

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIASI
EKSTRAK KULIT BUAH JERUK (*Citrus sp.*) DENGAN
METODE DPPH**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
RAESA FEBIANA
NIM. 2181022**

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

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIASI
EKSTRAK KULIT BUAH JERUK (*Citrus sp.*) DENGAN
METODE DPPH**

**COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
EXTRACT ORANGE PEEL (*Citrus sp.*) VARIATIONS USING
DPPH METHOD**



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

**OLEH
RAESA FEBIANA
NIM. 2181022**

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

KARYA TULIS ILMIAH

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIASI EKSTRAK KULIT BUAH JERUK (*Citrus sp.*) DENGAN METODE DPPH

Disusun Oleh :
RAESA FEBIANA
NIM. 2181022

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

Pada tanggal 5 Maret 2021

Tim Penguji

Alip Desi Suyono S., M. Farm (Ketua) 

apt. Diah Pratimasari, M. Farm (Anggota) 

apt. Susilowati, M. Sc. (Anggota) 

Menyetujui,
Pembimbing Utama


apt. Susilowati, M. Sc.

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Farmasi



apt. Dwi Saryanti, M.Sc.

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIASI EKSTRAK KULIT JERUK (*Citrus sp*) DENGAN METODE DPPH

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun 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 di 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 yang telah diperoleh.

Surakarta, 5 Maret 2021



Raesha Febiana

NIM. 2181022

MOTTO

“Intelligence is not the determinant of success, but hard work is the real

determinant of your success “

“ Kecerdasaan bukanlah penentu sebuah kesuksesan, tetapi kerja keraslah penentu

sebenarnya dalam kesuksesanmu “

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur Alhamdulillah, penulis persembahkan dengan tulus
Karya Tulis Ilmiah ini kepada :

- ❖ Kedua orang tua dan kakak yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, perhatian serta kasih sayang yang tak ternilai harganya.
- ❖ Teman-teman yang selalu memberi dukungan dan semangat, Risza, Ajeng, Diana, Rista, Khofifah, Ines.
- ❖ Teman-teman seperjuangan sesama KTI bidang minat Obat Tradisional
- ❖ Teman-teman DIII Farmasi Angkatan 2018 STIKES Nasional Surakarta khususnya Reguler A

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul “ **Perbandingan Aktivitas Antioksidan Variasi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus sp.*) Dengan Metode DPPH**”. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program studi DIII Farmasi di STIKES Nasional Surakarta.

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini tentu tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. apt. Hartono, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
2. apt. Dwi Saryati, M. Sc. selaku Ketua Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
3. apt. Truly Dian A, S. Farm. M. Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
4. apt. Susilowati, M. Sc. selaku Dosen Pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
5. Alip Desi Suyono S., M. Farm selaku Ketua Penguji Karya tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.

6. apt. Diah Pratimasari, M. Farm selaku Penguji Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan serta bimbingannya.
7. Ratih Guswinda Lestari, S.Farm selaku Instruktur Penelitian yang telah memberikan banyak pelajaran berharga kepada penulis.
8. Seluruh staf pengajar dan karyawan STIKES Nasional Surakarta yang telah memberikan banyak pelajaran berharga kepada penulis.
9. Teman-teman DIII Farmasi angkatan 2018, atas persaudaraan dan kebersamaan telah membantu penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah.

Harapan penulis bahwa Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk menambah wawasan dan pengetahuan.

Surakarta, 5 Maret 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO.....	v
PERSEMBAHAN.....	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
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. Tanaman Jeruk Nipis	4
a. Klasifikasi Tanaman Jeruk Nipis.....	4
b. Morfologi Tanaman Jeruk Nipis	5
c. Kandungan dan Manfaat Jeruk Nipis.....	5
2. Tanaman Jeruk Lemon	6
a. Klasifikasi Tanaman Jeruk Lemon	6
b. Morfologi Tanaman Jeruk Lemon	7
c. Kandungan dan Manfaat Jeruk Lemon	7
3. Tanaman Jeruk Manis.....	8

a. Klasifikasi Tanaman Jeruk Manis	8
b. Morfologi Tanaman Jeruk Manis	9
c. Kandungan dan Manfaat Jeruk Manis	9
4. Flavonoid	9
5. Ekstraksi	10
6. Remaserasi	10
7. Simpilisia	11
8. Antioksidan	11
9. Metode DPPH	12
10. Spektrofotometri UV-Vis.....	13
11. Hipotesis	14
B. Kerangka Pikir	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Desain Penelitian.....	16
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
C. Instrumen Penelitian.....	16
1. Alat	16
2. Bahan	17
D. Populasi dan Sampel	17
E. Variabel penelitian	18
F. Besar Sampel	18
G. Definisi Operasional Penelitian	18
H. Alur Penelitian	20
1. Bagan.....	20
2. Cara Kerja	21
I. Analisis Data Penelitian.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
A. Determinasi	28
B. Preparasi Sampel.....	28
C. Analisa Senyawa Fitokimia	32
D. Pengukuran Aktivitas Antioksidan	37

E. Analisis One Way Anova	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Antioksidan berdasarkan Nilai IC ₅₀	27
Tabel 2. Analisa Kualitatif Senyawa Fitokimia.....	36
Tabel 3. Penentuan Operating Time DPPH Dengan Larutan Uji	40
Tabel 4. Perbandingan Nilai IC ₅₀	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Jeruk Nipis	4
Gambar 2. Jeruk Lemon	6
Gambar 3. Jeruk Manis.....	8
Gambar 4. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan.....	12
Gambar 5. Kerangka Pikir	15
Gambar 6. Alur Penelitian	20
Gambar 7. Proses Pengeringan Kulit Jeruk	29
Gambar 8. Ekstrak Kental Simplisia Kulit Jeruk	31
Gambar 9. Hasil Uji Alkaloid dengan Preaksi Mayer.....	32
Gambar 10. Hasil Uji Falvonoid	33
Gambar 11. Reaksi Flavonoid.....	34
Gambar 12. Hasil Uji Saponin	34
Gambar 13. Hasil Uji Tanin.....	35
Gambar 14. Reaksi Tanin dengan FeCl ₃	36
Gambar 15. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan.....	38
Gambar 16. Spektrum Panjang Gelombang Maksimum dan Absorbansi DPPH sebesar 515 nm	40
Gambar 17. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi Vitamin C.....	41
Gambar 18. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi Jeruk Nipis ...	42
Gambar 19. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi Jeruk Lemon.	43
Gambar 20. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi Jeruk Manis ..	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	57
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen.....	60
Lampiran 3. Perhitungan Larutan Stok dan Kerja	61
Lampiran 4. Perhitungan Radikal DPPH Vitamin C	64
Lampiran 5. Perhitungan Radikal DPPH Ekstrak Kulit Jeruk.....	66
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	70
Lampiran 7. Hasil Pengujian Antioksidan	76

INTISARI

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mengatasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Kulit jeruk merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena memiliki efek samping yang lebih sedikit dan aman. Kulit jeruk adalah tanaman yang diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid yang merupakan salah satu senyawa yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan antara variasi ekstrak kulit jeruk (*Citrus sp.*).

Penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak variasi kulit jeruk dilakukan melalui uji penangkal radikal DPPH dan dinyatakan dengan *Inhibitory Concentration* 50 (IC₅₀). Metode ini, diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Ekstraksi kulit jeruk dilakukan secara remaserasi menggunakan etanol 70%.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat yaitu kulit jeruk nipis dengan nilai IC₅₀ sebesar 61,46 ppm, diikuti kulit jeruk lemon dengan nilai IC₅₀ sebesar 64,48 ppm dan yang terakhir kulit jeruk manis dengan nilai IC₅₀ sebesar 71,27 ppm. Berdasarkan hasil uji *one way anova* diperoleh nilai sig sebesar $0,893 > 0,05$ bermakna terdapat perbedaan yang tidak signifikan terhadap persen penghambatan aktivitas antioksidan antara masing-masing variasi ekstrak kulit jeruk.

Kata kunci : antioksidan, DPPH, kulit jeruk, IC₅₀

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that are able to overcome oxidative damage caused by free radicals. Orange peel is one of the plants that can be used as a natural antioxidant because it has fewer side effects and is safe. Orange peel is a plant that is known to contain flavonoid compounds that are one of the compounds that can potentially be antioxidants. This study was conducted to find out the comparison of antioxidant activity between variations of orange peel extract (*Citrus sp.*).

Determination of antioxidant activity from orange peel variation extract is done through DPPH radical antidote test and expressed with *Inhibitory Concentration 50* (IC_{50}). This method, DPPH acts as a free radical soaked by antioxidant test materials measured by UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 515 nm. The extraction of orange peel is carried out reseration using ethanol 70%.

The results of antioxidant activity test showed the most powerful antioxidant activity is lime peel with IC_{50} value of 61,46 ppm, followed by lemon peel with IC_{50} value of 64,48 ppm and the last sweet orange peel with IC_{50} value of 71,27 ppm. Based on the results of the *one way anova* test obtained a sig value of $0.893 > 0.05$ means there is an insignificant difference to the percent inhibition of antioxidant activity between each variation of orange peel extract.

Keywords: antioxidant, DPPH, orange peel, IC_{50}

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

COVID-19 merupakan penyakit yang disebabkan oleh jenis coronavirus baru yaitu Sars-CoV-2, yang dilaporkan pertama kali di Wuhan Tiongkok pada akhir tahun 2019. COVID-19 ini dapat menimbulkan gejala gangguan pernafasan akut seperti demam diatas 38 °C, batuk dan sesak bagi manusia. Pada penderita COVID-19 yang berat, dapat menimbulkan pneumonia, sindroma pernafasan akut, gagal ginjal bahkan sampai kematian (Kemkes, 2020).

Salah satu upaya mencegah penyakit COVID-19 adalah meningkatkan daya tahan tubuh dengan memanfaatkan tumbuhan herbal. Beberapa contoh tumbuhan herbal meliputi jahe, temulawak, kunyit, kencur, lengkuas, lemon hingga jeruk nipis yang memiliki khasiat diantaranya untuk meningkatkan daya tahan tubuh, darah tinggi, diabetes, flu, sakit tenggorokan, dan meningkatkan produksi ASI (Rokom, 2020). Secara alami, tumbuhan mengandung antioksidan yang tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga dan biji (Selawa, dkk., 2013). Antioksidan sangat penting untuk tubuh karena perannya yang dapat menghambat radikal bebas dan sekaligus dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Sari dan Ayati, 2018). Flavonoid mampu meningkatkan kerja sistem imun dimana leukosit pemakan antigen lebih cepat dihasilkan dan sistem

limfoit lebih cepat pula diaktifkan serta meningkatkan aktivitas antibodi (Rauf, dkk., 2016).

Kulit jeruk memiliki kandungan flavonoid yang potensial sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan Khasanah, dkk (2014) menunjukkan ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis mempunyai aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 54,458 µg/ml. Perbedaan varietas jeruk akan dapat mempengaruhi nilai aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan data menurut John, dkk (2017) ekstrak aseton kulit jeruk lemon menunjukkan aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ ditemukan 107,48 µg / ml dan berdasarkan Sutrisno, dkk (2019) menyatakan buah lokal, jeruk manis baby memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan IC₅₀ sebesar 490 ppm.

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka diperlukan penelitian untuk membandingkan aktivitas antioksidan variasi kulit buah jeruk yang paling potensial sebagai alternatif sumber antioksidan alami yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem imun yang bermanfaat mencegah berbagai penyakit, salah satunya Covid-19. Penelitian ini menggunakan metode DPPH karena metode ini memiliki keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil (Wulansari, 2018).

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan variasi kulit buah jeruk nipis, kulit buah jeruk lemon, kulit buah jeruk manis ?
2. Jenis kulit buah jeruk apakah yang menunjukkan potensi antioksidan yang terbaik?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan variasi kulit buah jeruk nipis, kulit buah jeruk lemon dan kulit buah jeruk manis.
2. Untuk mengetahui kulit buah jeruk mana yang memiliki potensi antioksidan terbaik.

D. Manfaat Penelitian

1. Mampu memberikan informasi variasi kulit buah jeruk dengan aktivitas antioksidan yang paling baik kepada masyarakat agar dapat dikembangkan sebagai antioksidan alami.
2. Mampu meningkatkan nilai ekonomis dari kulit buah jeruk.
3. Sebagai acuan penelitian selanjutnya dan industri sebagai salah satu bahan aktif yang dapat dikembangkan sebagai sediaan obat tradisional.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental adalah penelitian yang memberikan intervensi perlakuan terhadap sampel.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Obat Tradisional STIKES Nasional Surakarta pada bulan November 2020 - Januari 2021.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, timbangan analitik, gelas beker, labu takar, batang pengaduk, kertas saring, pipet ukur, tabung reaksi, blender, ayakan 40 mesh, stop watch, spektrofotometer UV-Vis, Rotary Vakum Evaporator.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk nipis, kulit, jeruk manis baby, kulit jeruk lemon, etanol p.a, etanol 70%, DPPH, vitamin C, aquadest, pereaksi Mayer, FeCl_3 , HCl pekat, serbuk Mg.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan dari obyek penelitian. Penelitian ini populasinya adalah jeruk nipis, jeruk manis baby dan jeruk lemon yang peroleh dari daerah Sukoharjo.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang diambil dari keseluruhan obyek yang akan diteliti dan diharapkan mampu mewakili populasi dalam penelitian. Sampel dalam penelitian ini adalah jeruk nipis, jeruk manis yang siap panen dengan ciri-ciri : untuk buah jeruk nipis berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm, warna buah hijau atau kekuning-kuningan (Steenis, 2006). Untuk buah jeruk lemon berbentuk membundar (panjang 8-9 cm) berwarna kuning kehijauan (Chaturvedi et al., 2016). Untuk jeruk manis berbentuk bola berwarna hijau kekuningan (Steenis, 2006). Buah jeruk nipis dan manis diperoleh dari Bakalan RT 02 RW 06 Gedongan Baki Sukoharjo dan jeruk lemon yang diperoleh dari Pranan Polokarto Sukoharjo.

E. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi kulit buah jeruk.

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan.

c. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah nilai IC₅₀ vitamin C.

F. Besar Sampel

Pengambilan sampel diambil dari Bakalan RT 02 RW 06 Gedongan Baki Sukoharjo. Sampel kulit jeruk yang digunakan adalah kulit jeruk yang masih segar dan sudah dibersihkan. Sampel masing-masing kulit jeruk yang digunakan sebesar 2 kg.

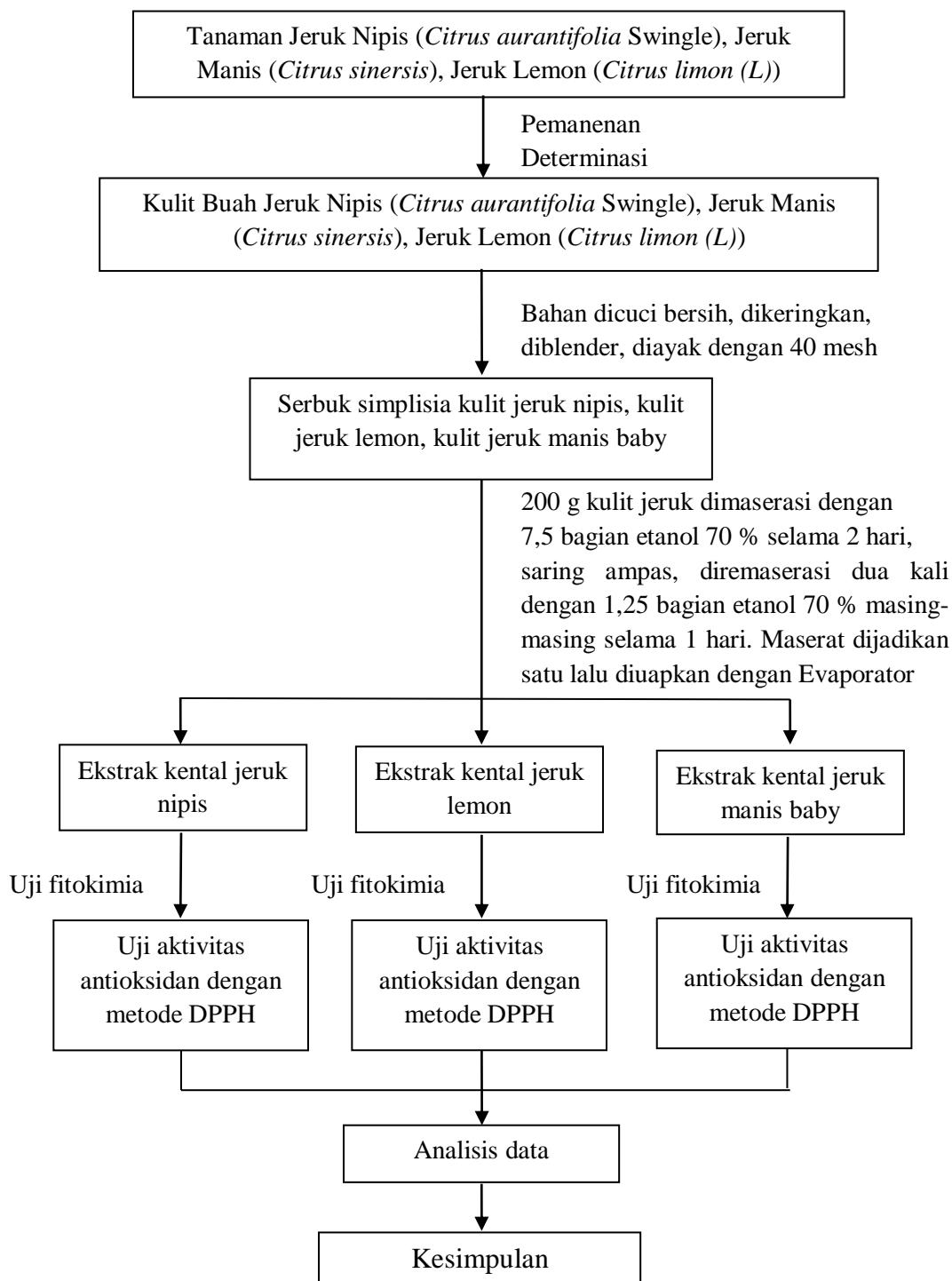
G. Definisi Operasional Penelitian

1. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menghambat radikal bebas serta meningkatkan sistem imun.
2. DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas.
3. IC₅₀ adalah parameter untuk menentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% oksidasi.

4. Tingkat kekuatan antioksidan dikategorikan sangat kuat apabila nilai IC_{50} $< 50 \mu\text{g/ml}$; dikategorikan kuat apabila nilai $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/ml}$; dikategorikan sedang apabila nilai $IC_{50} 101-250 \mu\text{g/ml}$; dikategorikan lemah apabila nilai $IC_{50} 250-500 \mu\text{g/ml}$; dan dikategorikan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 500 \mu\text{g/ml}$.

H. Alur Penelitian

1. Bagan



Gambar 6. Alur Penelitian

2. Cara Kerja

a. Persiapan Sampel

1) Pembuatan simplisia

Masing masing kulit jeruk dipisahkan dari buahnya, kulit jeruk dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian diiris tipis-tipis , sampel dijemur dibawah sinar matahari dan sampel ditutup dengan kain hitam sampai kering. Tujuan ditutup kain hitam agar sampel terlindung dari sinar UV . Simplisia yang sudah kering diblender dan diayak dengan ukuran 40 mesh (Khasanah, dkk., 2014).

2) Pembuatan Ekstrak

Serbuk kulit jeruk masing-masing ditimbang sebanyak 200 g, masing-masing kulit jeruk dimaserasi dengan 7,5 bagian etanol 70 % selama 2 hari. Kemudian disaring dan ampasnya diremaserasi sebanyak dua kali dengan 2,5 bagian etanol 70 % masing-masing selama 1 hari. Maserat dijadikan satu kemudian uapkan menggunakan Rotary Vakum Evaporator suhu 45^0 C hingga diperoleh ekstrak kental (Susanti, dkk., 2015).

b. Skrining Fitokimia

1) Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer.

Jika terdapat endapan putih (Mayer) (Hanani, 2015).

2) Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan sedikit serbuk mg kemudian ditambah 2 tetes larutan HCl pekat. Jika menimbulkan warna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Hanani, 2015).

3) Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 2 ml aquadet kemudian dikocok sampai homogen. Setelah itu panaskan selama 2-3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok kuat. Jika terbentuk busa stabil selama 30 detik menunjukkan adanya saponin (Junito, 2018).

4) Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan FeCl_3 sebanyak 2 tetes. Jika menimbulkan warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Hanani, 2015).

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1) Pembuatan Larutan Stok DPPH

Sebanyak 3,94 mg serbuk DPPH ditimbang, kemudian dimasukkan labu takar 100,0 ml, dilarutkan dengan etanol p.a sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.

2) Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 10 mg ekstrak kulit jeruk nipis, kulit jeruk lemon dan kulit jeruk manis ditimbang seksama, kemudian dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a 100 ppm, larutan ini merupakan larutan induk. Larutan induk dipipet sebanyak 1,5 ml, 3 ml, 4,5 ml, 6 ml, 7,5 ml dan 9 ml ke dalam labu terukur 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75, 90 ppm.

3) Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam 100 ml etanol p.a sampai tepat, sehingga diperoleh kadar 100 ppm. Larutan vitamin C dipipet sebanyak 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml ke dalam labu terukur 5,0 ml untuk mendapatkan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm.

4) Pembuatan Larutan Kontrol

Sebanyak 2,0 ml larutan DPPH 0,1 mM dipipet ke dalam labu ukur 5 ml, kemudian ditambahkan etanol p.a 2,0 ml, kemudian dihomogenkan lalu ditutup dengan alumunium foil.

5) Penetuan Panjang Gelombang Maksimum

Penetuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan memipet 2,0 ml DPPH masukkan ke dalam labu ukur, kemudian tambahkan dengan etanol p.a hingga 2,0 ml, kemudian homogenkan lalu ditutup dengan alumunium foil. Ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 450-600 nm.

6) Penentuan *Operating Time*

a) Vitamin C

Larutan vitamin C diambil sebanyak 2 ml masukkan ke dalam 5,0 ml ditambah larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dan diukur absorbansinya tiap 1 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

b) Kulit jeruk nipis

Larutan sampel ekstrak kulit jeruk diambil sebanyak 2 ml masukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml ditambah 2 ml larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dan diukur absorbansinya tiap 1 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

c) Kulit jeruk lemon

Larutan sampel ekstrak kulit jeruk diambil sebanyak 2 ml masukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml ditambah 2 ml larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dan diukur absorbansinya tiap 1 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

d) Kulit jeruk manis

Larutan sampel (5 ppm) ekstrak kulit jeruk diambil sebanyak 2 ml masukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml ditambah 2 ml larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dan diukur absorbansinya tiap 1 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

e) Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Larutan uji dan larutan vitamin C dengan berbagai konsentrasi sebanyak 2,0 ml masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur ditambah 2,0 mL larutan DPPH 0,1 mM, selanjutnya dihomogenkan selama 1 menit dan didiamkan selama waktu yang diperoleh dari *operating time* setelah itu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

I. Analisis Data Penelitian

1. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan presentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Molyneux, 2004):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum

Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH mM pada panjang gelombang maksimum.

2. Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $y = a + bx$

Untuk menentukan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan

$$\text{rumus (Rahmawati, 2015): } IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan :

$y = \% \text{ Inhibisi (50)}$

$a = \text{Intercept (perpotongan garis di sumbu Y)}$

$b = \text{Slope (kemiringan)}$

$x = \text{konsentrasi}$

3. Penentuan Potensi Antioksidan

Potensi antioksidan dapat dikelompokan berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ sebagai berikut :

Tabel 1. Klasifikasi Antioksidan berdasarkan Nilai IC₅₀ (June et al., 2003)

Nilai IC ₅₀	Antioksidan
< 50 µg/ml	Sangat kuat
50-100 µg/ml	Kuat
101-250 µg/ml	Sedang
250-500 µg/ml	Lemah
>500 µg/ml	Tidak aktif

4. Uji One Way Anova

Data yang terkumpul selanjutnya dilakukan analisis menggunakan program SPSS. Untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara ketiga sampel variasi kulit jeruk digunakan Uji one way Anova.

- H₀ diterima apabila Sig. < 0,05 bermakna terdapat perbedaan yang signifikan terhadap aktifitas antioksidan antara masing-masing variasi ekstrak kulit jeruk.
- H₀ ditolak apabila Sig. > 0,05 bermakna terdapat perbedaan yang tidak signifikan terhadap aktifitas antioksidan antara masing-masing variasi ekstrak kulit jeruk.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan variasi kulit jeruk nipis, kulit jeruk lemon dan kulit jeruk manis terhadap DPPH menunjukkan potensi yang kuat dengan perbedaan persentase penghambatan yang tidak signifikan dengan nilai sig sebesar $0,893 > 0,05$.
2. Berdasarkan nilai IC_{50} , kulit jeruk nipis menunjukkan potensi antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar 61,46 ppm diikuti dengan kulit jeruk lemon dengan nilai IC_{50} sebesar 64,48 ppm dan terakhir kulit jeruk manis dengan nilai IC_{50} sebesar 71,27 ppm.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kental jeruk nipis, ekstrak jeruk lemon dan ekstrak jeruk manis baby yang bertanggung jawab sebagai senyawa antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adindaputri, Z.A, Purwanti, N, Wahyudi, I.A, 2013. Pengaruh Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans, Maj Ked Gi 20(2): 126-131, Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Gadjah Mada
- Akhila, S., A.R. Bindu dan N.A. Alleykutti., 2009, Comparative evaluation of extract of citrus limon burn peel for antioxidant activity, *J Young Pharm*, Vol 1 No. 2 : 136-114
- Akhlaghi M, Bandy, B., 2009, Review article: Mechanisms of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, *Journal Molecular and Cellular Cardiology* 46: 309-317
- Arifin, B., Ibrahim, S, 2018, Struktur Bioaktif dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarath*, Vol. 6 No. 1, Universitas Andalas, Padang
- Asendy, D.A., Widarta, W.R., Nocianitri, K.A., 2018, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* Vol. 7, No.3, 102-109 Universitas Udayana, Bali
- Ciptadi, Prasetyo Putra, 2018, *Ekstraksi Senyawa Antioksidan Kulit Jeruk Baby Java (Citrus Sinensis (L) Osbeck) Menggunakan Metode Microwave Assisted-Extraction (Kajian Konsentrasi Etanol Dan Lama Ekstraksi)*. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.
- Chitra, D BR Ginting, 2012, *Karakteristik Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Beberapa Jenis Kulit Jeruk*. [Skripsi], Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI, 2017, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, jakarta
- Dev, Chaturvedi dan Shrivastava R., 2016, Basketfull Benefit of Citrus limon, *Internasional Research of Journal Pharmacy* Vol. 7 No.6. p
- Diniatik, 2015, Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (Stelechocarpus burahol (BI.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri , *Kaohnrtika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3 (1), 1-5

- Ergina, Nuryanti, S., Pursitasari, I. D., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol, *J. Akad. Kim.* 3(3): 165-172
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., Ma'ruf. W.F., 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina plantesis* Segar Dengan Pelarut Yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 18. No. 1
- Gülçin, I., E. Kireçci, E. Akkemik, F. Topal and O. Hisar. 2010, Antioxidant and antimicrobial activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor L.*). *Turkish Journal of Biology*, 34 (2): 175:188
- Hanani, Endang., 2015, *Analisis Fitokimia*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2015
- Handayani, S., Najib, A., Wati, N.P., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius L.*) Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* Vol. 5 No. 2: 299-308
- Hasnaeni,. Wisdawati,. Usman, S., 2019, Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*), *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2): 175-182
- Hery, Winarsi., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius. Yogyakarta
- Hidayati, D.N., Afirin, I., Antika, Y., Firdaus, A., Ardian, N.K., 2017, Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Jantung Pisang Mas (*Musa acuminata Colla*) Menggunakan Metode DPPH, *Pharmacy*, Vol.14 No.01 : Universitas Wahid Hasyim, Semarang
- Isnindar, S, W., & E. P,S., 2011, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Disopyros kaki thunb*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 16 (3), 157-164
- Jun M, Fu HY, Hong J, Wan X, Yang CS, et al., 2003, Comparison of Antioksidant Activities of Isoflavonoids from Kadzu Root (*Pueraria lobata* ohwi). *J. Food Sci* 68 : 2117-2122
- Junito, Katja D. G., Kamu, V. S., Uji Fitokimia dan Toksisitas dari Ekstrak Daun Chisocheton sp (C.DC) Harms, *Chem, Prog*, Vol. 11. No. 2
- John, S., Monica, J. S., Priyadarshini., Sivaraj., Arumugam., 2017, Antioxidant and Antimicrobial Efficacy of Lemon (*Citrus limonum L.*) Peel, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 46(1)
- Karwiji, Atmaka. Windi, Nugraha, A.D., 2010. Kajian Kadar Kurkumin, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Oleoresin Temulawak (*Curcuma*

- xanthorrhiza Roxb)* Dengan Variasi Teknik Pengertian dan Warna Kain Penutup, *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, Vol. III, No. 2
- Kementrian Kesehatan, 2020, Pertanyaan dan Jawaban Terkait COVID-19, <https://www.kemkes.go.id/folder/view/full-content/structure-faq.html> diakses tanggal 21 September 2020
- Khasanah, Ismiyyatun., Ulfah, Maria., Sumantri., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), Universitas Wahid Hasyim Semarang. Semarang
- Kresnadipayana, Dian., Lestari, Dwi., 2017, Penentuan Kadar Boraks Pada Kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan Metode Spektrofotometri UVVis, *Jurnal Wiyata* Vol. 4 No. 1, Universitas Setia Budi Surakarta, Surakarta
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 23, 47.
- Kumalaningsih, S., 2006, *Antioksidan Alami*, Tribus Agrisarana, Surabaya
- Lung, J.K.S., Destiani, P.D., 2017, Review Artikel : Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH, Farmaka, volume 15 Nomor 1: 53-60
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi, 3 (1). Pp. 26-31
- Maxem K, Vanselow KH, Lippermeler S, Hintze R. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused By Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linier Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. Sensors
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A., 2014. Flavonoids as Important Molecules of qPlant Intractions with the Environment, Mol, *Basel Switz*, 19, 16240-16265
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (12) : 361-367
- Mulja, M dan Suharman., 1995, *Analisis Instrumental*, Universitas Airlangga Press, Surabaya
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* , 26(2), 211-21

- Noviyanty. A., Salingkat. A. C., Syamsir. 2019. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Ekstraksi Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Kovalen*, 5(3): 271-279
- Panche, A. N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016, Flavonoids: an overview, J, Nutr, Sci, 5, e47
- Pratiwi, D., Hastuti, N., Armandari, I., Nur, W.N., Ikawati, M., Riyanto, S dan Meiyanto, E., 2008, Ekstrak Etanolik Kulit jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia* (Cristm.) Swingle) Meningkatkan Ekspresi P53 pada Sel Payudara Tikus Galur Spague Dawley Terinduksi 7,12-Dimetil benzene, Antrasena, *Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI*, Yogyakarta
- Prayoga G., 2013, Fraksinasi, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour), *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta
- Putra, B. W., 2013, *Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi EtilAsetat Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Llemon (Citrus x limon (L.)Burm. f.)*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Rauf, A., Haeria., Anas, D. D., 2016, Efek Imunostimulan Fraksi Daun Katuk (*Sauvopus androgynus* L. MERR.) Terhadap Aktivitas dan Kapasits Fagositosis Makrofag pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*), *JF FIK UINAM* Vol.4 No.1
- Riyanto, Agus., 2011, *Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan*, Nuha Medika, Yogyakarta
- Rukmana, R. 2003., *Jeruk Nipis, Prospek Agribisnis, Budidaya dan Pascapanen*, Kanisius, Yogyakarta
- Robinson T, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerjemah: K, Padmawinata, Edisi IV, Bandung: ITB Press
- Rokom, 2020, Kemenkes Sarankan Masyarakat Obat Tradisional, Rilis Sehat <http://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/rilis-media/20200521/4433937/kemenkes-sarankan-masyarakat-manfaatkan-obat-tradisional/> diakses pada 21 September 2020
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala., dan V. M. A. Makang. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress* 1: 47-53
- Sari, A.K., Ayati, R., 2018, Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-

- picrylhydrazyl), Jurnal Current Pharmaceutical Sciences Vol. 1 No. 2 : 69-74*
- Sarwono, 2001., *Khasiat dan manfaat jeruk nipis : Mengenal Jeruk Nipis*, Jakarta : Agro Medika Pustaka, h. 2-10
- Selawa, Widya., Runtuwene, Max Revolta John., Citraningtyas, Gayatri., 2013, Kandung Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (Andera cordifolia (Ten.)Steenis.), *Jurnal Ilmiah Farmasi Vol. 2 No. 01*, Universitas Sam Ratulangi, Manado
- Salamah, dkk., 2017, Pengaruh Metode Penyarian Terhadap Kadar Alkaloid Total Daun Jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa*. BL) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel, *Pharmaciana* Vol.7 No.1, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Sarlina, P., Mangalik, G., Mikasari, A. L., 2019, Pengaruh Lama Perebuasan Terhadap Daya Hambat Radikal Bebas, Viskositas dan Sensori Sirup Secang (*Caesalpinia sappan* L.), *Teknologi Pangan : Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian* Vol. 11, No. 1
- Steenis, C. G. G. J. Van., 2006, *Flora Pengunungan Java*, Pusat Penelitian Biologi (LIPI), Bogor
- Steenis, C.G.G. J. Van., 1992, *Flora* diterjemahkan oleh M Soeyowinoto, dkk, Cetakan 5. PT. Pradnya Paramita, Jakarta
- Susanti, dkk., 2015, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Rendemen Andrografolid ari Herba Sambiloto, *Jurnal Farmasi Udayana Vol. IV No. 2* : 29-32
- Sutrisno, A.D., Hasnelly, Habibaturrohmah, 2019, Identifikasi Kandungan (Antioksidan, Vitamin C dan Serat Kasar) Pada Buah Lokal dan Impor (Jeruk, Apel dan Mangga), *Pasundan Food Technology Journal*, Vol. 6, No. 1: 1-7
- Syamsuni, 2006., *Ilmu Resep*, Penerbitan Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Voight, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi Kelima, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta
- Wahdaningsih, dkk., 2011, Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsohila glauca* J. Sm), *Majalah Obat Tradisional*, 16 (3), 156 -160
- Wijastiuti, L., 2011, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Multiresisten serta Brine Shirmp Lethality Test, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta

Wulansari, A, N., 2018, Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaeefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review, *Farmaka*, Suplemen volume 16 Nomor 2

Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J., 1998. HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-scavenging Activity of Food By Using 1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62 (6), 1201-1204

Yanlinastuti dan Fatima, Syamsul., 2016, *Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis*, Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir Badan Tenaga Nuklir Nasional, Banten