

**POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK LEMON
(*Citrus limon L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI UNTUK
MENINGKATKAN KESEHATAN TUBUH DENGAN METODE
ABTS**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
GABRIELA SARA VINTA
NIM. 2182045**

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

**POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK LEMON
(*Citrus limon L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI UNTUK
MENINGKATKAN KESEHATAN TUBUH DENGAN METODE
ABTS**

**THE POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACT OF LEMON PEEL
(*Citrus limon L.*) AS A NATURAL ANTIOXIDANT TO IMPROVE
BODY HEALTH WITH THE ABTS METHOD**



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

**OLEH
GABRIELA SARA VINTA
NIM. 2182045**

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

KARYA TULIS ILMIAH

**POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK LEMON
(*Citrus limon L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI UNTUK
MENINGKATKAN KESEHATAN TUBUH DENGAN METODE
ABTS**

Disusun Oleh :
GABRIELA SARA VINTA
(NIM. 2182045)

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat

Pada tanggal 16 Maret 2021 Ujian Kejuruan

Tim Penguji :

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

NastitiUtami, 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

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah :

POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK LEMON (*Citrus limon L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI UNTUK MENINGKATKAN KESEHATAN TUBUH DENGAN METODE ABTS

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

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

Surakarta, 24 Februari 2021



Gabriela Sara Vinta

NIM: 2182045

HALAMAN PERSEMBAHAN

Apa pun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia (Kolose 3:23).

Aku memiliki kepercayaan bahwa aku bisa melakukan, aku akan mencapai kemampuan untuk melakukannya, meskipun pada awalnya aku tidak memiliki kapasitas tersebut

-Mahatma Gandhi

Karya ini saya persembahkan kepada

Bapak dan Ibu saya

Dan keluarga ku semuanya

PRAKATA

Segala puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan anugerah-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Potensi Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* L.) Sebagai Antioksidan Alami Untuk Meningkatkan Kesehatan Tubuh Dengan Metode ABTS” sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang studi D3 di Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terimakasih 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., M.Sc., 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 yang tercinta, Bapak Teguh dan Ibu Sumarsi yang telah mendidik, mengarahkan, membimbing, merawat, memotivasi, dan selalu mendoakan yang terbaik untuk anaknya.
7. Adekku tersayang, Deo Abednego dan Herra Anditya Resmana yang sudah membantu dalam doa dan memberikan kebahagiaan dalam hidup ini.
8. Sahabat spesial yang sudah memberikan dukungan doa dan motivasi supaya dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

9. Rekan seperjuangan metode ABTS, Fera Yudha Lailul Khofivah dan Muhammad Yusril Ihza Ramadhan yang senantiasa saling membantu dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
10. Teman-Teman D3 Farmasi Reguler B angkatan 2018 yang telah memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian
11. Staf dan Karyawan Program Studi D3 Farmasi STIKES Nasional, serta Laboran-laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses karya tulis ilmiah ini
12. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun materi. Mudah-mudahan atas segala bantuan yang diberikan diterima Tuhan dan diberkati dalam setiap hidupnya.

Penulis berharap semoga karya tulis 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 PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
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 lemon	4
3. Radikal Bebas.....	7
4. Antioksidan	8
5. Uji Aktivitas Antioksidan	12
6. Ekstraksi Dengan Maserasi	14
7. Spektrofotometri UV-VIS.....	15
B. Kerangka Pikir	20

C. Hipotesis.....	21
BAB III METODE PENELITIAN.....	22
A. Desain Penelitian.....	22
B. Tempat dan Waktu Penelitian	22
C. Populasi dan Sampel	22
D. Instrumen Penelitian.....	23
1. Alat.....	23
2. Bahan.....	23
E. Besar Sampel.....	23
F. Alur Penelitian	24
1. Bagan.....	24
2. Cara Kerja	25
G. Analisis Data Penelitian	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan.....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tanaman yang berpotensi mengandung antioksidan	10
Tabel 2. Tingkatan kekuatan antioksidan	14
Tabel 3. Konstanta dielektrikum pelarut	15
Tabel 4. Tingkatan aktivitas antioksidan	30
Tabel 5. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk lemon	34
Tabel 6. <i>Operating time</i> larutan ABTS dengan Vitamin C	39
Tabel 7. Hasil pengukuran Vitamin C	41
Tabel 8. Hasil pengukuran ekstrak etanol kulit jeruk lemon	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Buah Jeruk Lemon	4
Gambar 2.	Skema Spektrofotometri	19
Gambar 3.	Kerangka Pikir	20
Gambar 4.	Bagan Alur Penelitian	24
Gambar 5.	Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk lemon	35
Gambar 6.	Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi Mg dan HCl	35
Gambar 7.	Reaksi senyawa fenol dengan pereaksi FeCl ₃	36
Gambar 8.	Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Wagner	36
Gambar 9.	Reaksi Vitamin C dengan KMnO ₄	37
Gambar 10.	Reaksi pembentukan radikal ABTS dengan kalium persulfate	38
Gambar 11.	Spektrum pengukuran panjang gelombang maksimum ABTS	40
Gambar 12.	Kurva regresi linier Vitamin C	42
Gambar 13.	Kurva regresi linier ekstrak etanol kulit jeruk lemon	45

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit jeruk lemon. Kulit jeruk lemon (*Citrus limon L.*) memiliki kandungan flavonoid, fenolik, alkaloid, dan vitamin C yang berpotensi sebagai antioksidan alami. 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. Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan radikal ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) serta dinyatakan dengan nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC₅₀). Keberadaan senyawa antioksidan akan mereduksi radikal ABTS dengan karakteristik yang berwarna biru-hijau menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon menghasilkan IC₅₀ sebesar 11,1294±0,0905 ppm dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Radikal Bebas, Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon L.*), Antioksidan, ABTS, IC₅₀.

ABSTRACT

This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of lemon peel. Lemon peel (*Citrus limon* L.) contains flavonoids, phenolics, alkaloids, and Vitamin C which have potential as natural antioxidant. Free radicals can come from pollution, dust, or metabolism inside the body, so an antioxidant is needed to protect the body from the negative effects of the free radicals. This study uses maceration methods and the testing of antioxidant activity using ABTS radicals (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) and it is stated with the value of Inhibition Concentration 50 (IC₅₀). The presence of antioxidant compounds will reduce ABTS radicals with blue-green characteristics to the form of colorless non radicals. The result of the study shows that the ethanol extract of lemon peel products IC₅₀ of 11,1294±0,0905 ppm with very strong category.

Keywords: Free radicals, Lemon peel (*Citrus limon* L.), Antioxidant, ABTS, IC₅₀.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virus Corona adalah keluarga besar virus yang menyebabkan penyakit mulai dari gejala ringan sampai berat. Ada setidaknya dua jenis virus corona yang diketahui menyebabkan penyakit yang dapat menimbulkan gejala berat seperti Middle East Respiratory Syndrome (MERS) dan Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit jenis baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya pada manusia. Virus penyebab COVID-19 ini dinamakan SarsCoV-2. Virus corona adalah zoonosis (ditularkan antara hewan dan manusia). Penelitian menyebutkan bahwa SARS ditransmisikan dari kucing luwak (civet cats) ke manusia dan MERS dari unta ke manusia. Adapun, hewan yang menjadi sumber penularan COVID-19 ini masih belum diketahui (Kemenkes, 2020).

Tim peneliti Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM) menemukan sejumlah senyawa yang berpotensi mencegah virus korona atau penyebab covid-19. Salah satunya adalah senyawa yang terkandung di dalam jeruk, terutama bagian kulitnya. Dalam studi itu diketahui, bahwa kulit jeruk impor mengandung senyawa flavonoid yang lebih banyak dan lebih tinggi potensinya sehingga kulit jeruk impor sangat direkomendasikan untuk diteliti lebih lanjut potensinya menjadi sumber antioksidan alami.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak diisolasi dari tanaman karena manfaatnya sebagai antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh. Sumber radikal bebas dari luar tubuh yang dapat ditemukan sehari-hari, seperti asap rokok, asap kendaraan, dan makanan yang terkontaminasi pestisida. Mengonsumsi makanan yang kaya antioksidan dapat mengurangi risiko kerusakan tersebut dan dapat meningkatkan sistem imun agar terhindar dari COVID 19. Makanan yang kaya antioksidan dapat ditemukan pada buah-buahan salah satunya adalah kulit buah jeruk lemon yang berkhasiat dapat melindungi tubuh terhadap radikal bebas, membantu sistem pertahanan, dan membantu memerangi infeksi virus.

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode ABTS. Metode ABTS memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, yaitu pengujian sederhana, mudah diulang, menggunakan alat yang sederhana dan yang paling penting adalah fleksibel dan dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bersifat hidrophilik maupun lipophilik dalam ekstrak makanan dan cairan. Metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan DPPH, prosesnya cepat, dapat dilakukan pada rentang pH yang besar serta dapat digunakan pada sistem larutan berbasis air maupun organik.

Uji pendahuluan yang sudah dilakukan terhadap kulit jeruk lemon memiliki aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas DPPH diperoleh nilai IC_{50} pada ekstrak kulit buah lemon lokal sebesar 1002,57 bpj (Alfian dkk.,2017).

Berdasarkan latar belakang yang didukung dengan penelitian sebelumnya, maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji potensi antioksidan pada kulit

jeruk lemon (*Citrus limon L.*) impor dengan menggunakan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) dengan harapan bahwa kulit jeruk lemon bisa dijadikan sebagai sumber antioksidan alami.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol kulit jeruk lemon memiliki potensi antioksidan dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)?
2. Berapa nilai IC_{50} kulit jeruk lemon dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya potensi antioksidan pada ekstrak etanol kulit jeruk lemon dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid).
2. Menentukan potensi antioksidan kulit jeruk lemon dengan IC_{50} sebagai besaran penunjuk.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan antioksidan kulit jeruk lemon (*Citrus limon L.*)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif analitik yaitu melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada kulit jeruk lemon menggunakan metode spektrofotometri UV- Visibel.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional, Laboratorium Kimia Kuantitatif, dan Laboratorium Kimia Instrumen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan November 2020 sampai dengan Januari 2021.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah buah jeruk lemon yang didapatkan dari salah satu supermarket di Solo, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk lemon (*Citrus limon L.*). Buahnya berbentuk oval dengan panjang 7-12 cm dan terdapat tonjolan puting. Kulit buah lemon ini berwarna kuning. Biji buah lemon berbentuk oval tetapi beberapa lemon tidak memiliki biji.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian antara lain seperangkat alat spektrofotometri UV- Visible (Shimadzu UV-1280), timbangan analitik (Ohaus, EP214), Erlenmeyer (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), batang pengaduk (Iwaki), pipet ukur (Iwaki), pipet tetes, pipet volume (Iwaki), labu ukur (Iwaki), gelas kimia (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), corong kaca (Iwaki), kompor listrik, pisau, pushball, rotary vakum evaporator, ayakan 60 mesh.

2. Bahan

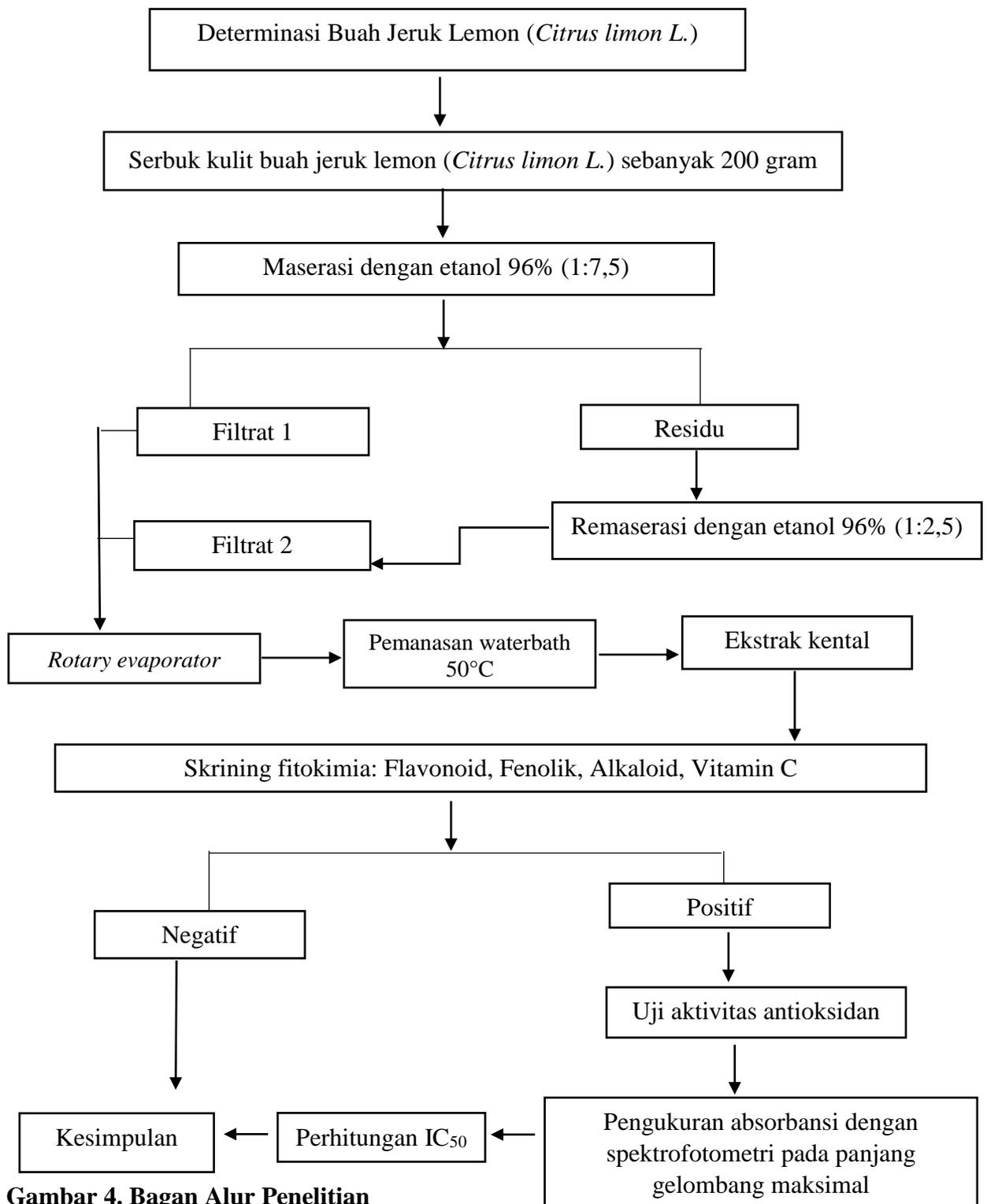
Bahan utama berupa kulit jeruk lemon (*Citrus limon L.*), reagen ABTS (Sigma Aldrich®), serbuk $K_2S_2O_8$ (Kalium persulfat), Etanol 96% (Medika), Vitamin C (Merk®), serbuk Mg (Magnesium), HCl pekat (Merk®), $FeCl_3$ 5%, H_2SO_4 pekat (Merk®), pereaksi Wagner (Merk®), aquadest, $KMnO_4$ 0,1% (Kalium Permanganat 0,1%), HCl 2 N (Merk®).

E. Besar Sampel

Dalam penelitian ini diperlukan buah jeruk lemon sebanyak 22 buah. Buah jeruk lemon diperoleh dari salah satu supermarket di Solo. Kulit buah jeruk lemon diserbuk sebanyak 200 gram untuk dilakukan penelitian.

F. Alur Penelitian

1. Bagan



Gambar 4. Bagan Alur Penelitian

2. Cara Kerja

a. Determinasi Tanaman Jeruk Lemon

Determinasi dilakukan untuk memperoleh kepastian bahwa buah yang digunakan pada penelitian benar buah yang dimaksud, sehingga kemungkinan terjadinya kesalahan pada saat pengumpulan bahan dapat dihindari. Determinasi buah jeruk lemon dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional (B₂P₂TOOT) Tawangmangu.

b. Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan diperoleh dari salah satu supermarket yang ada di Solo, Jawa Tengah. Sampel kulit buah jeruk lemon dipotong ukuran kecil, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Kulit jeruk lemon yang telah dikeringkan, dihancurkan menggunakan blender, kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh (Fitriani, 2013 dalam Dyta, 2018).

c. Ekstraksi

Serbuk kulit jeruk lemon ditimbang sebanyak 200 g, kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% (1:7,5) sebanyak 1500 mL. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan 1 kali dalam sehari. Larutan kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat pertama. Residu yang didapat dimaserasi kembali selama 1 hari dengan pelarut etanol 96% (1:2,5) sebanyak 500 mL sehingga didapatkan filtrat kedua. Filtrat pertama dan kedua dikumpulkan menjadi satu selanjutnya dipekatkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan dipanaskan dengan waterbath

pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Widarta, 2013 dalam Dyta, 2018).

d. Uji Skrining Fitokimia

1) Pemeriksaan Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara memipet sampel sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung rekasi, kemudian ditambahkan ditambahkan beberapa HCl pekat dan sedikit serbuk Mg dikocok dan dibiarkan memisah Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, jingga (Theodora, 2019).

2) Pemeriksaan Senyawa Fenol

Sampel sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Pembentukan warna hijau atau hijau biru menunjukkan senyawa fenol dalam bahan (Bintang dkk., 2014).

3) Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 mL ditambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 2 N lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Kemudian dianalisis dengan pereaksi Wagner sebanyak 4-5 tetes. Terbentuknya endapan coklat menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid (Harborne, 1987).

4) Pemeriksaan Uji Vitamin C

Sampel diambil sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes KMnO_4 0,1%. Jika berwarna coklat menunjukkan adanya senyawa Vitamin C (Auterhoff, 1987).

e. Pembuatan Larutan

1) ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)

Larutan ABTS (7 mM) dibuat dengan cara ditimbang 18,011 mg ABTS dilarutkan dalam 5,0 mL etanol 96% (diperoleh larutan A), kemudian $K_2S_2O_8$ (2,45 mM) dibuat dengan cara ditimbang seksama 14 mg $K_2S_2O_8$ dilarutkan dalam 20 mL etanol 96% (diperoleh larutan B). Dalam ruang gelap sebanyak 5,0 mL larutan A dan sebanyak 5,0 mL larutan B dicampur sampai homogen dan di inkubasi selama 14 jam (Mirnawati, 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.

3) Larutan PBS pH 7,4

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

f. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon

Larutan baku induk 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak etanol kulit jeruk lemon dimasukkan dalam labu ukur dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas 50 ml.

g. Pembuatan Larutan Standar Vitamin C

Larutan baku kerja Vitamin C 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang Vitamin C murni sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan dalam labu ukur dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas 10 mL. Larutan stok vitamin C dipipet 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. Penentuan *Operating Time*

Larutan baku Vitamin C 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 5 ml kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan ABTS kemudian ditambahkan dengan etanol 96% hingga tanda batas 5 mL. Setelah itu, baca absorbansinya dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum teoritis 730 nm dengan interval waktu 1 menit hingga 30 menit, sehingga didapat waktu optimum yang stabil.

i. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

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

j. Pengukuran 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 didiamkan selama waktu tercapainya *operating time*. Larutan ini kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

k. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas ABTS Dengan Sampel

Larutan stok sampel ekstrak kulit jeruk lemon 1000 ppm dipipet masing-masing 0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL, 2,0 mL, 2,5 mL, kemudian masing-masing

dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan volumenya dicukupkan sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, dan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Larutan ini kemudian di diamkan selama waktu tercapainya *operating time*. Selanjutnya diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan dilakukan replikasi 3 kali.

1. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas ABTS Dengan Vitamin C Murni

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 ke dalam labu ukur 5 mL, dan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm. Larutan ini kemudian didiamkan selama waktu tercapainya *operating time*. Selanjutnya diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan dilakukan replikasi 3 kali.

G. Analisa Data dan Penelitian

1. Aktivitas antioksidan (%IC) dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{\text{Abs Blangko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blangko}} \times 100\%$$

2. Validasi Metode Uji Aktivitas Antioksidan

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

$$\% \text{ CV} = \frac{\text{standar deviasi konsentrasi terukur}}{\text{rata-rata konsentrasi teoritis}} \times 100\%$$

3. Estimasi Aktivitas Antioksidan

Data antioksidan pada radikal ABTS (% penghambatan) ekstrak etanol kulit jeruk lemon dianalisis dan dihitung nilai IC_{50} . 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 mencari nilai IC_{50} dengan persamaan regresi linear $y = a + bx$, dimana y adalah % hambatan 50 (senilai 50) dan x adalah nilai IC_{50} . Tingkatan kekuatan antioksidan menurut Ariyanto, 2006:

Tabel 4. Tingkatan aktivitas antioksidan (Ariyanto, 2006)

Nilai	Tingkatan
$IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$	Sangat kuat
$IC_{50} 50-100 \mu\text{g/ml}$	Kuat
$IC_{50} 101-150 \mu\text{g/ml}$	Sedang
$IC_{50} > 150 \mu\text{g/ml}$	Lemah

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antioksidan yang dapat diuji menggunakan metode ABTS.
2. Nilai IC_{50} ekstrak etanol kulit jeruk lemon sebesar $11,1294 \pm 0,0905$ ppm sehingga aktivitas antioksidan dikatakan sangat kuat ($<50 \mu\text{g/ml}$).

B. Saran

Perlu dilakukan validasi lebih lanjut terhadap sampel kulit buah jeruk lemon import pada *operating time* dan panjang gelombang maksimum supaya bisa diperoleh senyawa yang lebih stabil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Rohman., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, 252-256, Yogyakarta
- Adityo., Martin., Ceva, 2020, Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, **7** (1), 45-67
- Alfian., Ryanto., Devi., dan Weilinten, 2017, Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (Citrus lemon) Lokal dan Impor, *Pertanian dan Tanaman Herbal Berkelanjutan di Indonesia*, 30-34
- Anita., Emy., dan Ana, 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
- Anita., Sumantri, 2019, Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (Citrus sinensis) dan Jeruk Purut (Citrus hystrix) Menggunakan Metode ABTS., *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **23** (2), 48-51
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mc Donald, S., Robards, K., 2002, Methods for Testing Antioxidant Activity, *Analyst*, 127, 183-198.
- Aryanto, R., 2006, Uji Aktivitas Antioksidan Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Kloroform dan Fraksi Air Ekstrak Metanolik Pegagan (Centella asiatica L. Urban), *Skripsi tidak diterbitkan*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, Farmakope Indonesia Edisi III, Jakarta
- Diah Dwi Wahyuni, 2018, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Pada Buah Apel Segar Romebauty Dan Produk Olahan Sari Apel Dengan Metode ABTS. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang
- Dyta., I Wayan., dan Komang Ayu, 2018, Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Lemon (Citrus limon Linn). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, **7** (3), 102-109
- Elizabeth, 2000, Patofisiologis, Penerbit Buku Kedokteran. EGC
- Erma., Emil., dan Valentina, 2019, Validasi Metode Penetapan Kadar Vitamin C Kulit Jeruk Keprok (Citrus reticulata) Secara Spektrofotometri UV-VIS, *Jurnal Farmasi Indonesia*, **16** (1), 118-131
- Fadlinizal Abd Ghafar, et.al., Flavoid, Hesperidin, Total Phenolic Content and Antioxidan Activities from Citrus Species Full Length Research Paper, **9** (3), 328
- Febrin Nessay 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

Fessenden, 1982, *Kimia Organik*, Erlangga, Jakarta

Hartono, 2012, Identifikasi potensi antioksidan minuman coklat dari kakao lindak (*Theobroma cacao* L.) dengan berbagai cara preparasi metode radikal bebas 1,1 diphenyl-2 picryhidrazil (DPPH), *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Khatolik Widya Mandala, Surabaya

Hernani MR, 2006, Tanaman Berkhasiat Antioksidan, Penebar Swadaya, Jakarta

Indigomorie, 2009, Antioksidan: Apa yang Kita Perlu Ketahui Tentangnya

Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia – Nomor HK.01.07/MENKES/413/2020 - Pedoman Pencegahan Dan Pengendalian CoronaVirus Disease 2019(COVID-19)

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

Mirawati Salampe., Zulfaidah Rahma., Syamsu Nur., Sukamto S. Mamada, 2019, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Beroma (*Cajanus cajan* (L.) Milps), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **23** (1), 29-31

Murray, 2003, *Biokimia Harper*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009, *Biokimia Harper*, Edisi 27, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Nilam Fajarwati, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarief Hidayatullah, Jakarta

Ramadhan, Prasetya, 2015, *Mengenal Antioksidan*, Graha Ilmu, Yogyakarta

Robins, 2007, *Buku Ajar Patologi*, Vol 1, Edisi 7, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta

Silalahi, 2006, Makanan Fungsional, Kanisius, Yogyakarta

Siti Maria Ulfa, 2016, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Sofia, 2005, Antioksidan dan Radikal Bebas, *Majalah Acid*, FMIPA Universitas Lampung

- Suryo, 2008, *Genetika Manusia*, Univeristas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Tejasari, 2005, *Nilai Gizi Pangan*, Graha Ilmu, Yogyakarta
- Thurnham, 2000, Water soluble vitamin, dalam Human Nutritions and Dietatic, *Harcourt Publishers Limited*, 249-257, United Kingdom
- Tri Sulistiowati, Ini Manfaat Air Jeruk Lemon Untuk Kesehatan <https://kesehatan.kontan.co.id/news/ini-manfaat-air-jeruk-lemon-untuk-kesehatan> diakses tanggal 22 September 2020
- Winarsi, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, 19-20, Kanisius, Yogyakarta
- Wisnu Brahmana Putra, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Burn. f), *Skripsi*, Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta