2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Burm. f.), *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Universitas Sanata Dharma
- Yanlinastuti., Syamsul Fatimah., 2016, Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zinkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis