PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT JERUK MEDAN (*Citrus sinensis L.* "Medan") SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S. Si) dalam Ilmu Kimia

Oleh:

ANNISA VIRA LARASATI

2108036028

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

2025

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT JERUK MEDAN (*Citrus sinensis L. "*Medan") SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

ANNISA VIRA LARASATI
2108036028

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si) dalam Ilmu Kimia

PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
2025

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Annisa Vira Larasati

NIM 2108036028

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

Penetapan Kadar Fenolik Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L.* "Medan") Secara *In Vitro*

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 14 Juli 2025

Pembuat Pernyataan



Annisa Vira Larasati

NIM 2108036028

KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Penetapan Kadar Fenolik Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Medan *(Citrus sinensis L. "Medan")* Secara In Vitro**

Penulis : Annisa Vira Larasati

NIM : 2108036028

Prodi : Kimia

Telah diujikan dalam sidang *munaqasyah* oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang Ilmu Kimia.

Semarang, 23 Juli 2025

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang

Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd

NIP. 198104142005012003

Sekretaris Sidang

Sri Rahmania, M.Pd

NIP. 199301162019032017

Penguji I

Dr. R. Arizal Firmansyah, S.Pd., M.Si

NIP. 197908192009121001

Penguji II

Rais Nur Latifah, M.Si

NIP. 199203042019032019

Pembimbing

Ana Mardliyah, M. Si

NIP. 198905252019032019

NOTA DINAS

Semarang, 14 Juli 2025

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Walisongo

di Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Penetapan Kadar Fenolik Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L.* "Medan") Secara *In Vitro*

Nama : Annisa Vira Larasati

NIM : 2108036028

Prodi : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing,

Ana mardliyah, M.Si

NIP.198905252019032019

ABSTRAK

Penetapan Kadar Fenolik Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Medan (Citrus sinensis L. "Medan") Secara In Vitro

Annisa Vira Larasati

2108036028

Radikal bebas yang berlebih dapat memicu stres oksidatif dan mempercepat proses degeneratif dalam tubuh. Kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L*. "Medan") diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% secara berurutan. Kadar fenolik total dianalisis menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, sedangkan aktivitas antioksidan diuji melalui metode DPPH dan dinyatakan dalam nilai IC_{50}. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar fenolik total tertinggi terdapat pada ekstrak etanol (5.271 mg GAE/g), diikuti oleh etil asetat (3.215 mg GAE/g), dan n-heksan (1.972 mg GAE/g). Aktivitas antioksidan tertinggi juga ditunjukkan oleh ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 62,84 ppm, disusul etil asetat 69,13 ppm, dan n-heksan 71,74 ppm. Ketiga ekstrak tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat. Quersetin digunakan sebagai kontrol positif dengan nilai IC_{50} sebesar 3,94 ppm. Hasil ini memperlihatkan bahwa kulit jeruk medan, khususnya pada ekstrak etanol, memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: Kulit jeruk medan, Fenolik total, Aktivitas antioksidan, metode DPPH, Kontrol positif.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullah wabarakatuh

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul: **"Penetapan Kadar Fenolik Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L.* "Medan") Secara *In Vitro*"** dengan sebaik-baiknya. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, suri teladan sepanjang zaman yang telah membimbing umat manusia menuju jalan kebenaran. Semoga kelak kita semua mendapatkan syafaatnya di yaumil akhir.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, doa, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar Ali, M.Ag selaku rektor UIN Walisongo Semarang
2. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
3. Ibu Dr. Mulyatun, S.Pd., M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang

4. Ibu Zidni Azizati M.Sc dan Ibu Kholidah, M.Si. selaku Dosen Wali yang senantiasa memberikan arahan dan dukungan kepada penulis selama melaksanakan studi di UIN Walisongo Semarang.
5. Ibu Ana Mardliyah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan saran dan kritik serta arahan yang sangat berguna kepada penulis dalam penyusunan skripsi hingga akhir.
6. Seluruh dosen jurusan Kimia fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah membekali serta memberikan ilmu pengetahuan dan informasi kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Kedua orang tua penulis, Bapak binantara dan ibu Evi rumpoko, yang senantiasa percaya dengan apa yang penulis putuskan dan mendukung penuh semua yang penulis pilih sehingga saya bisa menyelesaikan apa yang sudah saya mulai. Saya bukan apa-apa tanpa kalian.
8. Adik-adik penulis tercinta, yang senantiasa menghibur dan memberikan energi positif dikala lelah di tengah perjalanan.

9. Teman-teman Kimia A21, yang sudah membersamai selama berada di perantauan dan menjadi bagian dari perjalanan selama perkuliahan.
10. Rekan-rekan pengurus HMJ Kimia periode 2023/2024, yang telah menjadi rumah kedua disaat penulis membutuhkan pelarian dan sandaran, terima kasih sudah menerima penulis menjadi bagian dari dua periode yang penuh kebersamaan.
11. Teman-teman seperjuangan, khususnya Warindea, Afifah chaerani, Windi, Cici, Elise, Ajeng, dan Alya yang senantiasa memberikan info-info kegiatan positif selama perkuliahan serta saling menyemangati dan menguatkan di saat-saat sulit.
12. Rekan laboratorium dan bimbingan, Wafiq Allifa yang telah memberikan semangat, saling berkeluh kesah dan berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi ini.
13. Semua pihak terlibat yang telah membantu penulis dalam masa perkuliahan yang tidak dapat disebut satu persatu.

DAFTAR ISI

ABSTRAK ..... **vi**
KATA PENGANTAR ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xii**
DAFTAR TABEL ..... **xiii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang **1**
B. Rumusan Masalah **8**
C. Tujuan Penelitian **8**
D. Manfaat Penelitian **9**
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **10**
A. Landasan Teori **10**
B. Karakterisasi **43**
C. Kajian Riset yang Relevan **45**
D. Hipotesis **46**
BAB III METODE PENELITIAN **47**
A. Waktu dan Tempat Penelitian **47**
B. Alat dan Bahan **47**
C. Prosedur Kerja **48**
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN **58**
A. Preparasi Sampel **58**
B. Ekstraksi Sampel **60**
C. Identifikasi Fitokimia **65**

D. Kadar Fenolik Total pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L "Medan")* **82**

E. Antioksidan DPPH pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L "Medan")* **87**

F. Hubungan Antara Fitokimia dengan Kadar Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan **93**

BAB V PENUTUP **104**

A. Kesimpulan **104**

B. Saran **105**

DAFTAR PUSTAKA **106**

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Buah Jeruk Medan	10
Gambar 2.2	Senyawa Terpenoid (*Limonene*)	20
Gambar 2.3	Struktur Saponin (*Glycyrrhizin*)	21
Gambar 2.4	Kerangka Dasar Alkaloid	23
Gambar 2.5	Kerangka Struktur Flavonoid	24
Gambar 2.6	Struktur umum kelompok utama senyawa flavonoid	24
Gambar 2.7	Struktur Senyawa Tanin (*Proanthocyanidin*)	27
Gambar 2.8	Struktur Senyawa Fenolik (Asam Sinamat)	29
Gambar 4.1	Simplisia kulit jeruk medan	59
Gambar 4.2	Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$	74
Gambar 4.3	Hasil Uji KLT dibawah sinar UV	78
Gambar 4.4	Reaksi Pembentukan Kompleks Molibdenum Tungsten	82
Gambar 4.5	Reaksi Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH	85
Gambar 4.6	Usulan interaksi kuersetin dengan radikal DPPH	94
Gambar 4.7	Usulan interaksi molekuler antara Naringin dan radikal DPPH	96
Gambar 4.8	Usulan interaksi molekuler antara *Caffeic acid* dengan radikal DPPH	99

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 4.1	Hasil Uji Fitokimia	66
Tabel 4.2	Hasil Uji KLT dan nilai Rf	77
Tabel 4.3	Hasil Kadar Total Fenolik pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol 70%	83
Tabel 4.4	Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan	87

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah, termasuk berbagai jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional. Pemanfaatan tanaman sebagai pengobatan tradisional telah berkembang di seluruh wilayah, khususnya di Jawa, Sunda, dan Kalimantan, serta digunakan secara turun-temurun oleh lebih dari 400 etnis dengan kearifan lokal yang diwariskan antargenerasi (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa penggunaan obat herbal telah menjadi alternatif pengobatan kedua di berbagai negara Asia, Afrika, dan Amerika, bahkan digunakan sebagai pengobatan primer oleh hampir 80% penduduk Afrika (Ismail, 2015). WHO juga merekomendasikan pemanfaatan ramuan tradisional karena ketersediaan bahan baku yang melimpah, mudah didapat, serta efek sampingnya yang relatif minimal (Adiyasa, 2021).

Dalam *Tafsir Al-Mishbah*, M. Quraish Shihab menjelaskan bahwa zat-zat aktif yang berasal dari tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme memiliki beragam manfaat dan berpotensi dalam pengobatan

tradisional maupun modern. Pandangan ini sejalan dengan penjelasan Al-Qur'an mengenai manfaat keberadaan tanaman di bumi. Allah berfirman dalam Surah An-Nahl ayat 68-69: *"Dan Tuhanmu mewahyukan kepada lebah: "Buatlah sarang-sarang di bukit-bukit, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibikin manusia (68), Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang Telah dimudahkan "Dan Tuhanmu mewahyukan kepada lebah: "Buatlah sarang-sarang di bukit-bukit, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia (68), Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang Telah dimudahkan (bagimu). dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan (69)," (An-Nahl/ 16 : 68-69).*

Ayat ini menunjukkan bahwa sejak zaman Nabi telah dikenal pemanfaatan bahan alami, seperti madu, sebagai obat. Madu digambarkan bukan hanya sebagai makanan, tetapi juga sebagai *syifa* (penyembuh) bagi manusia. Hal ini menjadi salah satu bukti kebenaran Al-Qur'an sebagai wahyu Ilahi, karena informasi yang dikandungnya terbukti

memiliki manfaat nyata yang dapat dibuktikan secara ilmiah. Selain itu, ayat ini mengandung pesan bahwa segala ciptaan Allah, baik tumbuhan maupun hewan, memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan secara bijak demi kesehatan dan kesejahteraan manusia (Shihab Quraish, 2021).

Penggunaan tanaman sebagai alternatif pengobatan semakin mendapat perhatian serta berkembang pesat. Salah satu kelompok senyawa yang banyak diteliti dari tanaman adalah senyawa fenolik, karena kemampuannya yang terbukti tinggi dalam aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan bekerja melalui mekanisme penetralan radikal bebas, yaitu molekul tidak stabil dengan satu atau lebih elektron tak berpasangan yang sangat reaktif terhadap komponen biologis seperti lipid, protein, dan DNA. Interaksi radikal bebas dengan biomolekul tersebut dapat memicu stres oksidatif, yang berkontribusi pada perkembangan penyakit degeneratif, penuaan dini, dan kanker (Ikrima et al., 2019). Antioksidan melawan radikal bebas melalui berbagai mekanisme, di antaranya mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas, mengikat ion logam transisi yang dapat memicu pembentukan radikal, serta meregenerasi antioksidan lain seperti tokoferol (Vitamin E) (Ikrima et al., 2019).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi dua kategori utama, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT), memang banyak dimanfaatkan dalam industri pangan dan kosmetik karena efektivitasnya dalam mencegah oksidasi. Namun, pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan jangka panjang antioksidan sintetis berpotensi memicu pembentukan radikal bebas baru serta menimbulkan efek samping yang merugikan bagi kesehatan. Kondisi ini mendorong meningkatnya minat terhadap eksplorasi sumber antioksidan alami, yang dinilai lebih aman dan ramah lingkungan, baik untuk mendukung terapi preventif di bidang kesehatan maupun sebagai bahan tambahan dalam industri pangan dan kosmetik (J.Rohmah, 2020).

Radikal bebas dapat terbentuk secara endogen sebagai produk samping metabolisme normal tubuh, misalnya dari oksidasi protein, karbohidrat, dan lemak dalam proses respirasi sel. Selain itu, radikal bebas juga dapat berasal dari faktor eksogen, seperti paparan polusi udara, asap kendaraan bermotor, bahan kimia industri, konsumsi makanan yang mengalami pembakaran berlebih (terkarbonisasi), dan paparan radiasi sinar ultraviolet

(Nounah et al., 2024). Tingginya paparan radikal bebas dari lingkungan memperkuat urgensi pemanfaatan sumber antioksidan alami, termasuk dari senyawa fenolik yang banyak terdapat pada tanaman, untuk membantu melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif (Tvrdá & Benko, 2020).

Pemanfaatan tanaman sebagai sumber senyawa bioaktif dapat digunakan pada industri kosmetik maupun obat-obatan. Hal ini terutama terlihat pada buah jeruk, terutama pada jeruk medan (*Citrus sinensis L. "*Medan*")*, pemanfaatan jeruk medan mampu dikembangkan sebagai obat dan kosmetik alami setelah melihat lebih jauh riset pada famili buah yang sejenis (Seminara et al., 2023). Jeruk medan *(Citrus sinensis L. "*Medan*")* yang biasa dikenal dengan jeruk manis merupakan anggota famili *rutaceae,* memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, karotenoid, limonoid, dan pektin. Namun, pemanfaatan jeruk Medan di masyarakat umumnya terbatas hanya pada daging buahnya, sedangkan kulitnya dibuang sebagai limbah. Kondisi ini menimbulkan beberapa permasalahan, antara lain penumpukan limbah kulit jeruk yang berpotensi mencemari lingkungan, dengan jumlah limbah kulit jeruk di Indonesia pada tahun 2019 tercatat mencapai 309.678 ton (Kementerian Pertanian,

2019), serta hilangnya peluang pemanfaatan sumber bahan alami bernilai tinggi. Padahal, kulit jeruk mengandung komponen senyawa bioaktif dengan potensi besar sebagai bahan baku alami untuk kesehatan dan industri (Michael-Igolima et al., 2023).

Penelitian sebelumnya pada buah jeruk telah mengungkap keberadaan berbagai senyawa bioaktif, termasuk fenolik pada kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) (Hindun et al., 2017). Temuan ini sejalan dengan penelitian Fahrurroji (2020) yang menunjukkan bahwa kulit jeruk mengandung senyawa fenolik yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian lain oleh Dwi Puspitasari (2019) menggunakan metode ABTS untuk mengukur aktivitas antioksidan pada kulit jeruk manis dan jeruk purut, yang hasilnya menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang tinggi.

Metode ABTS (*2,2′-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan dua metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi kemampuan senyawa dalam menetralkan radikal bebas. Meskipun memiliki tujuan serupa, keduanya memiliki karakteristik berbeda. ABTS dapat mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa larut air maupun lemak, serta bekerja baik pada berbagai rentang pH, sehingga

cocok untuk pengujian ekstrak yang kompleks. Sebaliknya, DPPH lebih spesifik untuk senyawa yang larut dalam pelarut organik, dengan kondisi optimal pada medium non-polar hingga semi-polar. Dalam penelitian ini, metode DPPH dipilih karena sesuai untuk menganalisis kapasitas antioksidan ekstrak kulit jeruk Medan (*Citrus sinensis* L. "Medan") yang diekstraksi menggunakan pelarut organik.

Berdasarkan studi terdahulu, diketahui bahwa kulit jeruk mengandung senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan menangkal radikal bebas. Namun, sebagian besar penelitian masih berfokus pada penggunaan daging buah atau ekstrak tunggal dengan pelarut polar, tanpa membandingkan efektivitas pelarut dengan tingkat polaritas berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan senyawa yang terkandung pada kulit jeruk Medan (*Citrus sinensis* L. "Medan") dalam meredam aktivitas radikal bebas menggunakan metode DPPH, serta menentukan kandungan fenolik total pada ekstrak yang dihasilkan. Kebaruan penelitian terletak pada penggunaan metode ekstraksi dengan maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda, yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan etanol 70% (polar). Pendekatan ini dirancang untuk memperoleh spektrum senyawa bioaktif

yang lebih luas sehingga memungkinkan analisis yang lebih menyeluruh terhadap aktivitas antioksidan dan profil fenolik kulit jeruk Medan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah pada penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Apa saja kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan *(Citrus sinensis L. "*Medan*")*?
2. Berapa kadar fenolik total pada ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan *(Citrus sinensis L. "*Medan*")*?
3. Berapa nilai aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L*. "Medan")?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui lebih lanjut komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L. "*Medan*")*.
2. Mengetahui kadar total fenolik pada ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L. "*Medan*")*.

3. Mengetahui nilai IC_{50} aktivitas antioksidan ekstrak non polar, semi polar dan polar kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L. "*Medan*")*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan wawasan ilmiah mengenai khasiat kulit jeruk medan bagi kesehatan.
2. Memberikan informasi mengenai proses pengujian ekstrak kulit jeruk medan sebagai antioksidan.
3. Menambah wawasan tentang potensi ekstrak kulit jeruk medan mengenai senyawa fenolik dan sebagai antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Jeruk Medan

   a. Karakteristik

      Jeruk Medan (Citrus sinensis L.) merupakan jenis jeruk yang berasal dari Sumatera Utara. Varietas ini termasuk dalam kelompok jeruk siam yang memiliki karakteristik buah berukuran sedang, tangkai yang kokoh, bentuk cenderung pipih dan gepeng, kulit tebal, serta cita rasa yang manis. Daging buahnya memiliki bulir berukuran besar, berwarna kuning cerah, dan beraroma harum. Kulit buah Jeruk Medan umumnya berwarna hijau kekuningan, sehingga dari segi penampilan tampak kurang menarik dibandingkan jeruk mandarin yang berwarna oranye cerah.Wujud fisik buah jeruk medan ditunjukkan pada gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Buah Jeruk Medan

Taksonomi tanaman jeruk medan (*Citrus sinensis L.* "Medan"*)*:

Kingdom : Plantae
Sub kingdom : Tracheobionta
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Famili : Rutaceae

Buah jeruk Medan mengandung beragam senyawa bioaktif yang bermanfaat, seperti liminoid, sinefrin, flavonoid hesperidin, polifenol, pektin, serta beberapa jenis mikronutrien seperti folasin, kalium, kalsium, tiamin, magnesium, niasin. Kandungan senyawa aktif berperan penting dalam pencegahan berbagai penyakit, antara lain arteriosklerosis, kanker, batu ginjal, tukak lambung, serta membantu menurunkan kadar kolesterol dan tekanan darah, sehingga dapat menunjang kesehatan tubuh secara keseluruhan (Etebu & Nwauzoma, 2014). Buah jeruk memiliki senyawa fenolik, di mana sebagian besarnya yakni *hydroxycinnamic acids (HCA)* dan *flavonoid* diantara semua jenis *flavonon* (Djilali et al., 2020). Senyawa fenolik yang berupa *flavonoid* di buah jeruk khususnya *hesperidin*, memiliki efek terapetik berupa

antiinflamasi, diuretik, antihipertensi, analgesik, efektif jadi hipolipidemik.

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa buah jeruk memiliki banyak manfaat, dimana salah satunya yaitu pada kulit jeruk. Kulit buah jeruk didapati punya potensi aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Kandungan antioksidan tiap bagian buah jeruk bervariasi, namun, konsentrasi antioksidan pada kulit buah lebih tinggi dibanding bagian daging buahnya. (Silalahi et al., 2022)

b. Kandungan dan Manfaat Kulit Jeruk

Kulit jeruk dikenal sebelumnya karena mengandung vitamin C tinggi dan manfaat kesehatan penting (Shang et al., 2022). Kulit jeruk diketahui memiliki potensi aktivitas antioksidan yang tinggi, yang sebagian besar disebabkan oleh kandungan mineral seperti selenium, kalsium, seng, dan mangan, serta vitamin A, C, dan kelompok vitamin B, yang jumlahnya beberapa kali lebih tinggi dibandingkan dengan bagian daging buah (pulp). (Youssef et al., 2014). Senyawa yang dapat diperoleh dari kulit jeruk diantaranya yaitu pektin, dan senyawa fenolik. Senyawa-senyawa tersebut dianggap sebagai sumber senyawa fenolik yang menjanjikan, terutama yang

termasuk dalam subkelompok *flavonol, flavanon,* dan *flavon* (Maulida et al., 2023). Senyawa fenolik dapat di aplikasikan dalam bidang kesehatan dan pencegahan penyakit, seperti pada penyakit kardiovaskular, kanker, dan penyakit lain yang disebabkan oleh stres oksidatif (Sari et al., 2021). Penelitian sebelumnya, senyawa fenolik dalam buah jeruk seperti *diosmetin* dan *quercetin*, telah diidentifikasi sebagai agen *terapeutik* potensial untuk penyakit virus korona yang muncul pada tahun 2019 (*COVID-19*) (Sanches et al., 2022)

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk kaya akan hesperidin serta asam askorbat, punya aktivitas antioksidan kuat (C. V. Rodrigues & Pintado, 2024). Kulit jeruk juga memiliki sifat antimikroba dan antibakteri, mampu mencegah pertumbuhan bakteri patogen, berupa *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Wana & Pagarra, 2019).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan satu atau lebih senyawa aktif dari suatu bahan padat atau cair dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip dasar dari metode ekstraksi didasarkan pada

asas kelarutan '*like dissolves like*', yaitu senyawa polar cenderung larut pada pelarut polar, sementara senyawa nonpolar larut pada pelarut nonpolar. Pemilihan metode ekstraksi disesuaikan dengan karakteristik bahan serta jenis senyawa diisolasi. Beberapa aspek yang memengaruhi proses ekstraksi antara lain durasi ekstraksi, konsentrasi pelarut, dan jenis pelarut yang digunakan (J.Rohmah, 2020). Berdasar pelarutnya, metode ekstraksi dapat dibagi dua yakni proses ekstraksi panas dan dingin. Metode panas termasuk refluks, digesti, infusi dan dekoksi, sementara metode dingin yaitu dengan metode refluks, digesti, infusi serta dekoksi.

Penelitian ini menerapkan metode ekstraksi dingin melalui maserasi. Proses maserasi bertingkat yakni teknik ekstraksi yang dilaksanakan berurutan memanfaatkan pelarut dengan variasi polaritas, sehingga memungkinkan isolasi senyawa secara menyeluruh dari bahan yang diekstrak. Pemecahan dinding dan membran sel terjadi pada proses ini akibat perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel, yang menyebabkan senyawa metabolit sekunder di dalam sitoplasma keluar serta larut dalam pelarut organik dipergunakan. Pelarut yang

digunakan dalam maserasi bertingkat akan memiliki kemampuan untuk menyerap senyawa secara bertahap. Setiap tahap maserasi akan melibatkan pelarutan senyawa dengan ketebalan lapisan atau konsentrasi pelarut yang berubah sesuai dengan waktu dan bahan yang digunakan. Proses ekstraksi ini bergantung pada prinsip difusi, di mana senyawa-senyawa dalam sel tanaman bergerak dari konsentrasi tinggi di dalam bahan ke konsentrasi rendah dalam pelarut. Senyawa-senyawa tersebut bisa memiliki sifat fisikokimia yang berbeda, seperti kelarutan yang lebih baik dalam pelarut polar (misalnya air untuk senyawa hidrofilik) atau non-polar (seperti alkohol atau pelarut organik untuk senyawa lipofilik). Tahap pertama pada metode ini pelarut akan mengekstrak senyawa-senyawa yang lebih mudah larut, seperti gula, asam organik, atau senyawa *volatile*. Tahap berikutnya, pelarut mengekstraksi senyawa-senyawa yang lebih besar dan lebih kompleks, seperti flavonoid, tanin, atau senyawa non-volatil lainnya yang lebih sulit larut (Maulida et al., 2023). Maserasi merupakan metode yang efektif bagi senyawa yang tidak tahan panas, ramah lingkungan, konsisten dengan temuan yang

didapat ketika dilaksanakan pengulangan (Silalahi et al., 2022).

3. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder yakni senyawa organik yang diproduksi organisme, terutama tanaman, sebagai produk sampingan metabolisme primer. Berbeda dengan metabolit primer yang terlibat langsung dalam proses dasar kehidupan seperti pertumbuhan, reproduksi, dan pembelahan sel (asam amino, karbohidrat, dan asam nukleat), metabolit sekunder tidak terlibat dalam proses-proses tersebut. Senyawa yang diproduksi dengan total sedikit, tidak berkelanjutan dan memiliki fungsi penting dalam adaptasi organisme terhadap lingkungan dan interaksi dengan organisme lain (Pagare et al., 2015). Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan memiliki berbagai fungsi penting, di antaranya sebagai atraktan untuk menarik serangga penyerbuk, pelindung terhadap stres lingkungan, agen pertahanan terhadap serangan hama dan patogen (fitolaksin), pelindung dari paparan sinar ultraviolet, pengatur pertumbuhan tanaman, serta berperan sebagai senyawa alelopati yang memungkinkan tanaman bersaing dengan spesies

lain di sekitarnya. Senyawa metabolit sekunder umumnya mempunyai struktur kimia kompleks serta sukar untuk disintesis secara buatan. Selain itu, ketersediaannya di alam masih terbatas karena hanya sebagian kecil sukses diisolasi, maka senyawa-senyawa ini mempunyai nilai ekonomi yang tinggi (Anggraito et al., 2018).

Metabolit sekunder terbentuk melalui transformasi metabolit primer melalui berbagai lintasan metabolisme, yang terjadi sesuai dengan kebutuhan fisiologis tumbuhan serta kondisi lingkungannya. Melalui proses fotosintesis dan fiksasi nitrogen dihasilkan berbagai metabolit primer, seperti ribosa, karbamoil fosfat, asam α-keto, piruvat, malat, dan asetat. Jalur-jalur metabolisme tersebut kemudian memproduksi metabolit sekunder berupa alkaloid, fenilpropanoid, steroid, triterpenoid, maupun poliketida. Pembentukan metabolit sekunder ini berlangsung melalui salah satu jalur metabolisme di luar biosintesis utama karbohidrat dan protein (Jan et al., 2021). Terdapat tiga jalur utama dalam biosintesis metabolit sekunder, yaitu jalur asam asetat–mevalonat, jalur asam asetat–malonat, dan jalur asam shikimat. Jalur

asetat-mevalonat berperan dalam pembentukan senyawa terpenoid dan steroid, sedangkan jalur asetat-malonat menghasilkan senyawa dari golongan poliketida. Sementara itu, jalur asam shikimat mendapat dua jenis senyawa utama, yakni senyawa turunan fenilalanin berupa alkaloid, senyawa turunan fenilpropanoid berupa lignan. Kombinasi antara jalur shikimat dan asetat-malonat memungkinkan terbentuknya senyawa dari golongan flavonoid, tanin, stilben (Erb & Kliebenstein, 2020).

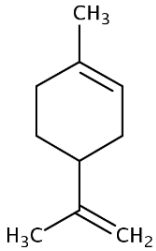
a. Terpenoid

Kelompok terpenoid tergolong dalam metabolit yang berfungsi menciptakan warna, rasa, serta aroma, dihasilkan dari turunan yang disintesis asam mevalonat, kemudian menjadi senyawa metabolit sekunder yang mengandung *unit* isopren. Senyawa terpenoid didefinisikan sebagai senyawa turunan terpena yang telah dimodifikasi dengan penambahan berbagai gugus fungsi, seperti hidroksil, keton, aldehida, atau ester serta dapat mengalami oksidasi dan perubahan struktur lainnya, seperti pemindahan atau penghilangan gugus (Perveen, 2018). Struktur molekul terpenoid diatur menurut prinsip isoprena. Prinsip ini menyatakan bahwa

molekul terpenoid tersusun atas dua atau lebih unit isoprena yang terhubung melalui pola ikatan kepala dengan ekor. Ciri khas ini banyak dijumpai pada senyawa terpenoid, sehingga sering dijadikan acuan untuk menentukan strukturnya. Senyawa terpenoid memiliki struktur dengan jumlah karbon sebagai kelipatan lima. Terpenoid merupakan konstituen utama yang ditemukan dalam *Essential Oil's (EO)* dengan struktur molekul yang mengandung kerangka karbon 2-metilbuta-1,3-diena (unit isoprena) yang dapat disusun ulang menjadi struktur siklik (Masyita et al., 2022).

Jumlah unit isoprena terutama bertanggung jawab atas keragaman struktural terpena. Hemiterpen dibentuk oleh satu unit isoprena (C5), monoterpena (C10), seskuiterpena (C15), diterpena (C20), triterpena (C30), dan tetraterpena (C40) (Ninkuu et al., 2021). Hemiterpen merupakan bagian kecil dari terpen yang ditemukan dalam *EO*. Hemiterpen yang paling menonjol adalah isoprena yang dikeluarkan dari herba dan pohon yang memiliki banyak daun seperti konifer, ek, poplar, dan willow. Contoh hemiterpena meliputi *asam angelic, tiglic, isovaleric, dan senecioic*. Monoterpen

merupakan komponen utama (90%), diikuti oleh sesquiterpen (Rosalinda & Sumirat, 2024), diterpena, triterpena, dan tetraterpena dengan turunan teroksigenasinya juga terdeteksi dalam jumlah kecil (Lubinska-Szczygeł et al., 2018). Salah satu contoh dari struktur senyawa terpenoid yaitu *limonene* yang dilihatkan gambar 2.2.



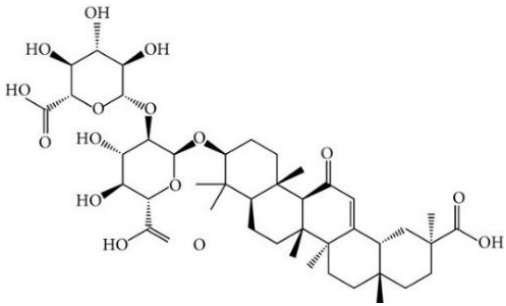
Gambar 2. 2 Senyawa Terpenoid (*Limonene*) (Saeidnia & Gohari, 2012)

b. Saponin

Saponin tergolong ke dalam metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok glikosida triterpenoid maupun glikosida steroid (Sharma et al., 2023). Senyawa saponin dapat menghasilkan rasa yang sangat ekstrem, baik yang paling pahit maupun paling manis. Saponin biasanya yakni senyawa *non volatile* mudah larut di air serta alkohol. Saponin mempunyai berbagai dampak farmakologis, seperti

jadi antimikroba, penurun kolesterol, antifungi, antivirus, antikanker (Anggraeni Putri et al., 2023).

Saponin adalah glikosida punya sifat fisik yang mirip dengan surfaktan, memungkinkan pembentukan busa bahkan konsentrasi paling rendah (Nurzaman et al., 2018). Tanaman menghasilkan saponin sebagai bagian dari mekanisme pertahanan alami terhadap patogen. Saponin memiliki aktivitas detoksifikasi dan mampu mempengaruhi membran sel, yang berpotensi menghambat infeksi virus pada organisme. Contoh struktur senyawa saponin (*glycyrrhizin)* ditunjukkan pada gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Struktur Saponin (*Glycyrrhizin*) (Sharma et al., 2023)

c. Alkaloid

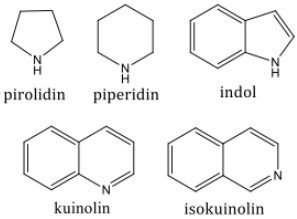
Alkaloid yakni senyawa organik yang bersifat basa dan berisi satu atau lebih atom nitrogen pada

struktur heterosikliknya, dan disintesis oleh organisme hidup melalui jalur metabolisme asam amino (Yang et al., 2024). Alkaloid mencakup dalam kelompok metabolit sekunder sifatnya alkali dan umumnya mempunyai rasa paling pahit (Javeed et al., 2024). Senyawa ini banyak ditemukan pada tumbuhan, meskipun beberapa jenis juga dapat dijumpai pada mikroorganisme dan hewan. Pada tumbuhan, alkaloid berfungsi sebagai mekanisme pertahanan untuk menunjang kelangsungan hidup, antara lain melindungi dari serangan virus, mikroorganisme, maupun serangga, serta menghambat pertumbuhan tanaman lain di sekitarnya melalui mekanisme alelopati (Jan et al., 2021).

Klasifikasi alkaloid umumnya didasarkan pada asal asam aminonya, seperti ornitin, asam nikotinat, lisin, triptofan, tirosin, histidin, asam antranilat. Selain itu, terdapat pula alkaloid yang tidak berasal langsung dari asam amino, melainkan terbentuk melalui aminasi senyawa turunan asetat, fenilalanin, terpenoid, atau steroid. Keanekaragaman struktur alkaloid disebabkan oleh berbagai modifikasi lanjutan terhadap prekursor awalnya, terutama asam

amino

Gambar 2.4 memperlihatkan kerangka utama dari senyawa alkoloid.



Gambar 2. 4 Kerangka Dasar Alkaloid (Yang et al., 2024)

d. Flavonoid

Flavonoid termasuk golongan senyawa fenolik terbesar yang banyak dijumpai di alam dan umumnya berfungsi sebagai pigmen pewarna pada tanaman. Flavonoid tersusun atas 15 atom karbon dengan pola rangka C6-C3-C6, yang terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat membentuk cincin ketiga. Hasil struktur tersebut menampilkan tiga jenis utama, yakni 1,3-diarilpropan, 1,2-diarilpropan, 1,1-diarilpropan.

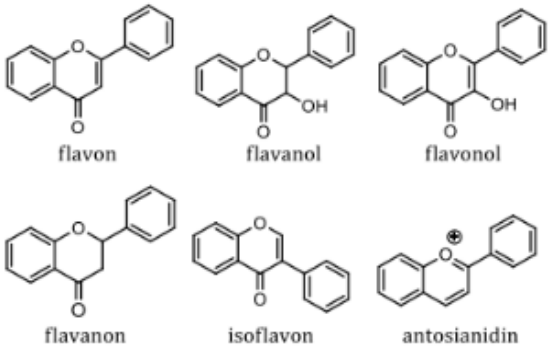
Struktur dasar flavonoid meliputi cincin aromatik A, cincin aromatik B, serta cincin tengah yang bersifat heterosiklik, berisi unsur oksigen serta berada dalam bangun teroksidasi. Cincin heterosiklik yang menjadi dasar dalam pengelompokan flavonoid ke berbagai subkelas. Penomoran atom karbon pada

struktur flavonoid digunakan untuk mengidentifikasi posisi relatif dari gugus fungsional di sekitar molekul tersebut (Sari et al., 2021). Kerangka struktur flavonoid dilihatkan gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Kerangka Struktur Flavonoid (Sari et al., 2021)

Klasifikasi struktur karbon, flavonoid dapat diklasifikasikan ke dalam enam sub kelompok, yakni flavon, flavonol, flavanol, flavanon, isoflavon, serta antosianidin.



Gambar 2. 6 Struktur umum kelompok utama senyawa flavonoid (Rahardjo, 2022)

Berbagai tipe senyawa, kandungan, serta

fungsi antioksidan dari flavonoid sebagai salah satu jenis antioksidan alami yang terdapat dalam sereal, sayuran, dan buah-buahan telah diteliti dalam berbagai kajian. Flavonoid berkontribusi sebagai antioksidan melalui kemampuannya dalam menyalurkan atom hidrogen atau dengan cara mengkelat ion logam. Senyawa ini dapat ditemukan dalam bentuk glikosida (terkonjugasi dengan rantai glukosa) maupun dalam bentuk bebas yang dikenal sebagai aglikon (Rissa Laila Vifta et al., 2021). Secara fisiologis, flavonoid memiliki tiga fungsi utama, yakni: antosianin yang memberikan warna pada bunga dan buah; flavon juga flavonol yang berfungsi menjadi sinyal biologis dan pelindung atas radiasi ultraviolet berlebih; serta isoflavon yang bekerja sebagai senyawa pelindung (Ikrima et al., 2019). Flavonoid tersebar di seluruh bagian tanaman, termasuk buah, serbuk sari, dan akar dalam bentuk glikosida.

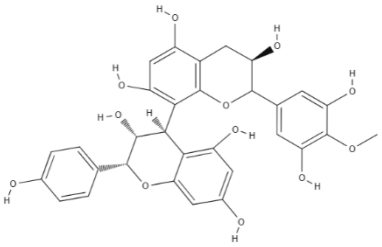
Berdasarkan struktur dasarnya, flavonoid dikelompokkan ke dalam beberapa subkelompok yaitu flavanon, flavonol, flavon, isoflavon, flavanonol, kalkon, auron, dihidrokalkon, katekin, antosianidin, flavan-3,4-diol. Di antara senyawa fenolik yang

berkontribusi sebagai antioksidan, flavonoid, polifenol, dan tanin memiliki kontribusi signifikan karena keberadaan gugus hidroksil (-OH) terikat ke cincin aromatik. Selain aktivitas antioksidan, senyawa flavonoid juga berperan penting dalam regulasi pertumbuhan tanaman, proses fotosintesis, serta menunjukkan aktivitas antimikroba dan antivirus (Utami & Novita Sari, 2016).

e. Tanin

Tanin merupakan senyawa polimer yang berasal dari flavonoid dan memiliki kerangka karbon dengan pola umum (C6-C3-C6)n. Tanin termasuk dalam kelompok senyawa polifenol yang mampu membentuk kompleks baik secara reversibel maupun ireversibel dengan berbagai makromolekul seperti polisakarida (misalnya selulosa, hemiselulosa, dan pektin), protein, alkaloid, asam nukleat, maupun mineral (Kumoro, 2015). Salah satu karakteristik utama tanin adalah keberadaan sedikitnya 12 gugus hidroksil atau gugus fenil berperan dalam kemampuan pengikatan terhadap protein (Nugroho, 2017). Berdasarkan sifat kimianya, tanin digolongkan ke dalam dua jenis utama, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin

terkondensasi. Tanin terhidrolisis dapat diuraikan menjadi molekul-molekul sederhana yang larut ketika diberi perlakuan asam. Sebaliknya, tanin terkondensasi akan membentuk senyawa kompleks yang tetap tidak larut dalam suasana asam (Rahardjo, 2013). Struktur tanin yaitu *Proanthocyanidin* pada gambar 2.7.



Gambar 2. 7 Struktur Senyawa Tanin (Proanthocyanidin) (P. de A. Rodrigues et al., 2021)

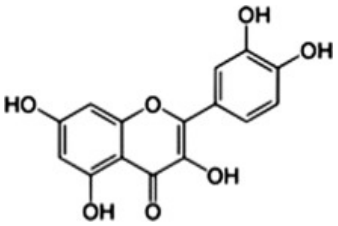
f. Fenolik

Fenolik merupakan senyawa yang terdiri dari cincin aromatik disertai satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa yang dikenal dengan fenolik atau polifenol ini mencakup flavonoid, tanin, dan asam fenolat. Senyawa fenolik sering ditemukan di dalam tanaman dalam bentuk glikosida atau ester. Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang berlimpah pada tumbuhan, di mana lebih dari

50.000 jenis molekul yang telah diidentifikasi sejauh ini (Lubinska-Szczygeł et al., 2018). Senyawa fenolik dibagi menjadi dua kategori utama yaitu fenolik sederhana dan fenolik kompleks. Senyawa seperti asam benzoat dan asam sinamat, yang mengandung satu ataupun memiliki lebih gugus hidroksil (-OH) yang berikatan dengan struktur cincin aromatik, termasuk dalam kelompok fenolik sederhana. Sementara itu, flavonoid, tanin, dan stilben digolongkan sebagai senyawa fenolik kompleks (Ghalem & Mohammed, 2021)

Senyawa fenolik memiliki sifat antioksidan yang kuat, yang menjadikannya penting dalam melawan radikal bebas serta menurunkan stres oksidatif dalam tubuh. Beberapa senyawa fenolik juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi, antibakteri, antivirus, dan antikanker. Senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan dengan mekanisme melepas elektron melalui gugus hidroksilnya, sehingga membentuk radikal fenolat yang stabil akibat delokalisasi elektron di dalam cincin aromatik. Adanya gugus metoksi ($-OCH_3$) serta gugus hidroksil (-OH) turut mendukung aktivitas ini dapat mempengaruhi energi disosiasi ikatan (BDE), yang memudahkan

pelepasan atom hidrogen (Vuolo et al., 2019). Struktur senyawa fenolik pada gambar 2.8.



Gambar 2. 8 Struktur Senyawa Fenolik (*Quersetin*) (Li et al., 2018)

4. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang terdiri dari atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lapisan terluarnya, sehingga disebut sebagai elektron bebas. Sifatnya yang paling reaktif menyebabkan radikal bebas memiliki spesifisitas kimia rendah dan mudah bereaksi dengan beragam molekul penting dalam tubuh, berupa protein, lipid, DNA, dan karbohidrat (Tvrdá & Benko, 2020). Radikal bebas akan condong mencari pasangan elektron molekul yang stabil guna mencapai kondisi kestabilan (duplet atau oktet), baik melalui interaksi langsung dengan senyawa lain maupun melalui pengaruh medan magnet tertentu (Rahman, 2007), ketika radikal bebas berhasil mengambil elektron dari molekul stabil, maka

molekul tersebut akan berubah menjadi radikal bebas baru. Proses ini akan memicu reaksi berantai yang berpotensi menyebabkan kerusakan sel secara progresif. Jenis-jenis radikal bebas umum tercipta ditubuh yang sebagian besar merupakan turunan dari oksigen, dikenal menjadi Reactive Oxygen Species (ROS) atau spesies oksigen reaktif.

Kelompok ini mencakup berbagai spesies oksigen aktif seperti oksigen triplet ($^3O_2$), oksigen singlet ($^1O_2$), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (•OH), nitrit oksida (NO•), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus (HOCl), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoksil (RO•), radikal peroksil (ROO•). Spesies-spesies ini sangat reaktif dan dapat menyebabkan stres oksidatif apabila tidak dinetralisasi oleh sistem antioksidan tubuh, sehingga berpotensi merusak struktur biologis seperti DNA, protein, dan membran sel (Ikrima et al., 2019). Radikal bebas dalam tubuh dihasilkan dari dua sumber, yaitu endogen dan eksogen.

a. Sumber Endogen

1) Autoksidasi

Autoksidasi merupakan proses yang terjadi melalui jalur metabolik aerobik, yang

melibatkan senyawa-senyawa seperti peptida, albumin, katekolamin, dan glutathione. Mekanisme autoksidasi ini dapat menghasilkan radikal bebas serta spesies oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS). Radikal mulai terbentuk diawali dengan superoksida. Ion Ferrous (Fe II) mengeluarkan elektronnya melalui oksigen, menghasilkan superoksida dan Fe III diproses melalui autoksidasi.

2) Oksidasi enzimatik

Enzim berupa *xanthine oxidase, prostaglandin synthase, lipoxygenase, aldehyde oxidase*, *amino acid oxidase* berfungsi menciptakan radikal bebas dalam jumlah yang signifikan, jika berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif di dalam tubuh. Enzim *myeloperoxidase* yang diaktifkan netrofil mengubah hidrogen peroksida menjadi oksidan yang kuat, yaitu asam hipoklor.

b. Sumber Eksogen

1) Obat-obatan

Beberapa jenis obat dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas, salah satunya melalui mekanisme peningkatan

tekanan oksigen dalam tubuh. Senyawa-senyawa tersebut dapat bereaksi dengan hiperoksida, sehingga mempercepat laju terjadinya kerusakan sel.

2) Radiasi

Radiasi merupakan faktor yang memunculkan pembentukan radikal bebas. Prosedur radioterapi, kerusakan jaringan dapat terjadi akibat pembentukan radikal bebas. Radiasi elektromagnetik, contohnya sinar-X dan sinar gamma, maupun radiasi partikel seperti elektron, foton, neutron, serta partikel alfa dan beta, memiliki kemampuan memicu pembentukan radikal bebas primer melalui proses transfer energi pada komponen sel, khususnya molekul air. Radikal bebas primer yang terbentuk selanjutnya akan bereaksi dengan oksigen terdisosiasi, menghasilkan radikal sekunder yang berperan dalam peningkatan stres oksidatif serta kerusakan pada sel.

5. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan penting dalam melindungi tubuh dari dampak

merugikan radikal bebas. Beberapa contoh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan antara lain vitamin, polifenol, karotenoid, dan mineral. Secara alami, keberadaan antioksidan dalam tubuh sangat penting dalam pencegahan berbagai penyakit. Mekanisme kerja antioksidan meliputi penekanan terhadap kerusakan sel akibat oksidasi oleh radikal bebas, serta penghentian proses perusakan tersebut melalui pemberian elektron ke radikal bebas. Dengan demikian, antioksidan mampu menetralkan radikal bebas maka tidak lagi bersifat reaktif dan tidak dapat merusak sel maupun DNA. Senyawa antioksidan ini dapat mudah diperoleh dari beragam jenis makanan seperti pepaya, stroberi, jeruk, lemon, kembang kol, bawang putih, anggur, *raspberry*, jeruk keprok, bayam, tomat, nanas (Armayanti et al., 2023).

Zat antioksidan berfungsi menekan reaksi oksidasi dengan berinteraksi langsung dengan radikal bebas reaktif, sehingga menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif. Senyawa fenolik dan flavonoid, yang umumnya terdapat pada tanaman, dikenal sebagai sumber antioksidan alami yang cukup potensial. Selain kemampuannya dalam mendonorkan elektron dan menghentikan reaksi

berantai, antioksidan juga mampu mengkelat logam serta memutus propagasi reaksi oksidatif. Menariknya, antioksidan yang telah bereaksi masih dapat didaur kembali oleh antioksidan lainnya, sehingga tidak berubah menjadi radikal bebas baru atau tetap berada bentuk stabil struktur kimia tertentu (Serafini, 2006)

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan dalam melindungi sel terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, seperti superoksida dan peroksinitrit. Proses stabilisasi radikal bebas dilakukan melalui donasi elektron oleh senyawa antioksidan, sehingga reaksi berantai yang berpotensi merusak struktur dan fungsi sel dapat dihambat (Christalina et al., 2018). Antioksidan juga berperan dalam memperlambat atau menghambat stres oksidatif terhadap molekul target. Mekanisme kerja antioksidan dalam melindungi sel meliputi beberapa cara, antara lain:

a. Menetralisir radikal bebas melalui pemanfaatan protein atau enzim sebagai katalis ataupun dengan cara bereaksi secara langsung.
b. Menghambat pembangunan radikal bebas dengan mengubahnya menjadi bentuk yang minim reaktif

atau menjadi senyawa non-radikal, seperti melalui aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GSH-Px), katalase.

c. Mengikat ion logam yang memicu reaksi Fenton menghasilkan radikal bebas (seruloplasmin, transferrin).
d. Menjaga komponen sel penting yang diserang oleh radikal bebas seperti vitamin E dan vitamin C yang berperan sebagai donor elektron.
e. Membenahi jaringan atau organ mengalami kerusakan akibat radikal bebas.
f. Mengubah sel yang rusak dengan sel-sel baru melalui aktivitas enzim seperti protease dan fosfokinase (Priyanto, 2010).

6. Metode Analisa Antioksidan

Beberapa metode yang dapat diterapkan untuk menalasisi aktivitas antioksidan secara in vitro antara lain:

a. Metode TBA (*Thiobarbituric Acid*)

Metode TBA digunakan untuk mengukur tingkat oksidasi lipid pada membran maupun sistem biologis. Dalam metode ini, senyawa malondialdehid (MDA), yang terbentuk akibat pemanasan hidroperoksida serta hasil degradasi

sekunder pada kondisi pH rendah, akan bereaksi dengan asam sulfanilik menghasilkan kompleks berwarna merah dapat diukur pada 535 nm (Al-Hmoud et al., 2014). Metode ini memiliki kelebihan berupa prosedur yang relatif sederhana dan sensitivitas yang cukup tinggi, sehingga banyak digunakan dalam analisis sistem biologis. Tetapi, angka TBA yang dihasilkan tak secara langsung mencerminkan total MDA maupun tingkat pemisahan hidroperoksida lipid. Nilai TBA ini sering kali dinyatakan sebagai *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS). Walaupun tergolong efektif, metode TBA membutuhkan waktu yang relatif lama karena hasil pengujiannya sangat dipengaruhi oleh tingkat oksidasi substrat yang bergantung pada faktor suhu, tekanan, serta tipe matriks. Selain itu, metode ini juga kurang efisien bila diterapkan untuk analisis sampel dalam jumlah besar (J.Rohmah, 2020).

b. Metode ABTS (2,2'-azinobis (*3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid*)

Metode ABTS dipergunakan untuk mengevaluasi kompetensi senyawa flavonoid juga fenolik untuk menetralkan radikal bebas.

Dibandingkan dengan metode DPPH, ABTS memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dan dapat digunakan pada rentang pH yang lebih luas, termasuk dalam pelarut asam. Hal ini menjadikan metode ABTS lebih fleksibel dalam mempelajari aktivitas antioksidan di berbagai kondisi pelarut (Al-Hmoud et al., 2014). ABTS dapat larut dalam pelarut polar seperti air maupun pelarut organik, sehingga metode ini cocok untuk menilai aktivitas antioksidan dalam berbagai jenis matriks. Selain itu, ABTS bereaksi lebih mudah dibanding DPPH larutan penyangga (PBS), memenuhi kestabilan diwaktu sekitar 30 menit. Meskipun demikian, kekurangan metode ABTS adalah harga reagen yang relatif mahal.

c. Metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Metode ORAC dimanfaatkan untuk mengukur kapasitas antioksidan yang terdapat pada buah maupun sayuran. Cara kerja metode ini didasarkan pada penambahan sampel ke dalam media yang memiliki pembangkit radikal peroksil, seperti 2,2′-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), mengukur pencegahan

terhadap radikal bebas dengan memanfaatkan senyawa fluoresen seperti B-phycoerythrin atau R-phycoerythrin (Shalaby dan Shanab, 2013). Metode ABTS memberikan evaluasi yang baik dalam mengukur potensi antioksidan baik yang dengan fase transisi berbeda dan yang tanpa. Namun, metode ini terbatas hanya pada senyawa hidrofilik dan tidak mempertimbangkan antioksidan lipofilik. Peralatan khusus diperlukan dalam pengujian ini. Suhu dapat mempengaruhi keakuratan, sehingga harus dikontrol (Shalaby dan Shanab, 2013).

d. Metode DPPH *(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)*

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan dengan menilai sejauh mana suatu senyawa atau ekstrak mampu menetralisir radikal bebas DPPH. DPPH sendiri adalah senyawa organik yang stabil, mengandung unsur nitrogen, dan memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm, ditandai dengan warna ungu pekat (Umboro et al., 2020)

Interaksi antara radikal bebas DPPH dan senyawa antioksidan memicu tereduksinya radikal

DPPH, yang dapat diamati melalui perubahan warna larutan dari ungu ke kuning. Perubahan warna yang terjadi ini diakibatkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekul DPPH, setelah radikal bebas tersebut menangkap atom hidrogen dari antioksidan untuk membentuk pasangan elektron. Radikal DPPH yang telah berpasangan membentuk struktur yang lebih stabil, di mana kestabilan tersebut muncul karena elektron yang telah terikat tidak lagi dapat beresonansi. Perubahan intensitas warna akibat reaksi ini kemudian diukur menggunakan spektrofotometer, dan nilai absorbansinya diplotkan terhadap konsentrasi untuk menentukan aktivitas antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Hasil analisis spektrofotometer UV-Vis menunjukkan persen inhibisi yang disubstitusi ke dalam persamaan linier, menghasilkan nilai IC_{50} yang merepresentasikan konsentrasi antioksidan untuk mengatasi 50% aktivitas DPPH sebagai radikal bebas (Erlidawati, 2018). Nilai IC_{50} yang semakin rendah menunjukkan aktivasi antioksidan yang semakin efektif dalam mengatasi

radikal bebas DPPH. Jika $IC_{50} \leq 50$ ppm, maka sampel tergolong memiliki antioksidan sangat kuat. IC_{50} antara 50-100 ppm termasuk antioksidan kuat. Ketika IC_{50} mencapai 100-200 ppm, maka tergolong sampel dengan antioksidan sedang. Sementara jika $IC_{50} \geq 200$ ppm, maka dikategorikan sebagai antioksidan lemah (Tukiran *et al*., 2019).

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH karena metode ini dapat memberi informasi detail mengenai reaktivitas senyawa yang dinilai terhadap radikal bebas stabil, serta dapat menguji senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan vitamin dengan sifat antioksidatif. Gugus hidroksil (-OH) pada senyawa fenolik kulit jeruk dapat bereaksi melalui mekanisme transfer atom (HAT) atau transfer elektron (SET), menghasilkan radikal tereduksi (DPPH-H) yang tidak berwarna. Proses pada metode ini juga sederhana karena tidak memerlukan enzim, pH khusus atau reaksi redoks yang kompleks seperti pada metode ORAC atau FRAP. Selain itu, perubahan warna larutan ungu sebagai kuning memungkinkan pengukuran

langsung memanfaatkan spektrofotometer panjang gelombang 517 nm dan memberikan data kuantitatif yang sensitif seperti $IC_{50.}$

7. Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} berfungsi sebagai parameter untuk menganalisis data dari pengujian senyawa yang telah diekstrak. IC_{50} menunjukkan sampel yang dapat menurunkan aktivitas senyawa hingga 50% ataupun konsentrasi larutan substrat. Semakin kecil nilai IC_{50}, semakin tinggi aktivitas antioksidan. IC_{50} dihitung dengan menggunakan analisis regresi linear yang menggambarkan hubungan konsentrasi sampel X dan aktivitas penangkapan radikal Y. Semakin rendah IC_{50}, semakin efektif senyawa dalam menangkap radikal (Ugwu & Conradie, 2023).

Beberapa analisis jaringan, jalur, dan metagenomik difokuskan untuk mengidentifikasi protein penting atau asam polinukleat sebagai target senyawa penghambat. Pada tahap awal, biasanya dilakukan pengujian skala besar untuk membandingkan dan memilih senyawa yang berpotensi mampu menghambat aktivitas enzim atau berikatan dengan makromolekul target. Banyak tes fungsional mencari konsentrasi inhibitor total yang

menguranginya sebesar 50% (IC_{50}). Namun, nilai IC_{50} bergantung pada konsentrasi enzim (atau molekul target), inhibitor, dan substrat (atau ligan) bersama dengan kondisi percobaan lainnya.

8. Metode *Folin-Ciocalteu*

Kandungan total senyawa fenolik dalam sampel dianalisis melalui metode kolorimetri menggunakan reagen Folin–Ciocalteu. Metode ini menghasilkan data dalam bentuk massa ekuivalen terhadap asam galat sebagai standar pembanding (Nounah et al., 2024). Reagen Folin–Ciocalteu yakni larutan kompleks yang tersusun dari asam heteropoli, yaitu fosfotungstat serta fosfomolibdat, yang diperoleh dari campuran beberapa komponen seperti air, asam klorida, asam fosfat, natrium molibdat, natrium sulfat, litium, natrium tungstat, serta bromin (Zugazua-Ganado et al., 2024)

Prinsip kerja metode ini didasarkan pada proses oksidasi gugus hidroksil dari senyawa fenolik, di mana fenolat mengalami oksidasi dan senyawa heteropoli dalam reagen Folin–Ciocalteu mengalami reduksi, membangun kompleks warna biru dari molibdenum dan tungsten. Kompleks biru yang terbentuk, yaitu fosfotungstat-fosfomolibdat, memiliki intensitas

warna yang selaras pada total senyawa fenolik sampel. Absorbansi maksimum dari kompleks ini terjadi pada panjang gelombang 760 nm, yang memberikan hasil optimal untuk kuantifikasi (Zugazua-Ganado et al., 2024).

Metode Folin–Ciocalteu dikenal memiliki kelebihan berupa sensitivitas yang tinggi, ketelitian yang baik, serta prosedur yang relatif sederhana. Reaksi ini memerlukan suasana basa yang didapat melalui penambahan larutan natrium karbonat, yang berfungsi untuk memastikan lingkungan reaksi mendukung pembentukan kompleks warna (Sari et al., 2021).

B. Karakterisasi

1. Spektrofotometer UV-*Vis*

Spektofotometer *ultraviolet* merupakan teknik spektroskopi sinar tampak yang digunakan dalam analisis larutan senyawa organik dan ion logam kompleks, dengan hasil analisis berupa konsentrasi larutan senyawa tersebut.

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa terdapat hubungan linear antara absorbansi suatu larutan dengan konsentrasi zat penyerap dan panjang lintasan cahaya yang dilewati. Prinsip ini menjadi dasar

dalam teknik spektroskopi absorbansi. Secara matematis, hukum ini dinyatakan dalam persamaan A = a·b·c, di mana A merupakan nilai absorbansi, a adalah absorptivitas molar (dalam satuan M^{-1}·cm^{-1}), b adalah panjang lintasan kuvet (umumnya 1 cm), dan c adalah konsentrasi larutan (M).(Shukla et al., 2017).

Spektrofotometer UV-Vis bekerja berdasarkan prinsip penyerapan radiasi elektromagnetik oleh sampel dalam rentang panjang gelombang ultraviolet hingga cahaya tampak, umumnya sekitar 200 nm ke atas. Dalam analisis spektroskopi ini, pengukuran didasarkan pada intensitas warna larutan, yang selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi zat berdasarkan nilai absorbansi relatif terhadap larutan standar.

Prinsip spektrofotometer UV-Vis dilandaskan pada fenomena transisi elektron dalam molekul. Ketika molekul menyerap radiasi pada panjang gelombang tertentu dalam spektrum UV atau visible, terjadi eksitasi elektron tingkat energi dasar *(ground state)* ke tingkat energi lebih tinggi *(excited state)*. Proses ini menghasilkan nilai absorbansi sebanding dengan konsentrasi spesies penyerap dalam larutan, sesuai dengan hukum Beer–Lambert.

C. Kajian Riset yang Relevan

1. Studi yang dilakukan (Deasy Rosita Dewi, 2019), temuan studi ekstrak kulit jeruk manis memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 66,41% dengan total fenol 2.656,48±55,46 mg GAE/g. Kulit jeruk manis berpotensi sebagai antioksidan.
2. Studi yang dilakukan (Khasanah et al., 2014) menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas ekstrak etanolik kulit jeruk nipis menggunakan metode dpph mempunyai aktivitas antioksidan IC_{50} 54,458 ppm. Hasil KLT menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung adalah golongan fenolik dan vitamin C.
3. Penelitian oleh (Fitri Anisa, 2022), melaporkan hasil uji aktivitas ekstrak kulit jeruk ponkan metode DPPH menunjukan IC_{50} 96,24 ppm. Hasil dari ekstrak etanol kulit jeruk ponkan menunjukan adanya kandungan senyawa fenolik dengan kadar jumlah fenol diperoleh 23,51 mg GAE/g. Kulit jeruk ponkan mempunyai aktivitas antioksidan kuat serta kandungan fenolik sehingga jeruk ponkan (*Citrus reticulata)* berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.
4. Navitri dan Monica, (2012) menunjukkan pengukuran anti radikal bebas ekstrak metanol serta etil asetat kulit jeruk bali merah dengan menggunakan metode DPPH

menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak metanol 1443,125 ppm, sementara ekstrak etil asetat sebesar 543,137 ppm.

5. Penelitian yang dilakukan oleh (Friatna et al., 2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk purut (Citrus hystrix) memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, dengan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH sebesar 66,84–68,91%. Nilai inhibisi tersebut menggambarkan kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas DPPH melewati mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen, sehingga menunjukkan potensi ekstrak sebagai sumber antioksidan alami.

D. Hipotesis

Kulit jeruk Medan *(Citrus sinensis L.)* "Medan" mengandung kadar fenolik total yang signifikan dan memiliki potensi antioksidan alami tertinggi pada ekstrak polar (etanol), yang dibuktikan melalui pengujian kadar fenolik total menggunakan metode *Folin–Ciocalteu* dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada ekstrak hasil maserasi bertingkat dengan pelarut berbeda kepolaran. Selain itu, penelitian terdahulu membuktikan bahwa pelarut polar (etanol) memiliki kadar fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan ekstrak lain.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga April 2025 di laboratorium pendidikan kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Muhammadiyah Semarang. Penelitian dilakukan dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif, tahap penelitian yang dilaksanakan yakni preparasi sampel, ekstraksi sampel, uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan, dan analisis kadar fenolik jumlah menggunakan spektrofotometri UV-*Vis.*

B. Alat dan Bahan

1. Alat

   Alat yang dipergunakan berupa batang pengaduk, *beaker glass*, *blender*, *hotplate,* labu ukur, neraca analitik, *oven*, pipet tetes, pipet volume, *rotary evaporator*, spatula, tabung reaksi, termometer. Instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-*Vis*.

2. Bahan

   Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L.* "Medan"), etanol p.a, etanol 70% (*Merck*), aquades, $FeCl_3$ (*Sigma-aldrich*), DPPH (*merck*), quersetin (*sigma-aldrich*), NH_3, n-heksan, etil asetat, reagen *mayer*, *folin-ciocalteu* (*Merck*), asam galat, $CHCl_3$, serbuk Mg, HCl, CH_3COOH, H_2SO_4, Na_2CO_3.

C. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

   Sampel yang dipergunakan berupa kulit jeruk medan (*Citrus sinensis L.* "Medan"). Pemilihan kulit jeruk medan didasarkan pada ketersediaannya yang melimpah serta potensi kandungan senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan.

   Kulit jeruk yang dikumpulkan kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, lalu dikeringkan menggunakan *oven* dengan suhu 45°C selama 24 jam. Pengeringan menggunakan oven dipilih untuk menurunkan kadar air secara optimal sekaligus menjaga kestabilan senyawa aktif dalam simplisia. Tujuan dari pengeringan simplisia tanpa terpapar sinar matahari langsung adalah agar simplisia tidak rusak dan tidak terjadi dekomposisi kandungan senyawa dalam kulit jeruk medan (Rahmawati, 2017).

   Kulit jeruk kemudian didiamkan pada suhu ruang selama beberapa saat untuk dihaluskan menggunakan *blender* hingga diperoleh serbuk berukuran kecil. Proses pengeringan dan penghalusan bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi, sebab makin kecil ukuran partikel simplisia, makin besar luas permukaan yang memungkinkan kontak optimal antara pelarut dan

senyawa aktif selama proses maserasi berlangsung (Makanjuola, 2017). Serbuk simplisia kemudian disaring menggunakan ayakan dan disimpan dalam kantong plastik tertutup disuhu ruang, di tempat terlindung paparan sinar matahari langsung.

2. Ekstraksi Sampel (Maulida et al., 2023)
   a. Ekstraksi dengan n-heksan

      Simplisia sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu ditambahkan 1000 mL pelarut n-heksana. Ekstraksi dilakukan selama 48 jam menggunakan metode maserasi. Setelah 48 jam, ekstrak disaring memisahkan filtrat dari residu. Residu yang tertinggal sesudah ekstraksi n-heksana kemudian dimasukkan ke dalam *oven* dengan suhu 40-45°C untuk menghilangkan sisa n-heksana yang masih ada, pengeringan dilakukan hingga residu benar-benar kering. Filtrat hasil ekstraksi n-heksana kemudian diuapkan memanfaatkan *rotary evaporator* tekanan rendah pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental n-heksana.

   b. Ekstraksi dengan etil asetat

      Residu kering hasil dari ekstraksi n-heksana di maserasi menggunakan 250 ml etil asetat selama 48 jam. Ekstrak disaring, residu dikeringkan, dan filtrat

diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental etil asetat.

c. Ekstraksi dengan etanol

Residu kering hasil dari ekstraksi etil asetat di maserasi menggunakan 250 ml etanol 70% selama 48 jam. Ekstrak disaring, residu dikeringkan dan filtrat diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental etanol. Ekstraksi diulangi sebanyak tiga kali. Rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan **persamaan 3.1.**

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{berat\ ekstrak}{massa\ sampel} \times 100\ \% \text{.....} \quad \textbf{(3.1)}$$

3. Identifikasi fitokimia

a. Uji Terpenoid

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak, ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 pekat dan 2 ml kloroform. Larutan digojog hingga tercampur. Uji positif terpenoid mendapat warna merah atau violet (Tunjung et al., 2015)

b. Uji Saponin

Sebanyak 1 ml larutan ditambah dengan 10 ml aquades dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dididihkan. Dikocok secara vertikal selama 10 detik setelah itu didiamkan. Uji positif ditandai dengan adanya busa (Susanti et al., 2015).

c. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan kedalam erlenmeyer, lalu diberikan 2 tetes HCL pekat dan 2 tetes reagen Mayer. Endapan putih menunjukkan hasil positif (Hindun et al., 2017).

d. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan di tetesi HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan warna larutan berubah menjadi merah tua (Hindun et al., 2017)

e. Uji Tanin

Pengujian dilaksanakan dengan mengambil 1 ml ekstrak, lalu ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ 1%. Jika larutan menunjukkan warna hijau atau biru tua maka menunjukkan adanya senyawa polifenol (Oktavia & Sutoyo, 2021).

f. Uji Fenolik

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambahkan ke tabung reaksi, kemudian 2 tetes $FeCl_3$ 1% dicampurkan. Warna gelap menunjukkan hasil positif pada pengujian (Fahrurroji & Riza, 2020)

g. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Jyotirmayee & Sarangi, 2013)

Plat KLT silika gel 60 F_{254} 20x20 dipersiapkan kemudian dipotong dengan ukuran 5 × 1 cm, dengan jarak tepi atas 0,5 cm dan tepi bawah 1,0 cm. Fase gerak yang digunakan merupakan campuran dua pelarut, yaitu n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 5:5, 6:4, dan 7:3, kemudian ditambahkan 1 tetes isopropil alkohol pada masing-masing sistem eluen. Eluen yang telah disiapkan kemudian dijenuhkan di dalam chamber selama kurang lebih tujuh menit. Selanjutnya, masing-masing ekstrak ditotolkan pada permukaan plat dan dikeringkan. Proses pengelusian dilakukan dengan memasukkan plat ke dalam chamber hingga pelarut mencapai hampir mendekati tepi atas plat, kemudian plat diangkat dan dikeringkan. Noda yang terbentuk diamati di bawah lampu UV, lalu nilai Rf dihitung menggunakan rumus berikut:

$$Rf = \frac{Jarak\ tempuh\ noda}{Jarak\ tempuh\ eluen} \quad \textbf{(3.2)}$$

4. Penetapan kadar fenolik total
   a. Pembuatan larutan standar asam galat (Ramadhan et al., 2021)

      Larutan standar asam benzoat 1000 ppm disiapkan dengan menimbang 10 mg asam benzoat dilarutkan dalam air hingga volume 10 mL. Sebanyak

2,5 mL larutan stok diambil dan diencerkan dengan air hingga mencapai volume akhir 25 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan tersebut kemudian dipipet masing-masing sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL, lalu ditambahkan etanol 70% hingga volume 10 mL, sehingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi berturut-turut sebesar 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

b. Pengukuran larutan standar asam galat

Larutan asam asetat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm disiapkan sebagai larutan standar. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen Folin–Ciocalteu 5%. Campuran dikocok secara merata dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya, setiap tabung diberi tambahan 2 mL larutan Na_2CO_3 5%, dikocok kembali hingga homogen, lalu diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang.

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 760 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplotkan konsentrasi asam asetat (sumbu x) terhadap nilai absorbansi (sumbu y), dan

diperoleh persamaan regresi linear dalam bentuk y = bx + a. (Sari et al., 2021).

c. Penetapan kadar fenolik total ekstrak n-heksan, etil asetat, etanol kulit jeruk medan *(Citrus Sinensis L "*Medan*")*.

Masing-masing fraksi kental ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol pro analis (p.a) hingga mencapai volume akhir dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya, sebanyak 1 mL larutan diambil dan diperlakukan dengan prosedur yang sama seperti pada pembuatan kurva standar (Ahmad et al., 2015). Kandungan total fenolat ditentukan berdasarkan persamaan kurva standar yang telah diperoleh."

5. Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk medan dianalisis menggunakan metode DPPH sesuai dengan metode (Silalahi et al., 2022) yang dimodifikasi.

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM disiapkan dengan menimbang sebanyak 3,94 mg DPPH, kemudian dilarutkan menggunakan metanol pro analysis (p.a.) hingga mencapai volume akhir 50 mL dalam labu ukur.

b. Uji larutan blanko

Sebanyak 2 mL pelarut dari masing-masing sampel diambil, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,2 mM. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet dan absorbansinya diukur sebagai larutan blanko.

c. Penetapan nilai IC_{50} larutan kuersetin sebagai pembanding

Larutan quersetin dibuat dengan konsentrasi 100 ppm (Biomed, 2012). Larutan 100 ppm diencerkan menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dalam tabung ukur 20 mL. Larutan quersetin dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm disiapkan sebanyak 2 mL, diletakkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL DPPH (0,2 mM) sehingga total volume larutan adalah 4 mL. Seluruh larutan di homogenkan, tabung reaksi ditutup alumunium foil dan diinkubasi 30 menit dalam kegelapan untuk reaksi. Pengukuran absorbansi pada setiap larutan menggunakan panjang gelombang maksimum DPPH dan dilaksanakan sebanyak 3 kali pengulangan.

d. Penetapan nilai IC_{50} fraksi kental kulit jeruk medan

Larutan induk dari masing-masing fraksi (n-heksana, etil asetat, dan etanol) disiapkan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Masing-masing larutan diambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,2 mM sehingga total volume menjadi 4 mL. Campuran dihomogenkan, kemudian seluruh tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur menggunakan panjang gelombang maksimum DPPH, dan setiap pengukuran dilakukan dalam tiga kali pengulangan.

6. Analisis Data

Data yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan dari masing-masing fraksi ekstrak kulit jeruk medan, yaitu fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol. Kadar fenolik total dihitung dengan persamaan regresi linear: y= bx + a dengan hasil dinyatakan dalam satuan miligram ekuivalen asam galat per gram sampel (mg GAE/g).) (Baturante et al., 2024). Klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} terbagi menjadi lima kategori,

yaitu: sangat kuat apabila nilai IC_{50} < 50 ppm, kuat pada rentang 50–100 ppm, sedang antara 100–200 ppm, lemah antara 200–500 ppm, dan tidak aktif jika nilai IC_{50} > 500 ppm (Umboro et al., 2020). Hasil analisa ditentukan melalui persamaan 3.2**.**

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{abs\ DPPH - abs\ sampel}{abs\ DPPH} \text{ x } 100\% \text{.....} \quad \textbf{(3.2)}$$

Nilai IC_{50} dikelompokkan menurut kategori efek antioksidan yang dihasilkan dari sampel. Perhitungan ini berdasarkan rumus regresi linear: y= bx + a.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa kulit jeruk medan (*Citrus sinensis* L. "Medan"). Pemilihan kulit jeruk medan sebagai sampel didasarkan pada ketersediaannya yang melimpah serta potensi kandungan senyawa bioaktif yang tinggi, khususnya senyawa fenolik dan potensinya sebagai antioksidan. Pembuatan simplisia melibatkan beberapa tahapan, mulai dari pengumpulan bahan, penyortiran, pengeringan, penghalusan, hingga penyimpanan. Di antara tahapan tersebut, proses pengeringan memegang peranan penting karena dapat mencegah pertumbuhan jamur dan menjaga kestabilan zat aktif dalam bahan. Pengeringan simplisia sendiri dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti menggunakan sinar matahari, alat blower, atau oven (Sulasmi et al., 2016).

Kulit jeruk medan yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45°C selama 24 jam. Proses pengeringan bertujuan untuk

mempertahankan kualitas bahan serta memperpanjang masa simpan simplisia. Oven dipilih sebagai metode pengeringan karena dinilai lebih efektif dalam menurunkan kadar air dan mempertahankan mutu simplisia dibandingkan metode pengeringan alami seperti dengan bantuan angin atau sinar matahari (Wahyuni et al., 2014).

Pemilihan suhu 45°C didasarkan pada temuan bahwa suhu ini dapat menghasilkan kandungan zat aktif yang lebih tinggi dibandingkan suhu ruang, meskipun perbedaannya tidak terlalu signifikan secara statistik (Warnis et al., 2020). Kulit jeruk medan yang telah dikeringkan lalu dihaluskan memanfaatkan blender untuk memperkecil ukurannya. Serbuk yang didapat disaring menggunakan ayakan agar diperoleh simplisia. Serbuk simplisia kulit jeruk medan berwarna kuning pucat berupa gambar 4.1



Gambar 4.1 Simplisia Kulit Jeruk Medan

Serbuk simplisia yang memiliki tekstur halus dapat mempercepat proses ekstraksi, karena luas permukaan yang lebih besar memungkinkan pelarut menyerap senyawa kimia dengan lebih efektif dan optimal (Maulana, 2022).

B. Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol 70%. Variasi polaritas pelarut tersebut secara signifikan memengaruhi jenis serta jumlah senyawa metabolit sekunder yang berhasil diekstrak. Perbedaan tingkat kepolaran pada pelarut ini penting karena tiap pelarut mempunyai kompetensi berbeda dalam melarutkan senyawa aktif, sehingga diharapkan dapat mengungkap potensi bioaktivitas tertinggi dari senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk medan (C. V. Rodrigues & Pintado, 2024). Penggunaan pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda bertujuan untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai distribusi senyawa metabolit sekunder dalam kulit jeruk Medan, serta mengidentifikasi jenis pelarut yang paling efektif

dalam mengekstraksi senyawa fenolik dan senyawa dengan aktivitas antioksidan.

Serbuk kulit jeruk sebanyak 250 gram diekstraksi menggunakan 1000 mL pelarut n-heksan, kemudian campuran disaring untuk memperoleh filtrat pertama. Ekstraksi diawali dengan pelarut n-heksan, untuk mengekstraksi senyawa non-polar seperti terpenoid. Pemilihan pelarut non-polar pada tahap awal bertujuan untuk menghilangkan komponen lipofilik yang dapat mengganggu kelarutan senyawa polar di tahap ekstraksi berikutnya, sehingga meningkatkan selektivitas dan efisiensi proses. Sesuai dengan prinsip *"like dissolves like"*, di mana pelarut akan lebih efektif melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang serupa, sehingga urutan dari non-polar ke polar mencegah terlarutnya senyawa non-polar ke dalam pelarut polar dan menjaga kemurnian ekstrak (Abubakar & Haque, 2020).

Residu dari proses ini kemudian dikeringkan di oven terlebih dahulu dengan suhu ±40–45°C selama beberapa jam. Suhu ini dipilih karena cukup rendah untuk menghindari sdegradasi senyawa bioaktif yang peka terhadap panas, namun cukup

efektif untuk menghilangkan sisa pelarut sebelum dimaserasi kembali dengan pelarut berikutnya. Residu yang telah dikeringkan selanjutnya dimaserasi kembali menggunakan etil asetat, pelarut dengan polaritas menengah yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa seperti alkaloid dan flavonoid aglikon, kemudian disaring untuk memperoleh filtrat kedua. Terakhir, digunakan etanol 70% sebagai pelarut polar untuk mengekstraksi senyawa polar seperti fenolik, flavonoid glikosida, dan tanin. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut polar dilakukan karena sifat hidrofiliknya yang baik, terutama karena adanya kandungan air yang membantu melarutkan senyawa polar seperti fenolik, tanin, dan glikosida.

Setiap jenis ekstrak diperoleh dengan cara maserasi selama 48 jam dalam suhu ruangan, lalu disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Setiap pelarut digunakan hingga warna simplisia residu memudar, menandakan bahwa sebagian besar senyawa larut telah ter-ekstraksi. Proses penggantian pelarut selama 48 jam pada setiap tahap bertujuan untuk memaksimalkan perolehan senyawa kimia dari

simplisia. Pada proses maserasi terjadi perbedaan tekanan osmotik antara jaringan di dalam dan di luar sel tanaman, yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada dinding serta membran sel. Kondisi tersebut memungkinkan senyawa metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma larut ke dalam pelarut yang digunakan (Setyawan, 2019).

Hasil ekstraksi menunjukkan rendemen paling tinggi diperoleh pada pelarut etanol 70% yakni 8,77%, diikuti oleh etil asetat 5,12%, n-heksan 3,70%. Rendemen yakni persentase perolehan ekstrak yang dihitung berlandaskan perbandingan berat ekstrak diperoleh secara berat simplisia kering yang digunakan dalam proses ekstraksi (Fadlilaturrahmah et al., 2021). Nilai rendemen yang tinggi mengindikasikan bahwa pelarut tersebut mampu mengekstrak lebih banyak senyawa bioaktif dari simplisia (Senduk et al., 2020).

Berdasarkan hasil ekstraksi yang telah dilakukan, rendemen tertinggi diperoleh dari pelarut etanol sebesar 8,77%. Kandungan air dalam etanol 70% juga berperan dalam meningkatkan kelarutan senyawa hidrofilik, sehingga

menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lainnya. Temuan yang selaras pada beberapa studi dahulu yang menyebutkan pelarut etanol-air dengan konsentrasi 70% merupakan pelarut yang efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari bahan alam (Sari et al., 2019; Nugroho dan Santoso, 2021).

Ekstraksi pada pelarut etil asetat menghasilkan rendemen sebesar 5,12%, yang menempati posisi kedua setelah etanol. Etil asetat berfungsi sebagai pelarut semi-polar untuk melarutkan senyawa seperti alkaloid dan flavonoid, yang tidak dapat terekstrak secara maksimal oleh pelarut polar maupun non-polar. Meskipun lebih rendah dari etanol 70%, hasil ini tetap menunjukkan efektivitas etil asetat dalam mengekstrak senyawa bioaktif dengan kepolaran menengah. Penelitian oleh Lestari et al. (2018) menunjukkan etil asetat mempunyai kompetensi cukup baik dalam mengekstrak senyawa aktif tertentu bahan alam, meskipun umumnya tetap di bawah pelarut polar seperti etanol. Penelitian oleh Lestari et al. (2018) melihatkan rendemen etil asetat dari bahan alam cenderung lebih rendah

dibandingkan pelarut polar seperti metanol atau etanol 70%.

Ekstraksi pada pelarut n-heksan yang bersifat non-polar menghasilkan rendemen sebesar 3,70%. Rendemen ini menunjukkan bahwa sebagian kecil senyawa non-polar seperti lipid, minyak atsiri, atau senyawa terpenoid non-polar dapat terekstrak oleh n-heksan. Meskipun jumlahnya lebih rendah dibandingkan etanol 70%, hasil ini tetap relevan karena menunjukkan adanya senyawa non-polar dalam sampel yang dapat dipisahkan secara selektif dengan pelarut yang sesuai. Yuliana et al. (2020), n-heksan umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa non-polar seperti hidrokarbon, steroid, dan beberapa jenis alkaloid non-polar.

Perbedaan jumlah rendemen antar pelarut dapat dijelaskan berdasarkan sifat polaritas masing-masing pelarut dan jenis senyawa yang dominan dalam sampel. Pemilihan pelarut yang sesuai sangat penting untuk memperoleh rendemen optimal dan selektivitas terhadap senyawa target yang diinginkan.

C. Identifikasi Fitokimia

Uji fitokimia terhadap kulit jeruk Medan

dilakukan sebagai tahap awal penelitian untuk mengonfirmasi keberadaan senyawa aktif dalam sampel, seperti saponin, tanin, dan alkaloid (Diana, 2022). Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia

Ekstrak	Uji komponen senyawa					
	Terpenoid	Saponin	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Fenolik
n-hexane	+	+	-	+	+	+
etil asetat	+	-	-	+	+	+
Etanol 70%	+	-	-	+	+	+

1. Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa isoprenoid yang bersifat non-polar hingga semi-polar, dan sangat melimpah dalam tanaman sitrus, termasuk dalam bentuk monoterpen (seperti limonena) maupun seskuiterpen. Terpenoid terdeteksi secara konsisten di ketiga jenis ekstrak. Pelarut non-polar berupa n-heksan sangat sesuai untuk mengekstraksi terpenoid non-polar, sedangkan etil asetat juga etanol 70% juga dapat melarutkan terpenoid semi-polar. Hal ini sesuai dengan sifat kimianya dan mendukung penggunaan pelarut

bertingkat untuk mengekstraksi kelompok senyawa ini secara selektif.

Terpenoid merupakan kelompok senyawa isoprenoid yang terdiri dari satu atau lebih unit isoprena (C_5H_8) dan umumnya bersifat non-polar hingga semi-polar, tergantung pada panjang rantai dan gugus fungsional yang terikat. Senyawa ini dikenal sangat melimpah dalam tanaman citrus, termasuk kulit jeruk, terutama dalam bentuk monoterpen seperti limonena, α-pinena, dan β-myrcena, serta seskuiterpen. Dalam penelitian ini, terpenoid terdeteksi secara konsisten pada seluruh jenis ekstrak, yakni n-heksan, etil asetat, etanol 70%. Hal ini sesuai dengan sifat kimianya yang fleksibel terhadap pelarut dengan berbagai tingkat polaritas (Dugo & Mondello, 2011).

Pelarut non-polar berupa n-heksan sangat cocok untuk mengekstraksi terpenoid non-polar, terutama limonen (monoterpen) yang merupakan komponen utama dalam minyak atsiri kulit jeruk. Senyawa ini memiliki volatilitas tinggi dan kelarutan baik dalam pelarut non-polar, sehingga sangat mudah terekstrak dalam ekstrak n-heksan. Sementara itu, pelarut semi-polar berupa etil asetat serta pelarut polar berair seperti etanol 70% juga mampu melarutkan sebagian terpenoid

yang memiliki gugus hidroksil atau struktur cincin teroksigenasi, seperti beberapa turunan seskuiterpenoid dan diterpenoid. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok terpenoid dalam kulit jeruk tidak hanya terdiri dari senyawa non-polar, tetapi juga mencakup terpenoid semi-polar yang dapat larut dalam pelarut dengan polaritas menengah.

2. Saponin

Etanol 70% merupakan campuran pelarut polar (air) dan semi-polar (etanol) yang sangat efektif untuk mengekstraksi senyawa-senyawa polar seperti saponin. Kandungan air pada etanol 70% berperan dalam melarutkan unit glikosida pada molekul saponin melalui pembentukan ikatan hidrogen, sementara kandungan etanolnya dapat membantu melarutkan bagian aglikon yang bersifat lipofilik. Oleh karena itu, hanya pada ekstrak etanol 70% saponin dapat terekstraksi secara optimal dari kulit jeruk. Tidak terdeteksinya saponin pada ekstrak etil asetat juga n-heksan memperkuat kesimpulan bahwa senyawa ini memang sangat polar, karena kedua pelarut tersebut memiliki polaritas yang tidak sesuai: etil asetat sifatnya semi-polar, sementara n-heksan sifatnya non-polar dan hanya mampu

mengekstrak senyawa non-polar seperti minyak atsiri atau flavonoid polimetoksi.

Uji yang digunakan untuk mendeteksi saponin adalah uji busa (froth test), yang bekerja berdasarkan sifat amfipatik dari saponin. Senyawa ini mempunyai kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan air dan membentuk lapisan antarmuka antara air dan udara. Ketika larutan ekstrak dikocok dengan kuat dalam tabung reaksi, saponin akan membentuk busa yang stabil akibat interaksi bagian hidrofilik dan lipofilik dari strukturnya. Adanya busa setinggi lebih dari 1 cm yang stabil selama minimal 10 menit menunjukkan hasil positif terhadap saponin (Oktavia & Sutoyo, 2021). Tidak terbentuknya busa ekstrak etil asetat juga n-heksan mengindikasikan bahwa saponin tidak terekstraksi dalam pelarut-pelarut tersebut, yang kembali menegaskan bahwa senyawa ini hanya larut dalam pelarut yang mengandung air.

Keberhasilan deteksi saponin pada ekstrak etanol 70% juga menunjukkan bahwa meskipun saponin bukan merupakan senyawa dominan dalam kulit jeruk, namun senyawa ini tetap ada dalam jumlah kecil dan dapat terekstraksi apabila pelarut yang digunakan sesuai. Penemuan ini sejalan dengan beberapa laporan

sebelumnya yang menyebutkan bahwa saponin memang terdapat dalam jaringan tanaman citrus, walau dalam konsentrasi lebih rendah dibanding flavonoid dan minyak atsiri (Saeidnia & Gohari, 2012). Dengan demikian, hasil ini menegaskan pentingnya pemilihan pelarut yang sesuai dalam proses ekstraksi senyawa aktif dari bahan alam, karena sifat kimia pelarut sangat menentukan keberhasilan deteksi dan isolasi metabolit sekunder seperti saponin.

3. Alkaloid

Alkaloid tergolong senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dan memiliki atom nitrogen pada struktur heterosikliknya. Senyawa yang umumnya bersifat polar, terutama dalam bentuk garamnya (ionik), dan memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, atau pelarut asam encer (misalnya HCl 1%). Namun pada penelitian ini, alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak kulit jeruk dengan ketiga jenis pelarut yang digunakan, yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Hasil ini menunjukkan bahwa baik dalam pelarut non-polar, semi-polar, maupun polar berair, senyawa alkaloid tidak berhasil terestraksi atau terdeteksi dalam kondisi ekstraksi yang digunakan.

Tidak terdeteksinya alkaloid pada ekstrak n-heksan dan etil asetat dapat dijelaskan berdasarkan ketidaksesuaian polaritas pelarut dengan karakteristik senyawa. N-heksan bersifat non-polar dan hanya efektif melarutkan senyawa-senyawa lipofilik, sementara etil asetat memiliki polaritas sedang dan lebih cocok untuk senyawa semi-polar. Karena alkaloid umumnya bersifat polar, maka kedua pelarut tersebut tidak cukup efektif untuk mengekstraksinya. Sementara itu, etanol 70% sebenarnya tergolong pelarut polar yang secara teori mampu mengekstraksi alkaloid, terutama jika senyawa tersebut berada dalam bentuk basa bebas yang stabil atau jika terbentuk interaksi dengan pelarut melalui ikatan hidrogen. Namun dalam praktiknya, ekstraksi alkaloid sering kali memerlukan pelarut asam encer agar senyawa berada dalam bentuk garam yang lebih larut dan stabil. Ketidakhadiran pelarut asam dalam proses ekstraksi ini kemungkinan menyebabkan senyawa alkaloid tetap berada dalam bentuk basa bebas yang kurang larut dalam etanol berair, sehingga tidak dapat terdeteksi.

Selain itu, rendahnya atau bahkan ketiadaan kandungan alkaloid dalam kulit jeruk juga dapat menjadi faktor yang relevan. Beberapa literatur melaporkan

bahwa genus Citrus, termasuk kulit jeruk, bukan merupakan sumber utama alkaloid, meskipun dalam beberapa kasus senyawa nitrogen tertentu dapat ditemukan dalam jumlah jejak (trace) (Manthey & Grohmann, 2001). Tidak terdeteksinya alkaloid dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh kombinasi antara rendahnya konsentrasi senyawa, ketidaksesuaian bentuk kimia alkaloid terhadap pelarut, dan kondisi ekstraksi yang kurang optimal untuk golongan senyawa ini. Hasil ini menegaskan pentingnya penyesuaian metode ekstraksi terhadap sifat fisikokimia senyawa target, khususnya untuk senyawa yang cenderung memerlukan kondisi khusus seperti alkaloid.

4. Flavonoid

Flavonoid berhasil terdeteksi pada ketiga jenis ekstrak, yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Hasil ini menunjukkan bahwa kulit jeruk mengandung berbagai jenis flavonoid dengan polaritas yang beragam. Flavonoid sendiri merupakan senyawa polifenol yang memiliki struktur dasar 2-fenil-benzo-γ-piron dan umumnya ditemukan dalam bentuk aglikon maupun glikosida. Flavonoid glikosida bersifat polar, sedangkan bentuk aglikon memiliki sifat semi-polar hingga non-

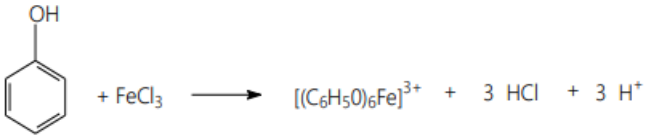
polar, tergantung pada jumlah gugus hidroksil dan substituen lain pada struktur cincin aromatiknya.

Perbedaan polaritas ini menyebabkan perbedaan kelarutan flavonoid dalam berbagai pelarut. Etanol 70% yang bersifat polar cenderung mengekstraksi flavonoid glikosida dengan lebih optimal. Sementara itu, etil asetat yang bersifat semi-polar bekerja untuk mengekstraksi flavonoid aglikon yang tidak terlalu polar. Keberadaan flavonoid juga terdeteksi dalam ekstrak n-heksan, yang merupakan pelarut non-polar. Hal ini mengindikasikan bahwa kulit jeruk juga mengandung flavonoid non-polar, seperti flavon polimetoksi (contohnya nobiletin dan tangeretin), yang memiliki gugus metoksi alih-alih hidroksil, sehingga meningkatkan kelarutannya dalam pelarut non-polar.

Deteksi flavonoid dilakukan melalui uji warna menggunakan reagen spesifik seperti ion logam atau reagen alkali, yang membentuk kompleks berwarna merah tua. Perubahan warna ini mengindikasikan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak. Hasil positif pada ketiga pelarut mendukung adanya variasi struktur dan polaritas flavonoid dalam kulit jeruk, yang memungkinkan senyawa ini larut dalam pelarut dengan rentang polaritas yang luas.

5. Tanin

Pengujian tanin dilakukan dengan cara menambahkan larutan $FeCl_3$ 1%. Tanin merupakan senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil (–OH) dalam strukturnya. Penambahan larutan $FeCl_3$ 1% pada sampel akan menyebabkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman yang mengindikasikan adanya senyawa tanin (Maulana, 2022). Reaksi antara $FeCl_3$ dan senyawa fenolik yang terkandung dalam tanin membentuk kompleks ion Fe^{3+}, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$

Senyawa tanin terdeteksi pada ketiga ekstrak, yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut polar maupun semi-polar. Kemungkinan keberadaan senyawa tanin dalam ekstrak n-heksan dapat disebabkan oleh adanya tanin dengan struktur tertentu yang bersifat hidrofobik, sehingga senyawa tersebut masih dapat larut meskipun dalam pelarut non-

polar seperti n-heksan. Reaksi yang terjadi pada uji tanin umumnya melibatkan pembentukan kompleks berwarna dengan ion logam, seperti $FeCl_3$, yang mengindikasikan keberadaan senyawa dalam ekstrak.

6. Fenolik

Senyawa fenolik terdeteksi pada ketiga ekstrak berdasarkan hasil uji fitokimia. Senyawa ini tergolong polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut polar. Pelarut polar seperti etanol 70% memiliki kemampuan tinggi dalam mengekstraksi senyawa fenolik, sehingga menghasilkan ekstrak dengan kandungan fenolik yang lebih besar.

Senyawa fenolik tergolong senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat berinteraksi dengan pelarut polar melalui ikatan hidrogen. Pelarut polar seperti etanol 70% lebih mudah melarutkan senyawa fenolik karena adanya kesesuaian polaritas antara senyawa dan pelarut. Deteksi senyawa fenolik pada ekstrak n-heksan menunjukkan bahwa beberapa senyawa fenolik memiliki karakteristik struktur yang kurang polar, sehingga memungkinkan untuk larut dalam pelarut non-polar. Beberapa senyawa fenolik kompleks dapat mengandung gugus aromatik atau

rantai alkil yang bersifat hidrofobik, sehingga menurunkan polaritas total senyawa tersebut. Sifat ini memungkinkan senyawa fenolik tersebut terekstraksi, meskipun dalam jumlah kecil, oleh pelarut non-polar seperti n-heksan. Selain itu, kemungkinan terjadinya ko-ekstraksi dengan senyawa non-polar lain juga dapat berkontribusi terhadap keberadaan fenolik dalam ekstrak ekstrak n-heksan.

7. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk memperoleh pola pemisahan yang optimal. Sebelum dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) utama, terlebih dahulu dilakukan percobaan awal untuk menentukan sistem eluen yang paling efektif dalam memisahkan senyawa dari masing-masing ekstrak. Beberapa variasi eluen yang dicoba adalah campuran n-heksan:etil asetat dengan perbandingan (7:3), (6:4), dan (5:5). Beberapa kombinasi pelarut tersebut belum memberikan hasil yang optimal, ditunjukkan dengan bercak yang kurang jelas, hanya menghasilkan satu noda, atau bahkan tidak menampakkan pola bercak yang dapat diamati. Hasil uji KLT dengan variasi eluen yang belum memberikan pemisahan optimal disajikan pada

lampiran sebagai dasar pertimbangan dalam penentuan sistem eluen yang paling sesuai.

Dari serangkaian percobaan penentuan eluen, diperoleh bahwa perbandingan n-heksan:etil asetat (6:4) dengan volume total 1 mL merupakan sistem pelarut yang paling optimal. Kombinasi ini mampu menghasilkan pola bercak yang jelas, terdistribusi dengan baik, serta menunjukkan pemisahan yang lebih tajam dibandingkan rasio pelarut lainnya. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 yang memiliki sifat polar, sedangkan fase gerak merupakan campuran n-heksan (nonpolar) dan etil asetat (polar sedang). Keseimbangan polaritas pada rasio 6:4 ini penting karena senyawa bioaktif dalam ekstrak jeruk, seperti flavonoid, fenolik, dan terpenoid, umumnya memiliki polaritas sedang hingga cukup polar. Jika kandungan etil asetat terlalu sedikit (misalnya pada 7:3), senyawa polar akan tertahan di fase diam sehingga bercak sulit terelusi dan pola noda menjadi kurang jelas. Sebaliknya, bila kandungan etil asetat terlalu tinggi (misalnya pada 5:5), banyak senyawa akan terelusi terlalu cepat sehingga bercak cenderung menumpuk di bagian atas plat (Fahrurroji & Riza, 2020). Oleh karena itu, perbandingan 6:4 memberikan kondisi yang seimbang yaitu senyawa

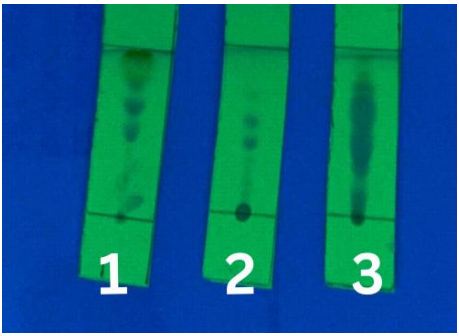
nonpolar dapat terbawa naik oleh n-heksan, sementara senyawa polar sedang tetap mampu bergerak dengan bantuan etil asetat, menghasilkan pemisahan yang lebih representatif dari komposisi ekstrak kulit jeruk. (Jyotirmayee & Sarangi, 2013). Hasil nilai uji Rf dari uji KLT disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji KLT dan Nilai Rf Ekstrak

Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf
ekstrak n-heksana	5	0,10; 0,275; 0,375; 0,425; 0,525
ekstrak etil asetat	4	0,125; 0,225; 0,30; 0,35
ekstrak etanol	7	0,125; 0,20; 0,325; 0,425; 0,475; 0,575; 0,625

Ekstrak n-heksana menghasilkan lima noda dengan nilai Rf berkisar antara 0,10 hingga 0,525. Ekstrak etil asetat menghasilkan empat noda dengan nilai Rf antara 0,225 hingga 0,125. Sementara itu, ekstrak etanol menunjukkan tujuh noda dengan nilai Rf 0,125 hingga 0,625. Setiap pelarut menghasilkan pola pemisahan yang berbeda, baik dari jumlah noda maupun nilai Rf, yang mencerminkan variasi komposisi senyawa pada masing-masing ekstrak serta tingkat polaritasnya.

Secara umum, pada kromatografi lapis tipis (KLT), senyawa dengan sifat yang lebih mirip atau memiliki polaritas yang sebanding dengan fase gerak akan terdorong bergerak lebih jauh ke atas pelat, sesuai dengan prinsip kelarutan *"like dissolves like"* (Fahrurroji & Riza, 2020). Senyawa yang lebih mudah larut dalam fase gerak akan memiliki nilai *Rf* yang lebih tinggi, sedangkan senyawa yang memiliki afinitas lebih besar terhadap fase diam cenderung tertahan di bagian bawah pelat. Gambar hasil KLT disajikan pada **Gambar 4.3**, yang menunjukkan pola pergerakan dan distribusi senyawa dari masing-masing ekstrak pada pelat KLT.



Gambar 4.3 Hasil Uji KLT (1) Ekstrak N-Heksan; (2) Etil Asetat; (3) Etanol saat terkena sinar UV

Hasil analisis KLT pada panjang gelombang UV menunjukkan adanya variasi distribusi bercak noda pada masing-masing ekstrak kulit jeruk Medan. Pada ekstrak n-heksan, jumlah bercak relatif sedikit dengan

posisi dominan di bagian atas plat, menandakan senyawa non-polar dengan mobilitas tinggi terhadap fase gerak. Senyawa non-polar ini memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut n-heksan dan memiliki mobilitas tinggi terhadap fase gerak sehingga mudah terdorong ke atas. Namun, dugaan keberadaan flavonoid terindikasi pada bercak di bagian bawah plat yang lebih polar.

Ekstrak etil asetat memperlihatkan jumlah bercak sedang dengan distribusi pada bagian bawah hingga menengah plat. Pola ini menunjukkan adanya senyawa dengan tingkat polaritas menengah (semi-polar) yang berinteraksi seimbang antara fase diam (silika gel) dan fase gerak (n-heksan:etil asetat). Senyawa yang sesuai dengan karakter ini kemungkinan berupa flavonoid aglikon yang terletak cenderung menengah, mengindikasikan keberadaan flavonoid dengan polaritas menengah.

Sementara itu, ekstrak etanol menghasilkan bercak paling banyak dengan dominasi pada bagian bawah plat, menunjukkan bahwa flavonoid polar merupakan senyawa yang paling dominan. Banyaknya bercak yang bertumpuk pada ekstrak etanol menegaskan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa

utama dalam jumlah besar, sehingga diduga komposisi senyawa pada ekstrak etanol lebih kompleks dibandingkan dengan ekstrak n-heksan maupun etil asetat.

Temuan ini sejalan dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid pada ketiga ekstrak, dengan intensitas reaksi paling kuat pada ekstrak etanol. Dengan demikian, data KLT dan uji fitokimia saling mendukung bahwa etanol merupakan pelarut yang paling optimal untuk mengekstrak metabolit sekunder dari kulit jeruk Medan.Secara keseluruhan, hasil KLT ini konsisten dengan uji fitokimia yang sebelumnya dilakukan, di mana masing-masing ekstrak mengandung kelompok metabolit sekunder sesuai polaritas pelarutnya. Dengan demikian, profil KLT berfungsi sebagai bukti visual adanya senyawa fenolik, flavonoid, tanin, maupun senyawa non-polar lain pada ekstrak kulit jeruk Medan. Temuan pada penelitian ini sejalan dengan (Khasanah et al., 2014), (Zhou et al., 2023) bahwa kulit jeruk menunjukkan reaksi positif terhadap sebagian besar golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji, seperti fenolik, flavonoid, dan tanin meskipun pelarut yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

D. Kadar Fenolik Total pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L "Medan")*

Uji total fenolik yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *folin-ciocalteu.* Hasil yang diperoleh dari metode ini berupa massa ekuivalen asam galat (Sari et al., 2021). Metode *folin-ciocalteu* merupakan metode pengujian total fenolik secara kuantitatif yang paling umum digunakan karena termasuk metode yang sederhana (Nounah et al., 2024). Sebagai langkah awal kuantifikasi, dibuat kurva baku menggunakan larutan standar asam galat pada berbagai konsentrasi, yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Masing-masing larutan standar sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2,5 mL reagen Folin–Ciocalteu, kemudian diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 5% dan campuran diinkubasi kembali selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang. Setelah waktu inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm (Ramadhan et al., 2021). Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk membentuk kurva baku asam galat, dengan sumbu X menunjukkan konsentrasi dan sumbu Y menunjukkan absorbansi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear

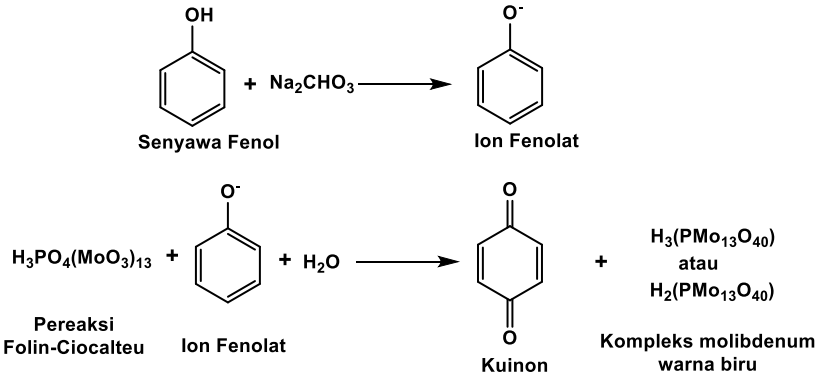
yang digunakan untuk menentukan kadar total fenolik dalam sampel.

Penetapan kadar fenolik total dalam sampel dilakukan dengan prosedur yang sama seperti pada kurva baku, di mana masing-masing ekstrak (n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%) diencerkan hingga konsentrasi yang sesuai, kemudian ditambahkan reagen Folin–Ciocalteu 5% dan Na_2CO_3 5%, diinkubasi, dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm. Hasil pengukuran absorbansi dari sampel kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi kurva baku untuk memperoleh nilai kadar total fenolik yang dinyatakan dalam satuan mg GAE/g ekstrak. Semua pengujian dilakukan sebanyak tiga kali (replikasi) untuk meningkatkan akurasi data.

Pengujian kandungan total fenolik dalam sampel dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan reagen Folin–Ciocalteu, yang bekerja berdasarkan prinsip reaksi oksidasi-reduksi. Senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel akan mengalami oksidasi, sedangkan komponen dalam reagen Folin–Ciocalteu, yaitu asam heteropoli seperti *fosfomolibdat* dan *fosfotungstat*, mengalami reduksi. Hasil dari reaksi ini adalah terbentuknya kompleks berwarna biru akibat reduksi senyawa heteropoli menjadi kompleks molibdenum biru,

yang dapat diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu.

Intensitas warna biru yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel, sehingga semakin tinggi kadar fenolat, semakin pekat warna biru yang terbentuk. Hal ini mencerminkan semakin banyaknya senyawa fenolik yang mampu mereduksi reagen, sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk kuantifikasi kadar fenol total dalam suatu bahan. Untuk mendukung terjadinya reaksi tersebut, ditambahkan larutan Na_2CO_3 5% yang berfungsi menciptakan suasana basa, karena kondisi basa akan mempercepat dan menstabilkan reaksi kompleksasi antara senyawa fenolik dengan reagen Folin–Ciocalteu. Reaksi pembentukan kompleks molibdenum seperti pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Reaksi Pembentukan Kompleks Molibdenum Tungsten (Sumber: Ikram *et al*., 2017)

Asam galat (*gallic acid*) digunakan sebagai larutan pembanding karena merupakan turunan dari senyawa asam hidroksibenzoat dan dikenal memiliki sifat murni, stabil, serta representatif untuk kelompok senyawa fenolik. Hasil kuantifikasi kadar fenolat total dinyatakan dalam satuan GAE (*Gallic Acid Equivalent*), yaitu jumlah setara miligram asam galat dalam satu gram sampel kering. Hasil skrining total fenolik ditunjukkan pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil Kadar Total Fenolik pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol 70%

Sampel	Fenolik (mg GAE/g ekstrak)
ekstrak n-heksana	1,972
ekstrak etil asetat	3,215
ekstrak etanol 70%	5,271

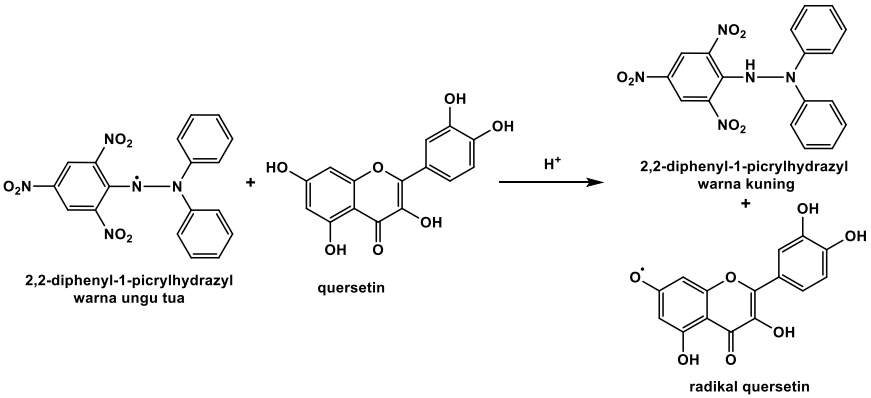
Hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak etanol (Tabel 4.2) memiliki kandungan GAE tertinggi, yaitu 5,271 mg GAE/g ekstrak, diikuti ekstrak etil asetat 3,215 mg GAE/g dan n heksana 1,972 mg GAE/g. Tingginya kandungan fenolat pada ekstrak etanol kemungkinan besar disebabkan oleh sifat etanol yang bersifat polar hingga semi-polar, sehingga sangat efektif dalam melarutkan senyawa fenolik yang juga polar atau semi-polar. Prinsip

"*like dissolves like*" menjelaskan bahwa pelarut cenderung melarutkan senyawa yang memiliki kepolaran serupa, sehingga etanol lebih unggul dibanding etil asetat (semi-polar) dan n-heksana (non-polar) dalam mengekstraksi fenolat.

Penelitian oleh (C. V. Rodrigues & Pintado, 2024) membandingkan pelarut air, etanol 80%, dan etil asetat untuk ekstraksi senyawa fenolik dari kulit jeruk. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan 80% etanol menghasilkan TPC (*total phenolic content)* paling tinggi, yaitu sekitar 7,2 ± 0,1 mg GAE/g kulit jeruk—jauh melampaui hasil dari etil asetat dan air. Hasil ini sejalan dengan temuan dari penelitian sebelumnya pada *Citrus limon*, yang juga menunjukkan pola serupa dengan kandungan fenolik tertinggi pada ekstrak etanol (15,2 mg GAE/g), kemudian etil asetat (13,8 mg GAE/g), dan n-heksan (8,9 mg GAE/g) (Santos et al., 2023). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa perbedaan polaritas pelarut secara signifikan memengaruhi efektivitas ekstraksi senyawa fenolik dalam kulit jeruk, dan etanol 70% terbukti paling efisien dalam menghasilkan ekstrak dengan kandungan fenolik tinggi.

E. Antioksidan DPPH pada Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L "Medan")*

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu metode paling umum dan sederhana yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari suatu senyawa atau ekstrak bahan alam. Prinsip dasar dari metode ini adalah pemanfaatan radikal bebas stabil DPPH, yang memiliki karakteristik unik karena tidak mengalami dimerisasi yaitu penggabungan dua molekul radikal menjadi satu molekul yang lebih besar, seperti radikal bebas lainnya, sehingga kestabilannya tetap tinggi. DPPH memiliki warna ungu tua yang khas akibat adanya delokalisasi elektron dalam struktur molekulnya, yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas DPPH (Nounah et al., 2024). Reaksi pengujian DPPH tercantum pada gambar 4.5



Gambar 4.5 Reaksi Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH (Sumber: Sadeer et *al*., 2020)

Senyawa yang memiliki sifat antioksidan akan bereaksi dengan larutan DPPH melalui mekanisme donasi elektron atau proton. Mekanisme ini menyebabkan terjadinya reduksi radikal DPPH, yang berperan sebagai indikator aktivitas antioksidan karena perubahan warnanya dapat diamati secara visual maupun diukur secara kuantitatif. Proses ini menyebabkan reduksi radikal DPPH menjadi bentuk yang tidak berwarna atau berwarna kuning pucat, seiring dengan terjadinya netralisasi radikal. Kemampuan suatu sampel dalam mereduksi DPPH dapat diamati secara visual dari perubahan warna, serta secara kuantitatif melalui penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 500-600 nm (Nounah et al., 2024).

Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dan disiapkan dari stok 100 ppm. Serial dilusi kuersetin diuji pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm (μg/mL) karena kuersetin merupakan senyawa murni dengan potensi antioksidan tinggi sehingga efek inhibisi DPPH sudah tampak pada kisaran konsentrasi rendah. Sementara itu, uji aktivitas antioksidan pada ekstrak dilakukan pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm, meliputi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% dari kulit jeruk medan. Perbedaan konsentrasi ini disebabkan oleh ekstrak yang merupakan campuran berbagai senyawa bioaktif, termasuk fenolik, flavonoid, terpenoid, dan tanin, sehingga memerlukan konsentrasi lebih tinggi untuk mencapai efek antioksidan yang sebanding dengan kuersetin murni. Masing-masing konsentrasi sampel dicampur dengan larutan DPPH 0,1 mM dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Seluruh pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan guna meningkatkan ketelitian dan keandalan data. Persentase peredaman (% inhibisi) dihitung menggunakan rumus berikut:

%inhibisi = $[(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$

dengan A_0 merupakan absorbansi kontrol (kuersetin + DPPH) dan A_s adalah absorbansi sampel + DPPH. Berdasarkan hasil perhitungan % inhibisi pada berbagai konsentrasi, selanjutnya dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi untuk setiap ekstrak. Nilai IC_{50} diperoleh melalui persamaan regresi linier sebagai konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas radikal DPPH.

Tabel 4.4 Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan

Sampel	IC_{50} (µg/mL)	Kategori Antioksidan
ekstrak n-heksana	71,74	Kuat
ekstrak etil asetat	69,13	Kuat
ekstrak etanol	62,84	Kuat

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang ditampilkan pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*) terbaik, yaitu sebesar 62,84 µg/mL. Nilai ini diikuti oleh ekstrak etil asetat dengan IC_{50} sebesar 69,13 µg/mL, serta ekstrak n-heksan sebesar 71,74 µg/mL. Nilai IC_{50} merupakan parameter penting yang menunjukkan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk

mereduksi 50% radikal bebas DPPH. Semakin rendah nilai IC_{50}, maka semakin tinggi kemampuan antioksidan suatu senyawa karena dibutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk mencapai efek inhibisi 50%.

Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan dua pelarut lainnya. Hal ini diduga karena senyawa aktif yang bersifat polar maupun semi-polar dengan aktivitas antioksidan tinggi lebih mudah diekstraksi menggunakan etanol. Senyawa-senyawa tersebut, seperti flavonoid, fenolat, dan asam organik, berperan sebagai donor elektron atau proton yang efektif dalam menetralisir radikal DPPH. Sementara itu, meskipun ekstrak etil asetat dan n-heksan juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, nilai IC_{50} yang sedikit lebih besar menunjukkan bahwa efektivitasnya dalam mereduksi radikal bebas sedikit lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol.

Quersetin sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,94 μg/mL. Senyawa ini merupakan flavonoid murni dengan struktur fenolik kompleks yang sangat efektif sebagai donor elektron, sehingga mampu menetralkan radikal bebas pada konsentrasi yang sangat rendah. Berdasarkan perbandingan tersebut, aktivitas antioksidan

dari ketiga ekstrak yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan terlihat sekitar 16 hingga 18 kali lebih rendah dibandingkan quersetin. Perbedaan ini merupakan hal yang wajar, mengingat ekstrak merupakan campuran dari berbagai senyawa bioaktif dengan aktivitas yang bervariasi, sementara quersetin adalah senyawa tunggal dengan efektivitas tinggi dan spesifik dalam menangkap radikal bebas.

Perbedaan efektivitas ini dapat dikaitkan dengan variasi komposisi senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Aktivitas antioksidan suatu ekstrak tidak hanya ditentukan oleh nilai kadar total fenolik, tetapi juga oleh keberadaan senyawa bioaktif lain seperti vitamin C, karotenoid, dan terpenoid yang turut berperan dalam mereduksi radikal bebas. Selain itu, struktur kimia masing-masing senyawa fenolik sangat mempengaruhi efektivitasnya, terutama jumlah serta posisi gugus hidroksil yang menentukan kemampuan senyawa tersebut dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron. Faktor-faktor ini dapat menyebabkan ekstrak dengan kandungan total fenolik yang relatif tinggi menghasilkan nilai IC_{50} yang berbeda, sesuai dengan jenis, konsentrasi, dan aktivitas spesifik senyawa yang dominan di dalamnya.

Penelitian oleh (Hassanpour & Doroudi, 2023) mengatakan bahwa aktivitas antioksidan DPPH cenderung menunjukkan hasil yang lebih baik terhadap pelarut organik polar seperti etanol dibandingkan dengan pelarut semi-polar atau non-polar seperti etil asetat dan n-heksana. Nilai aktivitas antioksidan yang tinggi, seperti inhibisi DPPH sebesar 72,5%, tidak selalu berbanding lurus secara langsung dengan kandungan total fenolik. Hal ini karena senyawa antioksidan dalam ekstrak tidak terbatas pada golongan fenolik saja. Senyawa lain seperti vitamin C, karotenoid, dan terpenoid juga dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas penangkap radikal bebas. Selain itu, efektivitas suatu senyawa fenolik sebagai antioksidan sangat dipengaruhi oleh struktur kimianya, terutama jumlah dan posisi gugus hidroksil yang mampu mendonorkan elektron. Oleh karena itu, meskipun kandungan total fenolik berkisar antara 1000–5000 μg GAE/mL, nilai % inhibisi tetap dapat mencapai angka tinggi seperti 72,5% karena adanya sinergi antar senyawa bioaktif maupun potensi aktivitas spesifik dari senyawa yang terkandung di dalam ekstrak.

F. Hubungan Antara Fitokimia dengan Kadar Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kulit jeruk Medan menunjukkan adanya berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid, yang terdeteksi pada ketiga jenis pelarut dengan variasi sesuai dengan polaritas masing-masing senyawa. Senyawa fenolik mendapat perhatian khusus karena memiliki gugus hidroksil (–OH) pada cincin aromatik terkonjugasi yang mudah melepaskan proton (H^+) dan menstabilkan radikal bebas melalui delokalisasi elektron. Mekanisme ini menjadi inti dari pengujian DPPH, sehingga kandungan fenolik sering dijadikan indikator yang representatif untuk menilai kapasitas antioksidan ekstra (Dias et al., 2021).

Deteksi senyawa fenolik melalui uji fitokimia pada ekstrak kulit jeruk Medan menunjukkan keterkaitan erat dengan hasil kadar total fenolik (TPC) dan aktivitas antioksidan. Ekstrak etanol 70% memiliki TPC tertinggi sebesar 5,271 mg GAE/g, diikuti etil asetat (3,215 mg GAE/g) dan n-heksan (1,972 mg GAE/g). Perbedaan ini sejalan dengan sifat pelarut, di mana etanol 70% yang bersifat polar mampu mengekstraksi fenolik dan turunannya secara lebih optimal melalui kesesuaian polaritas dan pembentukan ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil.

Hubungan yang sama terlihat pada uji DPPH, di mana ekstrak etanol 70% menunjukkan nilai IC_{50} tertinggi (62,84 µg/mL, kategori kuat), diikuti etil asetat (69,13 µg/mL) dan n-heksan (71,74 µg/mL). Tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol sejalan dengan kadar fenolik yang tinggi, sedangkan pada ekstrak n-heksan aktivitasnya cenderung lebih rendah, yang kemungkinan terkait dengan minimnya kandungan fenolik dan dominasi senyawa non-polar yang secara umum kurang berperan dalam mekanisme penangkapan radikal bebas pada uji DPPH. Temuan ini sejalan dengan (Oboh & Ademosun, 2012) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol pada kulit jeruk memiliki total fenolik (54,9 mg GAE/g) dan menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang sangat kuat (IC_{50} 23,5%). Hal serupa juga diamati oleh (Sir Elkhatim et al., 2018) bahwa kulit jeruk bali memiliki total fenolik tinggi (77,3 mg GAE/g) dan berhubungan dengan aktivitas antioksidan yang lebih besar (IC_{50} 35,72%) dibandingkan bagian dalam buahnya. Konsistensi hasil ini memperkuat posisi kandungan fenolik sebagai indikator utama dalam menentukan potensi antioksidan pada kulit jeruk. Secara keseluruhan, ekstrak dengan kandungan fenolik lebih tinggi menunjukkan kapasitas antioksidan yang lebih kuat,

menegaskan peran dominan fenolik sebagai kontributor utama aktivitas antioksidan pada kulit jeruk Medan.

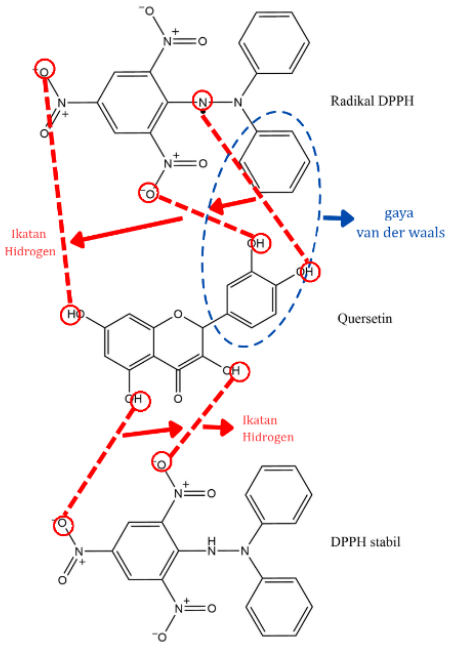
G. Interaksi Molekuler Kuersetin dan Senyawa Aktif Ekstrak Kulit Jeruk Medan (*Citrus sinensis L.* "Medan") terhadap Radikal DPPH

Dalam penelitian ini, kuersetin digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) karena merupakan flavonoid golongan flavonol yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Pemilihan kuersetin sebagai standar dianggap relevan karena kulit jeruk medan juga mengandung senyawa flavonoid lain seperti naringin, serta senyawa fenolik seperti *Caffeic acid* (Seminara et al., 2023). Kajian ini bertujuan untuk memberikan gambaran interaksi molekuler apa saja yang terjadi antara molekul senyawa metabolit sekunder dengan molekul DPPH ketika dilakukan pengujian aktivitas antioksidan.

1. Interaksi molekuler kuersetin dengan DPPH

   Kuersetin dengan keberadaan gugus hidroksilnya berperan dalam menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal DPPH serta berpotensi membentuk ikatan hidrogen dengan atom elektronegatif pada DPPH (Song et al., 2020). Selain itu, terjadi pula interaksi non-kovalen berupa gaya van der Waals (π–π stacking) antara cincin aromatik kuersetin dengan cincin aromatik DPPH, yang

turut memfasilitasi transfer hidrogen maupun elektron sehingga mekanisme penangkapan radikal bebas berlangsung lebih efisien. Usulan interaksi molekuler antara kuersetin dengan radikal DPPH tercantum pada gambar 4.6



Gambar 4.6 Usulan interaksi kuersetin dengan radikal DPPH

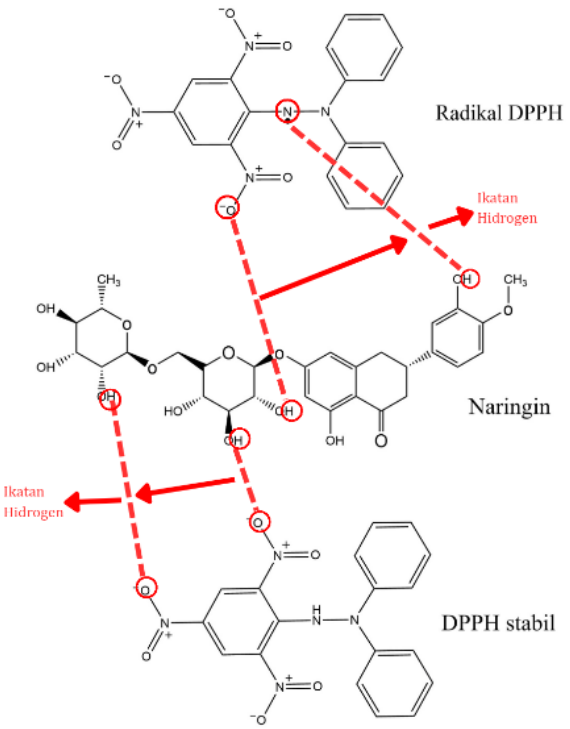
Temuan ini konsisten dengan teori senyawa fenolik, yang menyebutkan bahwa keberadaan gugus hidroksil aromatik sangat menentukan aktivitas antioksidan karena kemampuannya mendonorkan atom

hidrogen sekaligus menstabilkan radikal fenoksil melalui mekanisme resonansi (Zhang et al., 2022). Oleh karena itu, kuersetin, dengan banyaknya gugus hidroksil yang dimilikinya, memperlihatkan potensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak uji, sehingga wajar digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

2. Interaksi molekuler Flavonoid (naringin) dengan DPPH

Naringin merupakan salah satu flavonoid utama yang banyak ditemukan pada buah jeruk dan dikenal memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas ini terutama berlangsung melalui mekanisme donasi atom hidrogen pada radikal DPPH. Interaksi antara naringin dan radikal DPPH terjadi terutama melalui pembentukan ikatan hidrogen, yang berperan penting dalam proses penetralan radikal tersebut. Gugus hidroksil pada naringin berperan penting sebagai donor atom hidrogen, yang kemudian berikatan dengan atom elektronegatif dari DPPH seperti nitrogen dan oksigen. Ikatan hidrogen ini tidak hanya memperkuat interaksi antar molekul, tetapi juga memfasilitasi proses transfer hidrogen sehingga elektron tidak berpasangan pada radikal DPPH dapat ternetralisasi. Setelah menerima atom hidrogen dari naringin, radikal DPPH yang awalnya bersifat reaktif berubah menjadi bentuk yang lebih stabil. Usulan

interaksi molekuler antara senyawa flavonoid (naringin) dan radikal DPPH tercantum pada gambar 4.7



Gambar 4.7 Usulan interaksi molekuler antara Naringin dan radikal DPPH

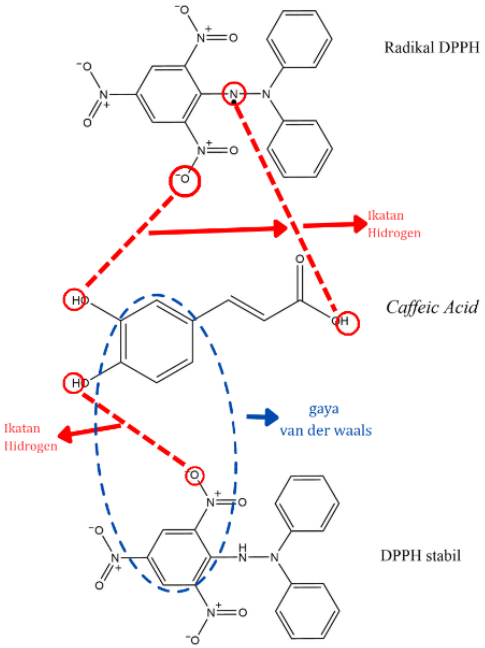
Selain itu, mekanisme ini menggambarkan bahwa naringin dapat berperan ganda, baik sebagai pendonor hidrogen melalui gugus hidroksil maupun sebagai penstabil radikal melalui ikatan hidrogen yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan teori bahwa gugus

hidroksil fenolik memiliki peranan utama dalam aktivitas antioksidan karena kemampuannya untuk mendonorkan atom hidrogen dan menstabilkan radikal bebas melalui mekanisme resonansi. Dengan demikian, interaksi naringin dengan DPPH menunjukkan bahwa semakin banyak gugus hidroksil yang tersedia, semakin besar pula potensinya dalam menetralkan radikal bebas secara efektif.

3. Interaksi molekuler Fenolik (*Caffeic Acid)* dengan DPPH

Menurut studi docking, *caffeic acid* dengan keberadaan gugus hidroksilnya berperan dalam menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal DPPH, sehingga elektron tidak berpasangan pada DPPH dapat ternetralisasi dan berubah menjadi bentuk yang lebih stabil (Sabry et al., 2024). Selain berperan sebagai donor atom hidrogen, gugus hidroksil pada *caffeic acid* juga berpotensi membentuk ikatan hidrogen dengan atom nitrogen maupun oksigen yang terdapat pada radikal DPPH. Ikatan hidrogen ini berfungsi memperkuat interaksi non-kovalen antara kedua molekul, sehingga jarak keduanya menjadi lebih dekat dan orientasi molekul lebih terarah. Kondisi tersebut memfasilitasi proses transfer hidrogen secara lebih efektif, yang pada akhirnya meningkatkan kemampuan *caffeic acid* dalam menetralkan radikal bebas. Interaksi non-kovalen

berupa gaya van der waals (*π–π stacking*) antara cincin aromatik *caffeic acid* dengan cincin aromatik DPPH, yang turut memfasilitasi proses transfer hidrogen maupun elektron sehingga mekanisme penangkapan radikal bebas berlangsung lebih efisien (Losada-Barreiro et al., 2022). Interaksi ini termasuk dalam kategori gaya van der Waals, namun lebih spesifik karena melibatkan tumpang tindih orbital π antar cincin aromatik. Keberadaan *π–π stacking* berperan dalam menstabilkan kompleks sementara dan mempermudah terjadinya transfer hidrogen maupun elektron. Kombinasi ikatan hidrogen dan gaya van der Waals ini memfasilitasi proses transfer hidrogen maupun elektron sehingga mekanisme penangkapan radikal berlangsung lebih efisien. Usulan interaksi molekuler antara *caffeic acid* dengan radikal DPPH tercantum pada gambar 4.8



Gambar 4.8 Usulan interaksi molekuler antara *Caffeic acid* dengan radikal DPPH

Hal ini sesuai dengan teori senyawa fenolik yang menyatakan bahwa gugus hidroksil aromatik berperan penting dalam aktivitas antioksidan karena kemampuannya mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Sanches et al., 2022). Stabilisasi radikal fenoksil yang terbentuk setelah donasi hidrogen dari caffeic acid terjadi melalui delokalisasi elektron π pada cincin aromatik, sehingga radikal menjadi lebih stabil. Dengan demikian, keberadaan gugus hidroksil serta

interaksi non-kovalen, seperti ikatan hidrogen dan gaya van der Waals, menjadi faktor utama yang meningkatkan efektivitas caffeic acid dalam menetralkan radikal DPPH.

BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai kadar fenolik total serta aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk medan (Citrus sinensis L. "Medan") dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit jeruk medan dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan senyawa fenolik. Saponin terdeteksi pada ekstrak n-heksan namun tidak terdeteksi pada etil asetat dan etanol, yang menunjukkan bahwa kulit jeruk medan mengandung senyawa bioaktif dengan polaritas beragam.
2. Kadar fenolik total tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol 70% sebesar 5.271 mg GAE/g ekstrak, diikuti oleh ekstrak etil asetat (3.215 mg GAE/g) dan ekstrak n-heksan (1.972 mg GAE/g). Hal ini menunjukkan bahwa pelarut polar lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa fenolik dari kulit jeruk medan.
3. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 70% dengan nilai IC_{50} sebesar 62.84 ppm, diikuti

oleh ekstrak etil asetat 69,13 dan n-heksan 71,74 ppm. Sedangkan quersetin sebagai kontrol positif menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 3,94 ppm. Hal tersebut menunjukkan meskipun ekstrak memiliki potensi antioksidan yang kuat, tetapi efektivitasnya masih di bawah kontrol positif yang digunakan.

B. Saran

1. Perlu dilakukan optimasi kondisi ekstraksi, seperti variasi suhu, waktu maserasi, dan rasio pelarut terhadap simplisia, agar rendemen dan kadar senyawa bioaktif yang diperoleh menjadi lebih maksimal.
2. Penelitian lanjutan dapat mengkaji interaksi senyawa aktif dalam ekstrak terhadap sistem biologis, misalnya melalui uji antioksidan in vivo atau uji sitotoksisitas seluler, sebagai langkah awal pengembangan ke arah aplikasi klinis atau industri.

DAFTAR PUSTAKA

Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *12*(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19

Adiyasa, M. R., & Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia: distribusi dan faktor demografis yang berpengaruh. *Jurnal Biomedika Dan Kesehatan*, *4*(3), 130–138. https://doi.org/10.18051/jbiomedkes.2021.v4.130-138

Al-Hmoud, H. A., Ibrahim, N. E., & El-Hallous, E. I. (2014a). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology Surfactants solubility, concentration and the other formulations effects on the drug release rate from a controlled-release matrix*. *8*(13), 364–371. https://doi.org/10.5897/AJPP2013

Al-Hmoud, H. A., Ibrahim, N. E., & El-Hallous, E. I. (2014b). Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *8*(13), 364–371. https://doi.org/10.5897/AJPP2013

Anggraeni Putri, P., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, *8(2)*(2), 251–258.

Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A.,

Lisdiana, Nugrahaningsih, Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). Buku Metabolit Sekunder. In *Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNNES*. https://lib.unnes.ac.id/53196/1/BOOK CHAPTER CETAKAN PERTAMA - SETYARINI SETYARINI.pdf

Armayanti, Alpriani, & Monalisa, F. (2023). Skrining Fitokimia Tanaman Yang Berpotensi Sebagai Obat Luka Luar Di Kabupaten Luwu. *Cokroaminoto Journal of Chemical Science*, *5*(2), 51–54.

Baturante, N., Khadijah, K., & Tahar, M. (2024). Penentuan Total Flavonoid dan Total Fenolik Ekstrak Metanol Daun Gofasa (Vitex cofassus) dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis. *SAINTIFIK@: Jurnal Pendidikan MIPA*, *8*(2), 24–25. https://doi.org/10.33387/saintifik.v8i2.7333

Deasy Rosita Dewi, A. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Manis (Citrus sinensis) dan Aplikasinya sebagai Pengawet Pangan. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, *30*(1), 83–90. https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.83

Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, *26*(17), 1–16. https://doi.org/10.3390/molecules26175377

Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology*, *184*(1), 39–52.

https://doi.org/10.1104/PP.20.00433

Etebu, E., & Nwauzoma, A. B. (2014). A review on sweet orange (Citrus Sinensis L Osbeck): health, diseases and management. *American Journal of Research Communication*, *2*(2), 33–70. www.usa-journals.com

Fahrurroji, A., & Riza, H. (2020). Karakterisasi Ekstrak Etanol Buah Citrus amblycarpa (L), Citrus aurantifolia (S.), dan Citrus sinensis (O.). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *7*(2), 5–7. https://doi.org/10.20473/jfiki.v7i22020.100-113

Ghalem, B., & Mohammed, B. (2021). Phenolic compounds: structures and activities. *Journal of Medical Cornvus*, *2*(5), 6–24. www.gulfpublishers.com

Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, *13*(4), 354–376. https://doi.org/10.22038/AJP.2023.21774

Hindun, S., Rusdiana, T., Abdasah, M., & Hindritiani, R. (2017). Potensi Limbah Kulit Jeruk Nipis (Citrus auronfolia) Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, *4*(2), 3–5. https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.12642

Ikrima, K., Amalia, R., Mutakin, & Levita, J. (2019). Peran spesies oksigen reaktif pada inflamasi serta antioksidan alami sebagai fitoterapi. *Farmaka*, *17*(3), 198–211.

J.Rohmah. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N- Heksana Batang Turi Putih (Sesbania grandiflora (L.) Pers.) dengan Metode DPPH. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, *5*(1), 12–26.

Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, & Kim, K. M. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. *Agronomy*, *11*(5), 1–31. https://doi.org/10.3390/agronomy11050968

Javeed, A., Sarfraz, M., Khalid, N., & Han, B. (2024). Alkaloids as natural anti-allergy agents : A mini review. *Allergy Medicine*, *2*, 2–4. https://doi.org/10.1016/j.allmed.2024.100014

Jyotirmayee, K., & Sarangi, M. (2013). Thin layer chromatography: A tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, *18*(1), 126–132.

Kementerian Kesehatan RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Herbal. *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 307–310.

Khasanah, I., Ulfah, M., & Sumantri, S. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil). *E-Publikasi Fakultas Farmasi*, *11*(2), 9–17.

Li, D., Sun-Waterhouse, D., Wang, Y., Qiao, X., Chen, Y., & Li, F. (2018). Interactions of some common flavonoid antioxidants. In *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier.

https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21509-6

Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*, *10*(12). https://doi.org/10.3390/biomedicines10123051

Lubinska-Szczygeł, M., Różańska, A., Dymerski, T., Namieśnik, J., Katrich, E., & Gorinstein, S. (2018). A novel analytical approach in the assessment of unprocessed Kaffir lime peel and pulp as potential raw materials for cosmetic applications. *Industrial Crops and Products*, *120*(April), 313–321. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.036

Makanjuola, S. A. (2017). Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea–ginger blend. *Food Science and Nutrition*, *5*(6), 1179–1185. https://doi.org/10.1002/fsn3.509

Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. Bin, Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, *13*(October 2021), 2–3. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217

Maulida, F. E. N., Alimuddin, A., & Erwin, E. (2023). Extraction and Characterization Of Pectin From

Lemon Lime Peel Waste (Citrus amblycarpa). *Jurnal Kimia Mulawarman*, *20*(2), 6–10. https://doi.org/10.30872/jkm.v20i2.527

Michael-Igolima, U., Abbey, S. J., Ifelebuegu, A. O., & Eyo, E. U. (2023). Modified Orange Peel Waste as a Sustainable Material for Adsorption of Contaminants. *Materials*, *16*(3), 2–4. https://doi.org/10.3390/ma16031092

Ninkuu, V., Zhang, L., Yan, J., Fu, Z., Yang, T., & Zeng, H. (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 2–9. https://doi.org/10.3390/ijms22115710

Nounah, I., El Harkaoui, S., Hajib, A., Gharby, S., Harhar, H., Bouyahya, A., Caprioli, G., Maggi, F., Matthäus, B., & Charrouf, Z. (2024). Effect of seed's geographical origin on cactus oil physico-chemical characteristics, oxidative stability, and antioxidant activity. *Food Chemistry: X*, *22*(April), 1–9. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101445

Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (Plumeria rubra L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, *8*(2), 85–93. https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325

Oboh, G., & Ademosun, A. O. (2012). Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(6), 729–736. https://doi.org/10.1007/s13197-010-0222-y

Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Selaginella doederleinii. *Jurnal Kimia Riset*, *6*(2), 7–10. https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30904

Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, *9*(3), 293–304.

Perveen, S. (2018). Provisional chapter Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. *IntechOpen*, *1*(1), 2–5. https://www.researchgate.net/publication/329785873_Introductory_Chapter_Terpenes_and_Terpenoids

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, *2*(2), 219–236.

Rahmawati, S. (2017). *Pengaruh Penggunaan Ekstrak Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) terhadap Pengurangan Hiperpigmentasi Ringan pada Kulit Wajah*.

Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (Mangifera casturi Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *8*(1), 58. https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67

Rissa Laila Vifta, Muhammad Alviyan Shutiawan, Alif Maulidya, & Richa Yuswantina. (2021). Skrining Flavonoid Ekstrak Buah Parijoto (Medinilla speciosa Blume) Asal Kabupaten Kudus dan

Semarang dengan Pembanding Kuersetin dan Rutin. *Media Informasi Penelitian Kabupaten Semarang*, *4*(1), 3–13. https://doi.org/10.55606/sinov.v4i1.57

Rodrigues, P. de A., Maia de Morais, S., Fernandes Pereira, J., Costa de Assis, A. L., Aragão Alves, A., Benjamin, S. R., Pinto Vieira, Í. G., Machado, N. J., Santos do Carmo, M. R., & Andrade, G. M. de. (2021). Neuroprotective effects of proanthocyanidins of grape seed extracts against oxidative stress and apoptosis induced by 6-hydroxydopamine in PC12 cells. *Conjecturas*, *21*(2), 68–86. https://doi.org/10.53660/conj-077-109-2

Rodrigues, C. V., & Pintado, M. (2024). Hesperidin from Orange Peel as a Promising Skincare Bioactive: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(3), 4–6. https://doi.org/10.3390/ijms25031890

Rosalinda, S., & Sumirat, R. (2024). Analisis Minyak Terpentin Hasil Penyulingan di Pabrik Gondorukem dan Terpentin Sindangwangi. *Metana*, *20*(1), 49–56. https://doi.org/10.14710/metana.v20i1.61287

Sabry, B. A., Badr, A. N., Mohammed, D. M., Desoukey, M. A., & Farouk, A. (2024). Validating the protective role of orange and tangerine peel extracts foramending food safety against microorganisms' contamination using molecular docking. *Heliyon*, *10*(6), e27737. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27737

Saeidnia, S., & Gohari, A. R. (2012). Trypanocidal

monoterpenes: Lead compounds to design future trypanocidal drugs. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 37). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00006-7

Sanches, V. L., Cunha, T. A., Viganó, J., de Souza Mesquita, L. M., Faccioli, L. H., Breitkreitz, M. C., & Rostagno, M. A. (2022). Comprehensive analysis of phenolics compounds in citrus fruits peels by UPLC-PDA and UPLC-Q/TOF MS using a fused-core column. *Food Chemistry: X*, *14*(2), 3–8. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100262

Sari, N. M., Kusuma, I. W., & Fitriah, N. I. (2021). Aktivitas Antioksidan, Kandungan Total Fenolik dan Kandungan Total Flavonoid Pada Beberapa Tumbuhan Berkhasiat Obat Di Kalimantan Timur, Indonesia. *ULIN: Jurnal Hutan Tropis*, *5*(2), 4–5. https://doi.org/10.32522/ujht.v5i2.6224

Seminara, S., Bennici, S., Di Guardo, M., Caruso, M., Gentile, A., La Malfa, S., & Distefano, G. (2023). Sweet Orange: Evolution, Characterization, Varieties, and Breeding Perspectives. *Agriculture (Switzerland)*, *13*(2), 3–7. https://doi.org/10.3390/agriculture13020264

Serafini, M. (2006). The role of antioxidants in disease prevention. *Medicine*, *34*(12), 533–535. https://doi.org/10.1053/j.mpmed.2006.09.007

Sharma, K., Kaur, R., Kumar, S., Saini, R. K., Sharma, S., Pawde, S. V., & Kumar, V. (2023). Saponins: A concise review on food related aspects, applications and health implications. *Food Chemistry Advances*, *2*(January), 2–6.

https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100191
Shihab Quraish, M. (2021). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. *8*(1), 15–17.
Shukla, R., Dubey, A., Pandey, V., Golhani, D., & Jain, A. P. (2017). Review Artikel: Chromophore-An Utility in UV Spectrophotometer. *Iventi Journal*, *2012*(July), 1–4. www.inventi.in
Silalahi, K. P., Swasti, Y. R., & Pranata, F. S. (2022). Aktivitas Antioksidan dari Produk Samping Olahan Jeruk. *Amerta Nutrition*, *6*(1), 1–10. https://doi.org/10.20473/amnt.v6i1.2022.100-111
Sir Elkhatim, K. A., Elagib, R. A. A., & Hassan, A. B. (2018). Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits. *Food Science and Nutrition*, *6*(5), 1214–1219. https://doi.org/10.1002/fsn3.660
Song, X., Wang, Y., & Gao, L. (2020). Mechanism of antioxidant properties of quercetin and quercetin-DNA complex. *Journal of Molecular Modeling*, *26*(6), 133. https://doi.org/10.1007/s00894-020-04356-x
Tunjung, W. A. S., Cinatl, J., Michaelis, M., & Smales, C. M. (2015). Anti-Cancer Effect of Kaffir Lime (Citrus Hystrix DC) Leaf Extract in Cervical Cancer and Neuroblastoma Cell Lines. *Procedia Chemistry*, *14*, 465–468. https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.062
Tvrdá, E., & Benko, F. (2020). Free radicals: what they are and what they do. *Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 3–13.

https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00001-9

Ugwu, D. I., & Conradie, J. (2023). Anticancer properties of complexes derived from bidentate ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *246*(May), 4–6. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112268

Umboro, R. O., Bimmaharyanto, D. E., & Yanti, N. K. W. (2020). Uji Efektivitas Antioksidan (IC50) dan Toksisitas Akut (LD50) Fraksi Etanol Daun Nangka (Artocarpus Heterophyllus Lam.). *JUPE : Jurnal Pendidikan Mandala*, *5*(6), 7–8. https://doi.org/10.58258/jupe.v5i6.2349

Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5

Wana, N., & Pagarra, H. (2019). Efektivitas Ekstrak Pektin dari Kulit Buah Jeruk Bali (Citrus maxima) Sebagai Antimikroba. *Bionature*, *19*(2), 140–151. https://doi.org/10.35580/bionature.v19i2.9732

Yang, X., Miao, X., Dai, L., Guo, X., Jenis, J., Zhang, J., & Shang, X. (2024). Isolation, biological activity, and synthesis of isoquinoline alkaloids. *Natural Product Reports*, *41*(October), 5–10. https://doi.org/10.1039/d4np00023d

Youssef, K., Sanzani, S. M., Ligorio, A., Ippolito, A., & Terry, L. A. (2014). Sodium carbonate and bicarbonate treatments induce resistance to

postharvest green mould on citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *87*(August), 61–69. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.006

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, *17*(1). https://doi.org/10.1177/1934578X211069721

Zhou, W., Li, J., Wang, X., Liu, L., Li, Y., Song, R., Zhang, M., & Li, X. (2023). Research Progress on Extraction, Separation, and Purification Methods of Plant Essential Oils. *Separations*, *10*(12), 1–17. https://doi.org/10.3390/separations10120596

Zouaoui BOUHADI Djilali, B., Ahmed, H., Mokhtar, B., Author, C., & Zouaoui, B. (2020). *Effects of Pasteurization and Storage on Physicochemical and Bioactive Properties of Orange Juice*. *July*, 3. www.mitt-klosterneuburg.com

Zugazua-Ganado, M., Bordagaray, A., Ezenarro, J., Garcia-Arrona, R., Ostra, M., & Vidal, M. (2024). Adaptation of the Folin-Ciocalteu and Fast Blue BB spectrophotometric methods to digital image analysis for the determination of total phenolic content: Reduction of reaction time, interferences and sample analysis. *Lwt*, *193*(July), 4–6. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115756

LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Rendemen

1. Rendemen ekstrak n-heksan kulit jeruk medan

   Rendemen = $\frac{bobot\ ekstrak\ (g)}{bobot\ simplisia\ yang\ di\ ekstrak\ (g)}\ x\ 100\%$

   = $\frac{9{,}26\ g}{250\ g}\ x\ 100\%$

   = 3,704%

2. Rendemen ekstrak etil asetat

   Rendemen = $\frac{bobot\ ekstrak\ (g)}{bobot\ simplisia\ yang\ di\ ekstrak\ (g)}\ x\ 100\%$

   = $\frac{12{,}80\ g}{250\ g}\ x\ 100\%$

   = 5,12%

3. Rendemen ekstrak etanol

   Rendemen = $\frac{bobot\ ekstrak\ (g)}{bobot\ simplisia\ yang\ di\ ekstrak\ (g)}\ x\ 100\%$

   = $\frac{21{,}93\ g}{250\ g}\ x\ 100\%$

   = 8,772%

Lampiran 2 Perhitungan Nilai Rf Kromatografi Lapis Tipis

Contoh perhitungan nilai Rf KLT
Diketahui: Jarak tempuh eluen: 7,5 cm

Sampel	Jumlah Noda	Jarak tempuh noda
ekstrak n-heksana	4	0,4; 1,1; 1,5; 1,7; 2,1
ekstrak etil asetat	6	0,5; 0,9; 1,2; 1,4
ekstrak etanol	8	0,5; 0,8; 1,8; 1,7; 1,9; 2,3; 2,5

1. Ekstrak N-Heksan

   Rf= $\frac{Jarak\ tempuh\ noda}{Jarak\ tempuh\ eluen}$

   Rf= $\frac{0,4}{4,0}$

   Rf= 0,10

2. Ekstrak Etil Asetat

   Rf= $\frac{Jarak\ tempuh\ noda}{Jarak\ tempuh\ eluen}$

   Rf= $\frac{0,5}{4,0}$

   Rf= 0,125

3. Ekstrak Etanol

   Rf= $\frac{Jarak\ tempuh\ noda}{Jarak\ tempuh\ eluen}$

   Rf= $\frac{0,5}{4,0}$

   Rf= 0,125

Lampiran 3 Perhitungan Kadar Total Fenolik

1. Perhitungan Konsentrasi
   a. Konsentrasi larutan induk asam galat
      10 mg asam galat dilarutkan dalam metanol hingga volume 10 ml dan dicapai konsentrasi 1000 ppm.
      1000 ppm = 10 mg/L
      = 10 mg / 1000 mL
      = 1 mg / 10 ml

      a. Deret larutan asam galat

      1. $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$
         $0{,}1 \times 1000 = 10 \times C_2$
         $C_2 = \frac{0{,}1 \times 1000}{10}$
         $C_2 = 10$ ppm

      2. $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$
         $0{,}2 \times 1000 = 10 \times C_2$
         $C_2 = \frac{0{,}2 \times 1000}{10}$
         $C_2 = 20$ ppm

      3. $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$
         $0{,}3 \times 1000 = 10 \times C_2$
         $C_2 = \frac{0{,}3 \times 1000}{10}$
         $C_2 = 30$ ppm

      4. $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$
         $0{,}4 \times 1000 = 10 \times C_2$
         $C_2 = \frac{0{,}4 \times 1000}{10}$
         $C_2 = 40$ ppm

5. $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$
   $0,5 \times 1000 = 10 \times C_2$
   $C_2 = \frac{0,5 \times 1000}{10}$
   $C_2 = 50$ ppm

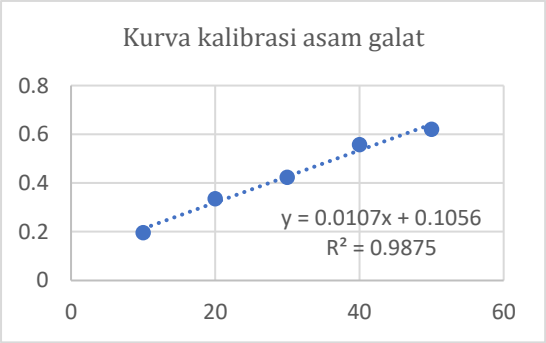
Nilai Absorbansi Kurva Standar Asam Galat

Blanko	**Konsentrasi asam galat (ppm)**				
	10	20	30	40	50
0	0.196	0.336	0.423	0.559	0.622
0	0.197	0.334	0.423	0.558	0.622
0	0.198	0.336	0.422	0.556	0.620

Hasil rata-rata absorbansi asam galat

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi ± SD
10	0.197± 0.001
20	0.335± 0.00115
30	0.423±0.00058
40	0.558±0.00153
50	0.621±0.00115

Kurva Kalibrasi Asam Galat



Tabel absorbansi sampel total fenolik

Sampel	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi ± SD
	1x	2x	3x	
N-heksan	0.127	0.126	0.126	0.126 ± 0.0006
Etil asetat	0.141	0.140	0.139	0.140 ± 0.001
Etanol	0.164	0.162	0.160	0.162 ± 0.002

1. Kadar fenol total n-heksan
   Kadar ekivalen asam galat terhadap fenolik:
   y = 0.0107 x + 0.1056
   0,1267 = 0.0107 x + 0.1056
   $x = \frac{0,1267-0,1056}{0,0107}$
   x = 1.972 $\mu g/mL$

   Kadar fenolik total
   C=$C1\ x\ \frac{v}{m}\ x\ faktor\ pengenceran$
   C=1,972 $x\ \frac{1}{0,001}\ x\ 1$
   C= 1.972.000 $\mu g/g$
   C= 1,972 mg GAE/g

2. Kadar fenol total ekstrak etil asetat
   Kadar ekivalen asam galat terhadap fenolik
   y = 0.0107 x + 0.1056

0,140 = y = 0.0107 x + 0.1056

$x = \frac{0,140-0,0107}{0,1056}$

x = 3.215 $\mu g/mL$

Kadar fenolik total

C=$C1\ x\ \frac{v}{m}\ x\ faktor\ pengenceran$

C=3.215 $x\ \frac{1}{0,001}\ x\ 1$

C= 3.215.000 $\mu g/g$

C= 3,215 mg GAE/g

3. Kadar fenol total ekstrak etanol

Kadar ekivalen asam galat terhadap fenolik

y = 0.0107 x + 0.1056

0,162 = 0.0107 x + 0.1056

$x = \frac{0,162-0,0107}{0,1056}$

x = 5.271 $\mu g/mL$

Kadar fenolik total

C=$C1\ x\ \frac{v}{m}\ x\ faktor\ pengenceran$

C=5.271 $x\ \frac{1}{0,001}\ x\ 1$

C= 5.271.000 $\mu g/g$

C=5,271 mg GAE/g

Lampiran 3 Perhitungan Aktivitas Antioksidan

1. Perhitungan DPPH 0,2 mM

   Rumus molekul DPPH adalah C18H12N5O6 dengan berat molekul 394,323 g/mol (Noorhajati, 2014). Larutan DPPH dibuat 0,2 mM dengan volume 50 ml. Massa serbuk DPPH yang digunakan dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

   M= $\frac{massa}{BM\ x\ v}$

   Keterangan:

   M= Molaritas (M)

   Massa= berat jenis (g)

   BM= berat molekul

   V= Volume (L)

   Perhitungan massa serbuk DPPH yang digunakan

   sebagai berikut:

   M= $\frac{massa}{BM\ x\ v}$

   $\frac{0,2}{1000} = \frac{massa}{394,323\ x\ 0.05}$

   M = $\frac{3,94323}{1000}$ = 0,00394323 gram = 3,94 mg

2. Perhitungan pengenceran larutan standar quersetin
   Larutan induk 100 ppm diencerkan menjadi 2,4,6,8 dan 10 ppm menggunakan labu ukur sebanyak 20 ml pada tiap konsentrasi. Rumus pengenceran:
   $M_1.V_1 = M_2.V_2$
   Keterangan:
   V_1: volume larutan standar yang diencerkan

V_2: volume larutan pengenceran
M_1: kosentrasi larutan yang diencerkan
M_2: konsentrasi larutan pengenceran

a. Larutan Standar Quersetin 2 ppm
Larutan induk Quersetin 100 ppm yang diencerkan menjadi 2 ppm sebanyak 20 ml
Rumus pengenceran:
$M_1.V_1 = M_2.V_2$
$100. V_1 = 2 . 20$
$V_1 = \frac{40}{100}$
$V_1 = 0{,}4$ mL

b. Larutan standar Quersetin 4 ppm
$M_1.V_1 = M_2.V_2$
$100. V_1 = 4. 20$
$V_1 = \frac{80}{100}$
$V_1 = 0{,}8$ mL

c. Larutan standar quersetin 6 ppm
$M_1.V_1 = M_2.V_2$
$100. V_1 = 6 . 20$
$V_1 = \frac{120}{100}$
$V_1 = 1{,}2$ mL

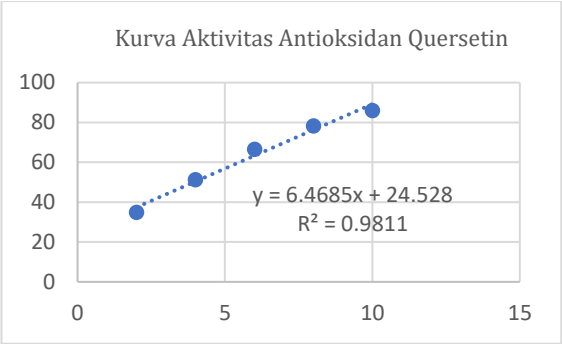
d. Larutan standar quersetin 8 ppm
$M_1.V_1 = M_2.V_2$
$100. V_1 = 8 . 20$
$V_1 = \frac{160}{1000}$
$V_1 = 1{,}6$ mL

e. Larutan standar ekstrak kulit jeruk 10 ppm
$M_1.V_1 = M_2.V_2$
$100. V_1 = 10 . 20$
$V_1 = \frac{200}{1000}$
$V_1 = 2$ mL

3. Aktivitas antioksidan larutan standar quersetin

Konsentrasi	abs.sampel	abs.dpph	%inhibisi
2	0.528	0.805	34.41
	0.521	0.804	35.2
	0.526	0.805	34.66
4	0.39	0.805	51.55
	0.396	0.804	50.75
	0.39	0.805	51.55
6	0.269	0.805	66.58
	0.271	0.804	66.29
	0.27	0.805	66.46
8	0.177	0.805	78.01
	0.172	0.804	78.61
	0.176	0.805	78.14
10	0.114	0.805	85.84
	0.111	0.804	86.19
	0.114	0.805	85.84

a. Kurva aktivitas antioksidan quersetin



b. Contoh perhitungan %inhibisi DPPH kontrol positif quersetin

%inhibisi = $\frac{Ab-As}{Ab}$ x 100%

Keterangan:

Ab= absorbansi blanko

As= Absorbansi sampel

%inhibisi= $\frac{Ab-As}{Ab}$ x 100%

= $\frac{0{,}805 - 0{,}528}{0{,}805}$ x 100%

= 34,41%

c. Perhitungan konsentrasi inhibisi 50% (IC_{50})

y = ax + b

y = 6.4685x + 24.528

50 = 6.4685x + 24.528

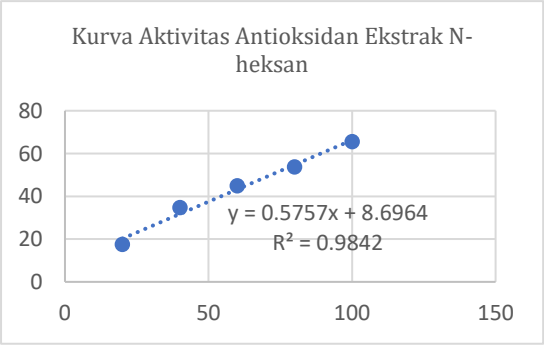
x = $\frac{25.472}{6.4685}$

x = 3,94 ppm

4. Aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan

Konsentrasi sampel	abs.sampel	abs.kontrol	%inhibisi
10	0.582	0.702	17.10
	0.578	0.700	17.42
	0.575	0.699	17.74
20	0.462	0.702	34.18
	0.457	0.700	34.71
	0.452	0.699	35.33
40	0.389	0.702	44.58
	0.386	0.700	44.85
	0.384	0.699	45.06
60	0.328	0.702	53.27
	0.324	0.700	53.71
	0.322	0.699	53.93
80	0.245	0.702	65.10
	0.241	0.700	65.57
	0.238	0.699	65.95

Kurva aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan



a. Contoh perhitungan %inhibisi DPPH ekstrak n-heksan

%inhibisi = $\frac{Ab-As}{Ab}\ x\ 100\%$

Keterangan:

Ab= absorbansi blanko

As= Absorbansi sampel

%inhibisi = $\frac{Ab-As}{Ab}\ x\ 100\%$

= $\frac{0,702\ -0,582}{0,702}\ x\ 100\%$

= 17,10%

b. Perhitungan konsentrasi inhibisi 50% (IC_{50})

y = ax + b

y = 0.5757x + 8.6964

50 = 0.5757x + 8.6964

x = $\frac{50-8.6964}{0.5757}$

x = $\frac{41.3036}{0.5757}$

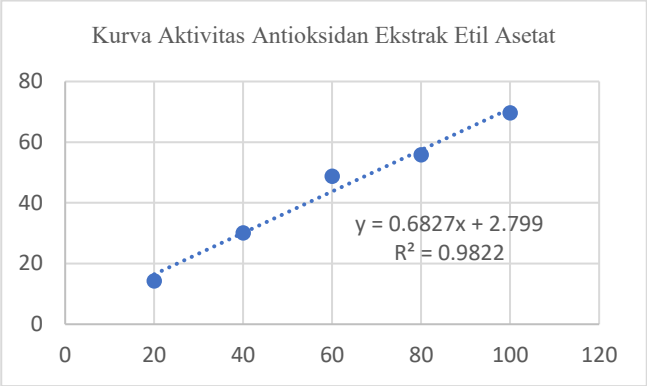
x =71,74 ppm

5. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat

Konsentrasi sampel	abs.sampel	abs.kontrol	%inhibisi	mean %inhibisi
20	0.668	0.776	13.92	14,34%
	0.665	0.778	14.52	
	0.662	0.775	14.58	
40	0.542	0.776	30.15	30,10%
	0.541	0.778	30.46	
	0.545	0.775	29.68	
60	0.422	0.776	45.62	48,78%
	0.386	0.778	50.39	
	0.385	0.775	50.32	
80	0.347	0.776	55.28	55,86%
	0.342	0.778	56.04	

	0.339	0.775	56.26	
100	0.237	0.776	69.46	69,73%
	0.235	0.778	69.79	
	0.233	0.775	69.94	

Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat



a. Contoh perhitungan %inhibisi DPPH ekstrak etil asetat

$$\%\text{inhibisi} = \frac{Ab-As}{Ab}\ x\ 100\%$$

Keterangan:
Ab= absorbansi blanko
As= Absorbansi sampel

$$\%\text{inhibisi} = \frac{Ab-As}{Ab}\ x\ 100\%$$
$$= \frac{0{,}776-0{,}668}{0{,}776}\ x\ 100\%$$
$$= 13{,}91\%$$

b. Perhitungan konsentrasi inhibisi 50% (IC_{50})

y = ax + b
y = 0.6827x + 2.799
50 = 0.6827x + 2.799

$x = \frac{50 - 2.799}{0.6827}$

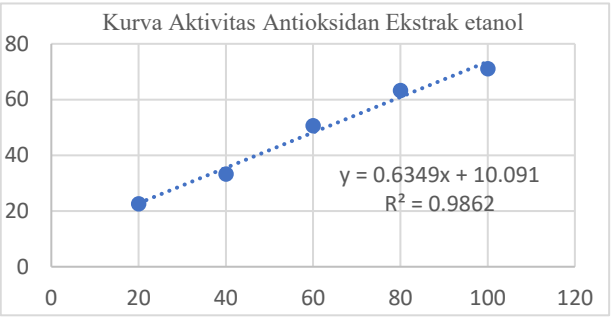
$x = \frac{47.201}{0.6827}$

x = 69.13 ppm

6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70%

Konsentrasi sampel	abs.sampel	abs.kontrol	%inhibisi	mean %inhibisi
20	0.765	0.987	22.49	22,58
	0.762	0.985	22.63	
	0.76	0.982	22.60	
40	0.658	0.987	33.33	33,45
	0.656	0.985	33.40	
	0.655	0.982	33.29	
60	0.489	0.987	50.45	50,61
	0.486	0.985	50.65	
	0.484	0.982	50.71	
80	0.364	0.987	63.12	63,30
	0.362	0.985	63.24	
	0.358	0.982	63.54	
100	0.288	0.987	70.82	71,08
	0.285	0.985	71.06	
	0.281	0.982	71.38	

Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol



a. Contoh perhitungan %inhibisi DPPH ekstrak etanol

%inhibisi = $\frac{Ab-As}{Ab}$ x 100%

Keterangan:

Ab= absorbansi blanko

As= Absorbansi sampel

%inhibisi = $\frac{Ab-As}{Ab}$ x 100%

= $\frac{0,987-0,765}{0,987}$ x 100%

= 22,49%

b. Perhitungan konsentrasi inhibisi 50% (IC_{50})

y = ax + b

y = 0.6349x + 10.091

50 = 0.6349x + 10.091

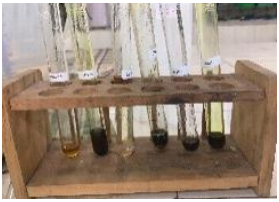
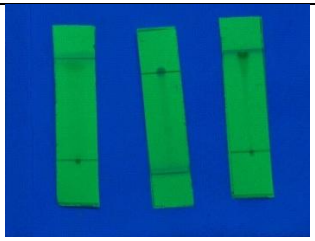
x = $\frac{39.909}{0,6349}$

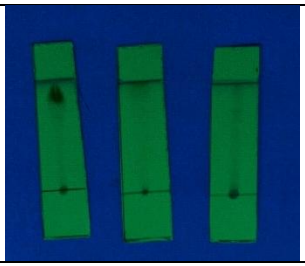
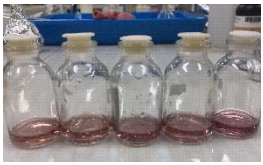
x = 62,84 ppm

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

	Sampel yang telah dipotong kecil-kecil dan telah dikeringkan
	Serbuk Simplisia
	Proses Maserasi
	Proses penyaringan ekstrak

	Proses Evaporasi
	Hasil Evaporasi berupa ekstrak kental

  	Uji fitokimia
	Perbandingan eluen n-heksan: etil asetat (7:3) pada ekstrak n-heksan; etil asetat; dan etanol.

	Perbandingan eluen n-heksan: etil asetat (5:5) pada ekstrak n-heksan; etil asetat; dan etanol
 	Uji fenolik total
 	Uji Aktivitas Antioksidan

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas diri

Nama : Annisa Vira Larasati
Tempat & Tgl Lahir: Cilacap, 25 Februari 2003
Alamat Rumah : Perum graha bagasasi, Kec.Cibarusah, Kabupaten Bekasi, Jawa Barat
Nomor HP : 08156287648
E-mail : annisavira68@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan formal
   a. RA Al-kautsar
   b. SDIT Nur Al-barkah
   c. SMPIT Nurul Ilmi
   d. SMAN 01 Cibarusah
   e. UIN Walisongo Semarang