

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN INFUSA DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* D.C) DENGAN PEMBANDING
VITAMIN C SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI



Oleh:

Dhesinta Putri Hartari

NIM 19040025

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2023

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN INFUSA DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* D.C) DENGAN PEMBANDING
VITAMIN C SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI



Oleh:

Dhesinta Putri Hartari

NIM 19040025

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2023

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi Jember

Jember, 22 Mei 2023

Pembimbing Utama,



Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si

NIDN.0705019003

Pembimbing Anggota,



apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm

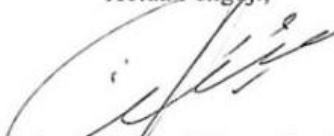
NIDN. 0716059404

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Pembanding Vitamin C Secara Spektrofotometri UV-Vis” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Senin
Tanggal : 22 Mei 2023
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr.Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes
NIDN.4009056901

Penguji II,



Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si
NIDN.0705019003

Penguji III,



apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm
NIDN.0716059404

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr.Soebandi



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN.07030668903

LEMBAR PERNYATAAN ORSINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dhesinta Putri Hartari

NIM : 19040025

Program Studi : Sarjana Farmasi

Meyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi/laporan tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau hasil tulisan dari pihak lain.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jember, 22 Mei 2023

Yang menyatakan,



(Dhesinta Putri Hartari)

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN INFUSA DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) DENGAN PEMBANDING VITAMIN C SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Oleh:

Dhesinta Putri Hartari

NIM.19040025

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Mohammad Rofik Usman, S.Si.,M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu;
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
3. Bapak, Ibu, serta seluruh keluarga saya yang telah memberikan doa untuk saya, sehingga skripsi ini bisa terselesaikan dengan sebaik-baiknya;
4. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi Jember, khususnya kepada dosen pembimbing skripsi saya, yang telah memberikan ilmu serta bimbingan dengan sabar;
5. Kepada kedua orang tua saya yang telah berjuang untuk saya dalam hal Pendidikan. Saya mengucapkan banyak terimakasih karena saya tidak pernah merasakan kekurangan dalam hal apapun, semoga skripsi ini menjadi tahap awalan untuk membahagiakan kedua orang tua saya;
6. Kepada Benny yang selalu menjadi teman serta menghibur, memberikan semangat, meminjami laptop, membantu memecahkan masalah saat menyelesaikan skripsi;
7. Kepada teman-teman Angkatan 2019 Farmasi Universitas dr.Soebandi Jember;
8. Almamater Universitas dr.Soebandi Jember;

MOTTO

“Selelah apapun anda kuliah, menjalankan tugas, mengerjakan laporan hingga kurang tidur, jangan pernah putus asa. Karena ada orang tua yang senantiasa berjuang untuk melihat anda memakai toga suatu hari nanti”

-Pesan bunda

“Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada kemudahan, karena itu bila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain)”

-Qs.Al-Insyirah: 6-7

“Usaha dan doa tergantung pada cita-cita. Manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya”

-Jalaluddin Rumi

“Menuntut ilmu adalah takwa. Menyampaikan ilmu adalah ibadah. Mengulang-ulang adalah zikir. Mencari ilmu adalah jihad”

-Abu Hamid Al Ghazali

ABSTRAK

Hartari, Dhesinta Putri* Usman, Mohammad Rofik** Firdaus, Amalia Wardatul***.2023. **Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Pembanding Vitamin C Secara Spektrofotometri UV-Vis.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi.

Potensi keanekaragaman hayati di Indonesia sangat besar, memanfaatkan bahan alam sebagai bahan pengobatan dapat dikembangkan. Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan dengan senyawa yang terkandung adalah flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan pembanding vitamin C menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Penelitian menggunakan design true eksperimental, daun jeruk purut diperoleh di Pasar Tanjung Jember, kemudian dibentuk serbuk simplisia daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan diekstraksi dengan metode ekstraksi panas yaitu infusa dengan pelarut aquadest, dibuat dengan seri konsentrasi 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm dan 175 ppm. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan pembanding vitamin C serta menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis (UV-1900i) pembacaan dilakukan pada panjang gelombang sebesar 516 nm pada menit ke-40. Analisa data menggunakan *independent T-test Shapiro-Wilk*. Hasil % rendemen infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) sebesar 21,06%. Hasil skrining fitokimia infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) menunjukkan rata-rata nilai IC_{50} $115,273 \pm 0,85096 \mu\text{g/mL}$ dan pembanding vitamin C sebesar $6,05086 \pm 0,00833 \mu\text{g/mL}$. Hasil analisis data menyatakan bahwa $p \text{ value} < 0,05$, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai IC_{50} infusa daun jeruk purut dan vitamin C berbeda signifikan. Infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sedang, sedangkan pembanding vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C), Antioksidan, DPPH

*Peneliti

** Pembimbing 1

*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Hartari, Dhesinta Putri* Usman, Mohammad Rofik** Firdaus, Amalia Wardatul ***. 2023. **Antioxidant Activity Test of Kaffir Lime Leaf Infusion (*Citrus hystrix* D.C) With UV-Vis Spectrophotometric Comparison of Vitamin C.** Thesis. University of Pharmacy Undergraduate Study Program dr. Soebandi.

*The potential for biodiversity in Indonesia is very large, the use of natural materials as medicinal ingredients can be developed. Kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* D.C) are plant that has potential as an antioxidant compounds contained in it, such as flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. This study aims to determine the antioxidant activity of the kaffir lime leaf infusion (*Citrus hystrix* D.C) with vitamin C as a comparison using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Research using a true experimental design, kaffir lime leaves were obtained in the Tanjung Jember Market. Kaffir lime leaves are dried using sunlight, then dried and chorused to produce powdered simplicia. The extraction method is infused made with a series of concentrations of 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm and 175 ppm. The antioxidant activity test using the DPPH free radical scavenging method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) with vitamin C as a comparison and using a UV-Vis spectrophotometry instrument (UV-1900i) readings were made at a wavelength of 516 nm in the 40 minutes. Data analysis using independent T-test Shapiro-Wilk. % yield of kaffir lime leaf infusion (*Citrus hystrix* D.C) of 21.06%. The results of the phytochemical screening of kaffir lime leaf infusion (*Citrus hystrix* D.C) showed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. The results of testing the antioxidant activity of the kaffir lime leaf infusion (*Citrus hystrix* D.C) show the average IC_{50} $115.273 \pm 0.85096 \mu\text{g/mL}$ and the comparator vitamin C of $6.05086 \pm 0.00833 \mu\text{g/mL}$. The results of data analysis stated that the sign value <0.05 , indicating that the IC_{50} value infusion of kaffir lime leaf infusion and vitamin C significantly different. Kaffir lime leaf infusion (*Citrus hystrix* D.C) has moderate antioxidant activity, while comparator vitamin C has very strong antioxidant activity.*

Keywords: Kaffir lime leaf (*Citrus hystrix* D.C), Antioxidant, DPPH

*Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Segala puji serta syukur kepada Allah SWT karena berkat karunia-Nya peneliti dapat menyelesaikan proposal skripsi. Proposal skripsi disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Progam Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi Jember dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Pembanding Vitamin C Secara Spektrofotometri UV-Vis”.

Penyusunan dapat terlaksana dengan baik berkat bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes selaku Ketua Yayasan Jember International School serta selaku Penguji Utama.
2. Andi Eka Pranata, S.St., S.Kep., Ns., M.Kes selaku Rektor Universitas dr.Soebandi Jember.
3. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi Jember.
4. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Univeristas dr.Soebandi Jember.
5. Mohammad Rofik Usman, S.Si M.Si selaku Pembimbing Utama.
6. apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm selaku Pembimbing Anggota.

Penulis mengharapkan masukan seperti saran dan kritikan untuk menyempurnakan proposal skripsi ini, sehingga dapat bermanfaat pada bidang pendidikan dan perkembangan penelitian yang lebih lanjut.

Jember, 20 Mei 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dhesinta Putri Hartari', with a stylized flourish at the end.

Dhesinta Putri Hartari

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORSINALITAS	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	6
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain	6
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan.....	6
1.5 Keaslian Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Jeruk Purut.....	8
2.1.1 Morfologi Tanaman Jeruk Purut.....	8
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut.....	9
2.1.3 Kandungan Kimia Daun Jeruk Purut	9
2.1.4 Manfaat Daun Jeruk Purut.....	10
2.2 Metode Ekstraksi.....	11
2.2.1 Jenis Ekstraksi	11
2.2.2 Macam-Macam Ekstraksi	12

2.3	Radikal Bebas.....	18
2.3.1	Definisi Radikal Bebas	18
2.3.2	Tahap Reaksi Radikal Bebas	19
2.3.3	Penyakit Yang Terjadi Akibat Radikal Bebas	20
2.4	Antioksidan	22
2.4.1	Definisi Antioksidan.....	22
2.4.2	Jenis Antioksidan	24
2.4.3	Antioksidan Berdasarkan Sumbernya.....	24
2.4.4	Mekanisme Antioksidan	26
2.5	Pengujian Aktivitas Antioksidan	28
2.5.1	Jenis-Jenis Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	29
2.5.2	Presisi DPPH, ABTS, FRAP	31
2.5.3	Prinsip Kerja DPPH.....	32
2.5.4	Vitamin C	33
2.6	Spektrofotometri UV-Vis	34
2.6.1	Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis dan Komponennya.....	35
2.6.2	Tipe Spektrofotometri UV-Vis.....	38
2.6.3	Syarat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	39
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL		41
3.1	Kerangka Konseptual	41
3.2	Hipotesis	42
BAB 4 METODE PENELITIAN		43
4.1	Desain Penelitian.....	43
4.2	Variabel Penelitian	43
4.2.1	Variabel Bebas	43
4.2.2	Variabel Terikat.....	43
4.2.3	Variabel Terkendali	44
4.3	Tempat Penelitian.....	44
4.4	Waktu Penelitian	44
4.5	Definisi Operasional.....	44
4.6	Teknik Pengumpulan Data	46
4.6.1	Alat dan Bahan	46
4.6.2	Determinasi Daun Jeruk Purut.....	47
4.6.3	Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Purut.....	47

4.6.4	Pembuatan Infusa Daun jeruk Purut	47
4.6.5	Perhitungan Rendemen Daun Jeruk Purut	48
4.6.6	Skrining Fitokimia.....	48
4.6.7	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DDPH	50
BAB 5 HASIL PENELITIAN		56
5.1	Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	56
5.1.1	Hasil Determinasi Tanaman	56
5.1.2	Pengambilan dan Pengolahan Sampel	56
5.1.3	Ekstraksi (Hasil Nilai % Rendemen Infusa Daun Jeruk Purut).....	57
5.1.4	Skrining Fitokimia.....	58
5.2	Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC ₅₀).....	59
5.2.1	Optimasi Panjang Gelombang	59
5.2.2	Optimasi Waktu Inkubasi Vitamin C.....	60
5.2.3	Pengukuran Absorbansi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut	62
5.2.4	Hasil Analisis Nilai IC ₅₀ Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut	64
5.2.5	Hasil Analisis Data.....	65
BAB 6 PEMBAHASAN		66
6.1	Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	66
6.1.1	Ekstraksi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C).....	66
6.1.2	Nilai % Rendemen Infusa Daun Jeruk	69
6.1.3	Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut	70
6.2	Analisis Nilai % Inhibisi (IC ₅₀) Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	71
6.2.1	Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH	72
6.2.2	Optimasi Waktu Inkubasi.....	73
6.2.3	Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	74
BAB 7 KESIMPULAN		80
7.1	Kesimpulan	80
7.2	Saran	80
DAFTAR PUSTAKA.....		81
DAFTAR LAMPIRAN		93

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 2. 1 Presisi Metode DPPH, ABTS dan FRAP.....	31
Tabel 2. 2 Parameter Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH	33
Tabel 2. 3 Jenis Pelarut Pada Daerah UV.....	40
Tabel 4. 1 Definisi Operasional.....	45
Tabel 4. 2 Preparasi Larutan Induk Ekstrak Daun Jeruk Purut	51
Tabel 4. 3 Preparasi Larutan Induk Vitamin C.....	52
Tabel 5. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	57
Tabel 5. 2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	59
Tabel 5. 3 Optimasi Waktu Inkubasi Menit 5-60.....	62
Tabel 5. 4 Hasil Absorbansi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	63
Tabel 5. 5 Hasil % Inhibisi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	63
Tabel 5. 6 Persamaan Regresi Linier Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut..	63
Tabel 5. 7 Nilai IC ₅₀ Vitamin C.....	64
Tabel 5. 8 Nilai IC ₅₀ Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman Jeruk Purut	8
Gambar 2. 2 Daun Jeruk Purut	10
Gambar 2. 3 Ekstraksi Cair-Cair	11
Gambar 2. 4 Metode Ekstraksi Infusa	14
Gambar 2. 5 Metode Ekstraksi Sokletasi.....	15
Gambar 2. 6 Metode Ekstraksi Refluks.....	16
Gambar 2. 7 Metode Ekstraksi Maserasi.....	17
Gambar 2. 8 Metode Ekstraksi Perkolasi	18
Gambar 2. 9 Radikal Bebas	18
Gambar 2. 10 Aktivitas Antioksidan	23
Gambar 2. 11 Klasifikasi Antioksidan	25
Gambar 2. 12 Mekanisme Penghambatan Radikal Bebas.....	27
Gambar 2. 13 Metode ABTS.....	30
Gambar 2. 14 Metode FRAP	30
Gambar 2. 15 Metode DPPH.....	32
Gambar 2. 16 Komponen Spektrofotometri UV-Vis	36
Gambar 2. 17 Spektrofotometri UV-Vis Single Beam.....	38
Gambar 2. 18 Spektrofotometri UV-Vis Double Beam	39
Gambar 5. 1 Ekstrak Kental Daun Jeruk Purut.....	57
Gambar 5. 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk.....	58
Gambar 5.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum.....	60
Gambar 5. 4 Optimasi Waktu Inkubasi Vitamin C.....	61

DAFTAR SINGKATAN

WHO	: <i>World Health Organization</i>
CO	: Karbon monoksida
NO _x	: <i>Nitrogen oxida</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hidrogen peroksida</i>
Gpx	: <i>Glutation peroksidase</i>
GR	: <i>Glutation reduktase</i>
CAT	: Katalase
Prxs	: <i>Peroxiredoxins</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
ABTS	: <i>2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
UV	: Ultraviolet
Vis	: <i>Visible</i>
DNA	: <i>Deoxy Nucleic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
BHT	: <i>Butyl Hidroksi Toluene</i>
BHA	: <i>Butyl Hidroksil Anitol</i>

TBHQ	: <i>Tert-Butyl Buinon</i>
TEAC	: <i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Method</i>
ORAC	: <i>Oxygen Radical Absorbanse Capacity Method</i>
TPTZ	: <i>Tris Pyridyl Triaxine</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman hayati yang melimpah merupakan salah satu keunggulan yang dimiliki oleh benua Asia, negara Indonesia merupakan salah satu negara Asia yang kedudukannya berada pada setelah negara Brazil dalam penghasil keanekaragaman hayati. Prevalensi ketersediaan tumbuhan liar di Indonesia sebesar 74% sedangkan tanaman obat sebesar 26% yang sudah terbudidayakan (Maimunah dkk., 2020). Ketersediaan keanekaragaman hayati tersebut dapat dimanfaatkan pada beberapa sektor salah satunya pada bidang kesehatan, yaitu dengan cara mengembangkan serta memanfaatkan tanaman yang dapat digunakan sebagai terapi dalam pengobatan (Amin dkk., 2022). Masyarakat memiliki kecenderungan untuk menggunakan obat generik dibandingkan dengan menggunakan obat herbal, hal tersebut dikarenakan masyarakat memiliki persepsi bahwa obat herbal adalah pengobatan kuno dan tidak menghasilkan perbaikan yang signifikan (Azwar dkk., 2022).

Pengaruh globalisasi mempengaruhi beberapa faktor salah satunya yaitu dalam segi makanan dan polusi udara. Masyarakat cenderung untuk mengonsumsi makanan *junk food* serta peningkatan polusi udara terjadi disebabkan oleh pengendara bermotor dan asap dari industri, prevalensi pencemaran udara dari asap kendaraan mencapai 80%, serta mencapai 30% prevalensi polusi udara yang berasal dari asap industri atau pabrik (Damanik dan Nasution, 2021). Dampak dari hal tersebut adalah terkena serangan radikal bebas, sehingga pada zaman ini sangat dibutuhkan suplemen yang memiliki aktivitas antioksidan. Pengolahan suplemen

antioksidan menggunakan bahan sintetik dengan pemakaian waktu yang panjang dapat memberikan dampak kurang baik seperti karsinogenik, sehingga pengobatan antioksidan dengan bahan alam dapat digunakan sebagai alternatif yang lebih aman untuk pengobatan (Saputri dkk., 2021).

Daun jeruk purut merupakan salah satu keanekaragaman hayati dengan jumlah melimpah yang dikenal masyarakat untuk bumbu pada olahan masakan. Senyawa flavonoid dan fenolik teridentifikasi terkandung pada jeruk purut yang terletak pada bagian daun dan kulit (Anuar dkk., 2021). Selain berperan dalam bidang kuliner, daun jeruk purut memiliki peranan dalam bidang kesehatan sebagai antioksidan, antibakteri serta antiseptik. Senyawa kimia yang terkandung dari daun jeruk purut banyak dimanfaatkan karena memiliki potensi yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Kandungan dalam daun jeruk purut adalah flavonoid, polifenol, minyak atsiri, alkaloid serta tannin (Utami dkk., 2022). Untuk ke arah pengembangan pada suplemen antioksidan bahan alam, perlu diketahui seberapa kuat aktivitas antioksidan dari daun jeruk purut, sehingga perlu dilakukan penelitian terkait uji aktivitas antioksidan.

Penyarian senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan beberapa metode ekstraksi diantaranya, perkolasi, maserasi, dan infusa. Pada penelitian ini digunakan infusa sebagai metode ekstraksi karena cara pengolahan sampel sama seperti pengolahan obat tradisional yang dikenal oleh masyarakat (Salsabila dan Sukei, 2022). Komposisi senyawa dari daun jeruk purut dapat terpisahkan menggunakan metode maserasi (Sari dan Ayati, 2018) sama dengan yang diperoleh menggunakan metode infusa (Siregar dkk., 2020) yaitu flavonoid, alkaloid serta

tannin. Pada metode maserasi didapatkan rendemen 5,38% (Sari dan Ayati, 2018), sedangkan rendemen pada infusa daun jeruk purut belum diketahui, pemilihan infusa sebagai metode ekstraksi berdasar pada nilai rendemen yang belum diketahui.

Beberapa pengujian aktivitas antioksidan dalam kategori nonenzimatik dapat diterapkan melalui beberapa metode yaitu DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) serta ABTS (*2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*) (Maesaroh dkk., 2018). Masing-masing metode memiliki keunggulan serta kelebihan, contoh dalam ketersediaan bahan kimia, kecepatannya serta presisinya. Metode DPPH merupakan metode yang memiliki presisi tinggi serta proses lebih cepat dibandingkan dengan FRAP dan ABTS (Shah dan Modi, 2015). Penggunaan pembanding pada prosedur uji aktivitas antioksidan perlu dilakukan karena untuk memastikan bahwa semua prosedur uji penelitian sudah tepat. Pada penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding dikarenakan salah satu golongan vitamin yang dianjurkan BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) untuk dikonsumsi masyarakat sebagai antioksidan (Salim, 2018). Pada hasil penelitian Lung dan Destiani (2018) menunjukkan bahwa vitamin C mempunyai aktivitas penghambatan radikal bebas (DPPH) paling kuat (Lung dan Destiani, 2018).

Analisis aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH dapat dilakukan melalui instrumen. Instrumen yang dapat digunakan adalah spektrofotometri UV-Vis. Penggunaan instrumen tersebut dikarenakan batas deteksi yang rendah, presisi dan akurasi yang tinggi. Panjang gelombang maksimum dari spektrofotometri UV-Vis

terbagi menjadi dua daerah, pada daerah UV sebesar 200-400 nm serta *Visible* 400-800 nm (Ardilla dkk., 2018). Panjang gelombang pada dua daerah tersebut dapat ditentukan berdasarkan atas nilai serapan analit (senyawa uji) (Ngibad dkk., 2019). Panjang gelombang maksimum DPPH berkisar 515-520 nm pada pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Flieger dan Flieger, 2020). Dengan demikian pada penelitian ini menggunakan spektrofotometri pada daerah *visible*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimanakah aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut dengan pembanding vitamin C terhadap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometri UV-Vis?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Tujuan penelitian ini terklasifikasikan menjadi tujuan umum serta tujuan khusus. Tujuan penelitian ini terklasifikasikan sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan Umum

- 1) Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan pembanding vitamin C terhadap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV-Vis.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Tujuan penelitian ini untuk menganalisis nilai persen rendemen infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).
- 2) Tujuan penelitian ini untuk menganalisis nilai aktivitas antioksidan IC₅₀ pada infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).
- 3) Tujuan penelitian ini untuk menganalisis perbandingan aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan vitamin C.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan memberikan manfaat untuk peneliti, peneliti lain, masyarakat serta institusi pendidikan.

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi peneliti, yaitu peneliti dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada infusa daun jeruk purut dengan metode DPPH secara spektrofotometri UV-Vis.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi peneliti lain, yaitu hasil dari uji aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi masyarakat, yaitu dari segi perkembangan pengetahuan masyarakat pada bidang kesehatan, khususnya pada aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut.

1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi institusi pendidikan, yaitu dari segi perkembangan pengetahuan tentang aktivitas antioksidan. Penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi yang dapat dibaca serta dikembangkan oleh mahasiswa.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

Nama Peneliti	Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Keaslian Penelitian	
			Persamaan	Perbedaan
Khumaira Sari dan Ayati	2018	Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) Dengan Metode DPPH (2,2-diphenly-1-picrylhydrazyl	a) Menggunakan metode pengujian antioksidan DPPH b) Menggunakan sampel daun jeruk purut	a) Menggunakan metode ekstraksi maserasi b) Menggunakan pelarut etanol 70%
Handayani, dkk	2020	Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) dan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i> (christm) Swigle) Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH	a) Menggunakan metode pengujian antioksidan DPPH	a) Menggunakan metode ekstraksi maserasi b) Menggunakan pelarut etanol 96% c) Menggunakan sampel daun jeruk purut dan daun jeruk nipis (peneliti hanya menggunakan daun jeruk purut) d) Menggunakan pembanding kuersetin
R.Dwi dan A. Novia	2020	Uji Potensi Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri	a) Menggunakan uji aktivitas antioksidan dengan DPPH b) Menggunakan sampel daun jeruk purut	a) Menggunakan metode destilasi b) Menggunakan minyak atsiri sebagai uji aktivitas antioksidan
Zuhria, dkk	2017	Perbandingan Nilai Aktivitas antioksidan Ekstrak Daun Jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) Dan Bentuk Liposomnya	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan sampel daun jeruk purut c) Menggunakan pembanding vitamin C	a) Menggunakan metode maserasi b) Menggunakan pelarut etanol 96% c) Tidak menggunakan bentuk liposomnya

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Purut

2.1.1 Morfologi Tanaman Jeruk Purut



Gambar 2. 1 Tanaman Jeruk Purut (Dokumentasi pribadi, 2023)

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) merupakan famili rutaceae atau suku jeruk-jerukan (Adlini dan Umaroh, 2021). Morfologi pada tanaman jeruk purut adalah pohon pendek dengan tinggi 2-12 m, cabang tanaman jeruk purut cenderung rapat, batang bengkok berwarna coklat, dahan kecil, terdapat duri pendek 0,2-1 cm dengan sudut tajam, berwarna coklat pada ketiak daun (Syarifah, 2017).

Buah dan daun jeruk purut dimanfaatkan sebagai obat tradisional serta penyedap aroma pada masakan (Nurhidayah, 2020). Bentuk buah jeruk purut pyriform (seperti bentuk buah pir), dengan warna kulit hijau tua dengan permukaan kasar, bergelombang, dan berkulit tebal, warna daging buah hijau kekuningan, biji

kecil dengan rasa asam yang menyegarkan (Adlini dan Umaroh, 2021). Daun jeruk purut berwarna hijau lumut mengkilap dan licin dengan bentuk meruncing pada ujung daun, bersayap lebar, serta terdapat lekukan pada bagian tengah daun. Tepi daun jeruk purut berlekuk dengan jumlah gerigi kecil 20-30, dengan panjang daun 7,3 – 8,0 cm, serta lebar daun 2,5 - 3 cm (Tuasamu, 2018).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut

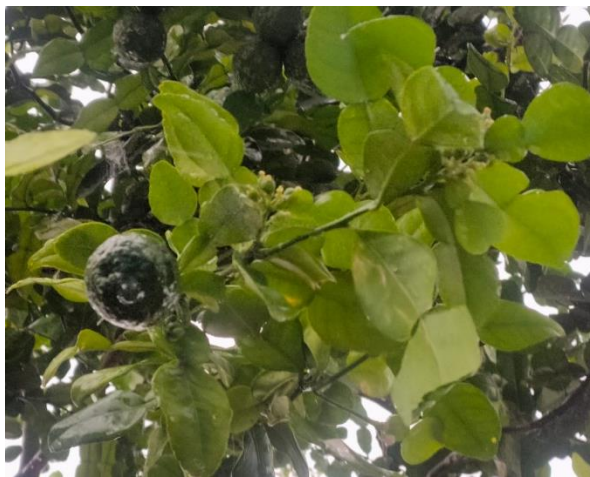
Klasifikasi tanaman jeruk purut menurut (Miftahendrawati, 2014):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Family	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citus</i>
Botanical Name	: <i>Citrus hystrix D.C</i>

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut pada gambar 2.2 dikenal sebagai salah satu bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional (Nurhidayah, 2020). Menurut penelitian Nurhayati dan Qonitaha (2022) kandungan kimia yang terkandung dalam daun jeruk purut adalah flavonoid, alkaloid, tannin, sitronelal, myricetin, apigenin, luteolin, minyak atsiri, α -tokoferol, quercetin. Serta senyawa yang berperan sebagai

antioksidan dalam flavonoid (Nurhayati dkk., 2022). Pada hasil penelitian skrining fitokimia secara kualitatif oleh Arfania (2018) daun jeruk purut mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, seskuiterpenoid, polifenolat, monoterpenoid serta kuinon.



Gambar 2. 2 Daun Jeruk Purut (Dokumentasi pribadi, 2023)

2.1.4 Manfaat Daun Jeruk Purut

Menurut Handayani dkk (2020) menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% daun jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Menurut hasil penelitian Siregar dkk (2020) menyatakan bahwa infusa daun jeruk purut dan infusa daun jeruk nipis memiliki aktivitas daya hambat bakteri yang tergolong tinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia Coli*. Berdasarkan hasil penelitian Putri dkk (2022) menunjukkan bahwa daun jeruk purut memiliki aktivitas sebagai *sun protection* pada sediaan krim. Menurut penelitian Fitriyanti dkk (2020) ekstrak metanol daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*. Pada hasil

penelitian Syarif dan Amansyah (2021) menunjukkan bahwa daun jeruk purut memiliki aktivitas mortalitas terhadap larva *aedes sp.* instar III.

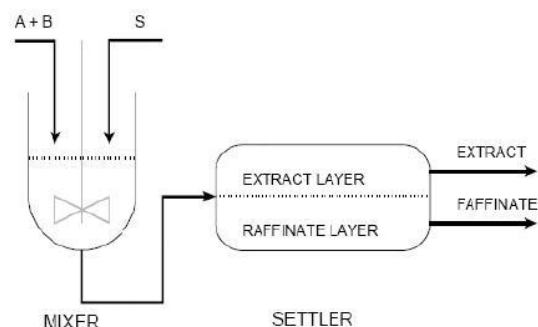
Daun jeruk merupakan salah satu sumber pengobatan herbal yang memberikan banyak manfaat seperti antioksidan, antibakteri, menyembuhkan gangguan saluran pencernaan, pusing, perawatan kulit, mengurangi stress, anti inflamasi serta meningkatkan respon imun (Suresh dkk., 2021).

2.2 Metode Ekstraksi

2.2.1 Jenis Ekstraksi

Ekstraksi dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat cair.

a) Ekstraksi Cair-Cair



Gambar 2. 3 Ekstraksi Cair-Cair (Permana, 2014)

Ekstraksi cair-cair merupakan jenis ekstraksi yang bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa berbentuk cair menggunakan pelarut yang sesuai. Pencampuran komponen dan pelarut akan memisah menjadi dua fasa yaitu fasa ekstrak dan fasa rafinat. Fasa ekstrak terdiri dari solut dan solven sedangkan fasa rafinat terdiri dari residu, diluen dan sisa solut (Lupita dkk.,2020).

Prinsip kerja dari ekstraksi cair-cair adalah dengan distribusi hukum Nernst yang merupakan pemisahan dua fasa akibat tidak saling tercampurnya dua pelarut kemudian ditambahkan solut yang dapat larut dalam kedua pelarut tersebut sehingga akan terdistribusi ke dalam kedua pelarut (Tuning dkk., 2017). Faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi cair-cair adalah pelarut yang digunakan, perbandingan pelarut dan sampel serta proses pengocokan (Lupita dkk.,2020).

b) Ekstraksi Padat Cair

Ekstraksi padat cair merupakan jenis ekstraksi dengan tujuan pemisahan senyawa kimia dari suatu komponen solut dan memiliki karakteristik tidak larut (inert) serta menggunakan solven (pelarut) dalam bentuk cairan. Prinsip pemisahan pada ekstraksi padat cair adalah *driving force* yang merupakan perbedaan konsentrasi dari solute dalam campuran padatan dengan pelarut yang digunakan serta perbedaan konsentrasi dari kelarutan senyawa yang terdapat dalam campuran (Lupita dkk.,2020).

2.2.2 Macam-Macam Ekstraksi

Metode ekstraksi diklasifikasikan menjadi dua macam yaitu metode ekstraksi panas dan metode ekstraksi dingin. Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada senyawa metabolit sekunder yang akan di ekstraksi, berikut jenis-jenis metode ekstraksi yang umum digunakan pada pada bahan alam (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

a) Metode Ekstraksi Cara Panas

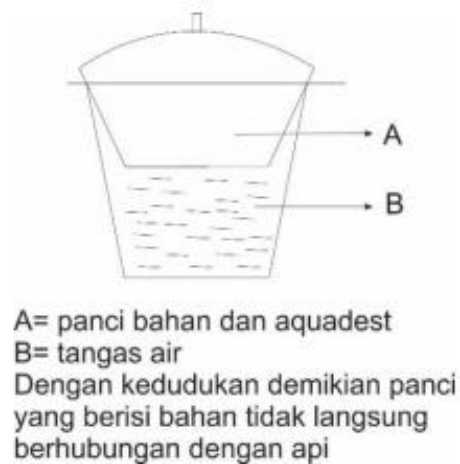
Metode ekstraksi dengan cara panas merupakan proses ekstraksi yang prinsip kerjanya melibatkan proses pemanasan dengan tujuan mempercepat penyarian senyawa metabolit sekunder dari bahan alam. Metode ekstraksi cara panas terklasifikasikan menjadi beberapa macam, diantaranya infusa, soxhletasi dan refluks (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

1) Infusa

Infusa atau dapat disebut dengan infundasi merupakan metode ekstraksi cara panas yang menggunakan pelarut aquadest. Perbandingan konsentrasi simplisia dan pelarut adalah 1:10. Prinsip kerja infusa adalah proses ekstraksi dengan pemanasan yang sesuai yaitu 90°C, dengan waktu selama 15 menit setelah suhu mencapai 90°C, pengadukan sesekali dilakukan saat proses pemanasan. Saring ekstrak dan peras saat kondisi masih panas dengan bantuan kain flannel, kemudian ditambahkan aquadest panas untuk menambahkan volume pelarut yang berkurang (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

Kelebihan infusa adalah memiliki kemudahan dalam segi prinsip kerja dan aplikatif pada masyarakat karena proses ekstraksi sama dengan cara penggunaan obat tradisional yang secara empiris diterapkan oleh masyarakat (Ainia, 2017). Metode ekstraksi infudasi memiliki kelebihan dapat digunakan pada senyawa kimia yang bersifat termostabil (stabil terhadap pemanasan) contohnya adalah flavonoid (Pradito dkk., 2022).

Kekurangan atau kelemahan metode ekstraksi infusa adalah dari segi pelarut yang digunakan untuk menyari, dengan pelarut aquadest kemungkinan dapat mengakibatkan senyawa metabolit sekunder yang akan di ekstraksi mengalami pengendapan saat kondisi dingin (Widyastuti dkk., 2019).



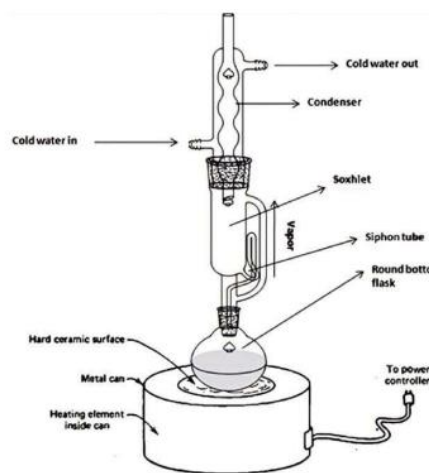
Gambar 2. 4 Metode Ekstraksi Infusa

2) Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pemanasan. Pelarut yang digunakan pada metode soxhletasi mengalami proses pemanasan secara tidak langsung, dimana pelarut mengalami penguapan saat berada pada labu alas bulat kemudian akan terkondensasi saat berada pada labu kondensor (Wijaya dkk., 2019).

Prinsip kerja dari soxhletasi adalah dengan adanya penyarian secara berulang sampai tetesan siklus sudah tidak menampakkan warna lagi. Pada metode soxhletasi biasanya menggunakan kurang lebih 7 siklus. Tujuan dilakukan penyarian berulang adalah untuk meningkatkan proses menyari senyawa metabolit sekunder pada sampel (Rosita dkk., 2017).

Kelebihan soxhletasi adalah terdapat pada prinsip kerja yang dilakukan ekstraksi secara kontinyu, sehingga pelarut yang digunakan tidak banyak. Kekurangan soxhletasi adalah proses ekstraksi dilakukan dengan cara pemanasan dalam waktu yang lama yaitu lebih dari 5 jam, sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada senyawa metabolit sekunder pada sampel yang di ekstraksi (Suharyanto dan Hayati, 2021).

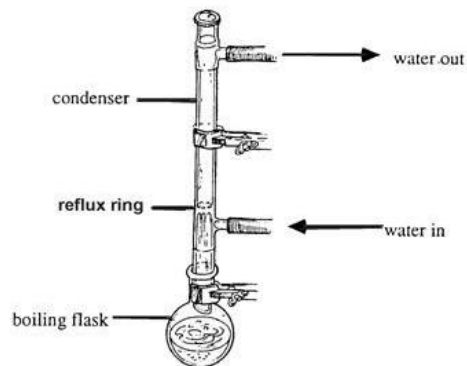


Gambar 2. 5 Metode Ekstraksi Sokletasi (Junaidi dan Fatria, 2022)

3) Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pendingin balik pada proses pemanasannya serta uap dari pendingin balik akan menuju ke labu alas bulat yang berisi sampel dan kemudian akan menyari kembali sampel tersebut, dan dilakukan pergantian pelarut sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam (Syahra dkk., 2021). Pelarut yang digunakan di panaskan pada temperatur titik didih 60°C serta lama ekstraksi adalah kurang dari 24 jam (Wijaya dkk., 2018). Refluks merupakan metode yang memiliki kelebihan dapat digunakan pada bahan alam yang memiliki tekstur kasar, keras serta tahan terhadap pemanasan. Kekurangan dari metode ini

adalah memerlukan pelarut dengan jumlah yang banyak (Sari dan Wulandari, 2020).



Gambar 2. 6 Metode Ekstraksi Refluks (Mantiq, 2016)

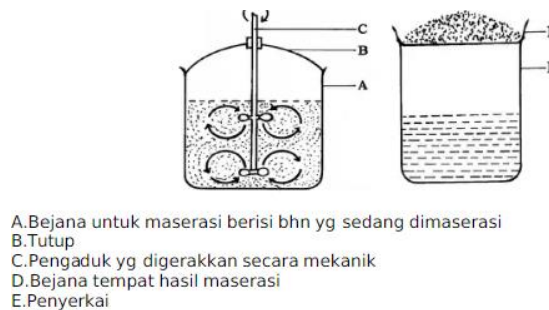
b) Metode Ekstraksi Dingin

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang tidak menggunakan pemanasan pada proses penyarian senyawa kimia. Prinsip kerja maserasi adalah dengan perendaman simplisia dalam bentuk serbuk pada pelarut atau cairan penyari yang sesuai. Prinsip penyarian senyawa metabolit sekunder adalah dari penembusan cairan penyari ke dalam dinding sel dan rongga sel yang mengandung senyawa kimia kemudian akan terdesak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel (Lupita dkk.,2020).

Kelebihan metode ekstraksi maserasi merupakan kerusakan zat aktif dari sampel yang di sari tidak mudah rusak, dan dapat digunakan untuk sampel yang tidak tahan terhadap pemanasan. Kekurangan metode ekstraksi maserasi adalah dari suhu penyarian yang digunakan, penyarian dengan metode maserasi menggunakan suhu ruang yang akan menyebabkan proses penyarian senyawa kimia kurang

optimal sehingga senyawa yang akan terlarut menjadi kurang sempurna (Chairunnisa dkk., 2019).

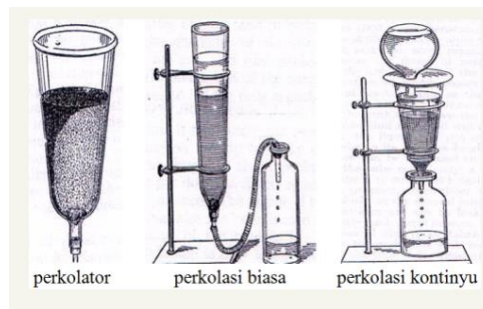


Gambar 2. 7 Metode Ekstraksi Maserasi

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan prinsip kerja tanpa proses pemanasan, serta mengalirkan pelarut secara *continue* pada serbuk simplisia (Silviani dan Prian Nirwana, 2020). Tujuan metode perkolasi adalah untuk menarik senyawa kimia yang ada pada sampel yang tahap terhadap pemanasan dan tidak tahan terhadap pemanasan. Di dalam tabung perkolat serbuk simplisia akan dialiri cairan penyari yang selalu baru sampai keadaan jenuh (Lupita dkk., 2020).

Metode perkolasi memiliki kelebihan dari segi pelarut yang selalu baru, sehingga penyarian senyawa metabolit sekunder dari sampel akan tersari secara maksimal, serta dapat digunakan pada sampel yang tidak tahan terhadap pemanasan (Wigati dan Rahardian, 2018). Kelemahan dari metode perkolasi adalah dari segi pelarut yang digunakan banyak, proses ekstraksi lama serta pelarut yang digunakan kurang efektif digunakan untuk menyari jika sampel yang digunakan tidak homogen (Nur dan Fariqah, 2022).

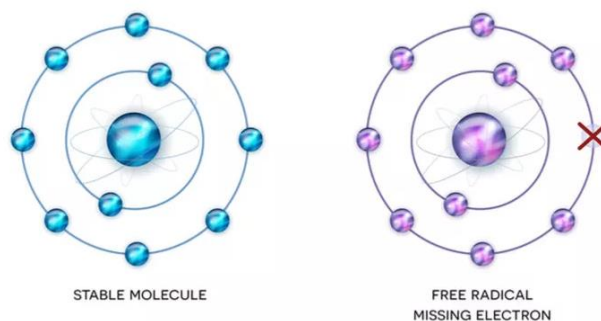


Gambar 2. 8 Metode Ekstraksi Perkolasi (Ryzki, 2020)

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan terletak di orbit terluar, radikal bebas yang tidak stabil akan menstabilkan diri dengan cara mencari pasangan elektron sehingga terjadi reaksi berantai, reaksi tersebut yang mengakibatkan kerusakan DNA, karbohidrat, lipid serta protein. Radikal bebas endogen dihasilkan melalui proses metabolisme esensial, secara eksogen radikal bebas dapat bersumber dari polusi udara, merokok, sinar ultra violet. Radikal bebas yang berlebih pada tubuh dapat menyebabkan penyakit degeneratif (Adam dkk., 2021).



Gambar 2. 9 Radikal Bebas (Dwiputra, 2018)

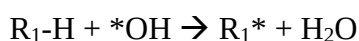
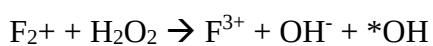
2.3.2 Tahap Reaksi Radikal Bebas

Radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan kondisi stress oksidatif, kondisi stress oksidatif disebabkan oleh reaksi berantai dari radikal bebas yang menyebabkan senyawa radikal bebas memiliki prosentase yang lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan endogen. Senyawa radikal bebas terbentuk dengan 3 tahapan yaitu inisiasi (tahapan pembentukan awal radikal bebas), propagasi (tahapan pembentukan radikal bebas baru) dan terminasi (pengubahan radikal bebas menjadi molekul yang stabil) (Labola dan Puspita, 2018).

a) Inisiasi

Pada tahap inisiasi radikal bebas terbentuk serta menyerang lipid sehingga menjadi radikal lipid, kemudian radikal lipid akan bereaksi dengan oksigen sehingga terbentuk radikal lipid peroksil, kemudian molekul lipid diserang oleh radikal lipid peroksil dengan cara mengambil molekul hidrogen untuk membentuk lipid hidroperoksid yang juga akan menyerang molekul lipid yang lain, yang bereaksi dengan oksigen (Yulistiani, 2018).

Contoh reaksi pada tahapan inisiasi:

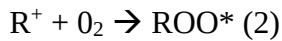


b) Propagasi

Propagasi merupakan tahapan radikal bebas mengalami reaksi berantai, senyawa radikal reaktif merupakan pemicu dari reaksi berantai sehingga radikal bebas baru akan terbentuk (Labola dan Puspita, 2018). Pada tahap propagasi terjadi

oksidasi lemak (R^*) sehingga radikal peroksida dapat terbentuk (ROO^*) (Kurniawati dan Sutoyo, 2021).

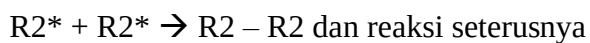
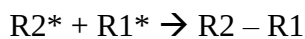
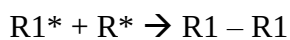
Reaksi pada tahap propagasi:



c) Terminasi

Pada tahapan terminasi, reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal. Pada tahap terminasi terjadi penurunan potensial dari tahapan propagasi karena pada tahap ini terjadi penangkap radikal bebas yaitu terjadi reaksi senyawa radikal bebas dengan radikal bebas yang lainnya (Yusilanti, 2018).

Reaksi pada tahap terminasi:



2.3.3 Penyakit Yang Terjadi Akibat Radikal Bebas

Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kronis dengan seiring bertambahnya usia dari tahun ke tahun, penyakit kronis yang ditimbulkan adalah penyakit yang tidak menular serta bersifat akumulatif. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas adalah kanker, katarak, penurunan fungsi ginjal serta serangan jantung. Struktur DNA (Deoxy Nucleic Acid) dari dalam tubuh mengalami

perubahan struktur dikarenakan radikal bebas yang tidak stabil akan mencari pasangan elektron untuk mencari kesetimbangan, kondisi tersebut menyebabkan kerusakan sel, berbagai macam kerusakan sel akibat serangan radikal bebas adalah sebagai berikut: (Fakriah dkk., 2019).

1) Inti sel dari DNA mengalami kerusakan sehingga menyebabkan kanker

Radikal bebas merupakan penyebab kerusakan DNA serta pemicu lain yang dapat meningkatkan kerusakan adalah radiasi, zat kimia yang bersifat karsinogenik serta virus. Perubahan kondisi tubuh menjadi abnormal serta pembelahan sel terganggu dapat terjadi karena pencetus lain serta radikal bebas yang berantai, sehingga dapat menyebabkan kanker.

2) Membran sel yang mengalami kerusakan sehingga menyebabkan kerusakan sel organ pada tubuh

Asam lemak tak jenuh ganda merupakan komponen yang terdapat dalam membran sel serta rentan terhadap serangan radikal bebas, sehingga menyebabkan perubahan fungsi serta struktur dari asam lemak tak jenuh ganda. Kondisi tersebut menyebabkan kematian sel jaringan pada tubuh sehingga menyebabkan kerusakan sel organ pada tubuh.

3) Kerusakan protein menyebabkan katarak

Kerusakan protein disebabkan oleh serangan radikal bebas sehingga menyebabkan oksidasi protein, oksidasi protein merupakan bentuk modifikasi kovalen oleh oksigen reaktif spesies (ROS). Kerusakan protein pada lensa mata menyebabkan katarak.

4) Penuaan dini

Penuaan merupakan hal yang lazim terjadi dengan seiring pertumbuhan usia, tetapi dalam kondisi abnormal penuaan bisa terjadi pada waktu yang lebih awal, atau yang disebut dengan penuaan dini. Penuaan disebabkan oleh paparan radikal bebas yang berlebih dan system imun tidak mampu lagi untuk mengontrol keberadaan radikal bebas.

5) Kerusakan lipid peroksida

Kerusakan lipid peroksida disebabkan oleh radikal bebas yang menyerang asam lemak yang tak jenuh sehingga tubuh akan menghasilkan peroksida. Kerusakan sel dapat disebabkan oleh peroksida yang dihasilkan akibat reaksi antara zat gizi dalam tubuh sehingga menimbulkan penyakit degeneratif seperti kanker, serangan jantung, stroke serta karatak.

2.4 Antioksidan

Senyawa radikal bebas yang berantai dapat dinetralkan dengan keberadaan antioksidan. Antioksidan mampu menghambat proses oksidasi yang terjadi karena pengaruh molekul oksigen yaitu ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Xiao dkk., 2020).

2.4.1 Definisi Antioksidan

Secara sederhana pengertian antioksidan menurut Apak (2019) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat penghambat atau penunda dari reaksi yang tidak diinginkan yaitu reaksi oksidasi. Antioksidan mampu melindungi dan mencegah konversi oksidatif melalui spesies reaktif ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan Reactive Nitrogen Species (RNS) (Apak, 2019).

Antioksidan mampu memberikan efek substansial dalam bidang kesehatan karena dapat memperbaiki penuaan serta memerangi radikal bebas. Salah satu contoh sumber antioksidan adalah vitamin C yang dapat berfungsi sebagai antioksidan superior untuk mengurangi konsekuensi cedera oksidatif yang dipicu dengan adanya polutan, pola makan buruk serta kecemasan, Penyakit degeneratif hingga saat ini tidak bisa disembuhkan tetapi dapat dikelola dengan mempertahankan nilai hidup salah satunya adalah mencegah reaksi berantai pada radikal bebas dari dini dengan merubah gaya hidup dan asupan makanan yang mengandung antioksidan tinggi (Fadaka dkk., 2019).



Gambar 2. 10 Aktivitas Antioksidan (Neha dkk., 2019)

2.4.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu antioksidan enzimatik serta antioksidan non enzimatik (Neha dkk., 2019).

a) Antioksidan Enzimatik

Antioksidan enzimatik merupakan antioksidan yang secara alami dihasilkan dari dalam tubuh seperti (GPx) glutathion peroksidase, (GR) glutathion reduktase, katalase (CAT) dan peroxiredoxins (Prxs), enzim tersebut dapat menetralkan hidrogen peroksida (Chodakowska dkk., 2018).

b) Antioksidan Non Enzimatik

Antioksidan non enzimatik merupakan antioksidan yang dapat dihasilkan dari luar tubuh seperti α -tocopherol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C) serta β -karoten, polyphenols (flavonoids, stilbenes, phenolic acid dan lignans). Dalam berbagai uji klinis yang bertujuan untuk mengetahui efek berbahaya ROS menunjukkan hasil bahwa penggunaan antioksidan eksogen dapat memberikan pengurangan 28-30% mengurangi oksidasi lipoprotein.

2.4.3 Antioksidan Berdasarkan Sumbernya

Berdasarkan sumbernya antioksidan diklasifikasikan menjadi 2 jenis, yaitu antioksidan alami, dan antioksidan sintetis, berikut merupakan contoh dari masing-masing klasifikasi (Kamoda dkk., 2021).

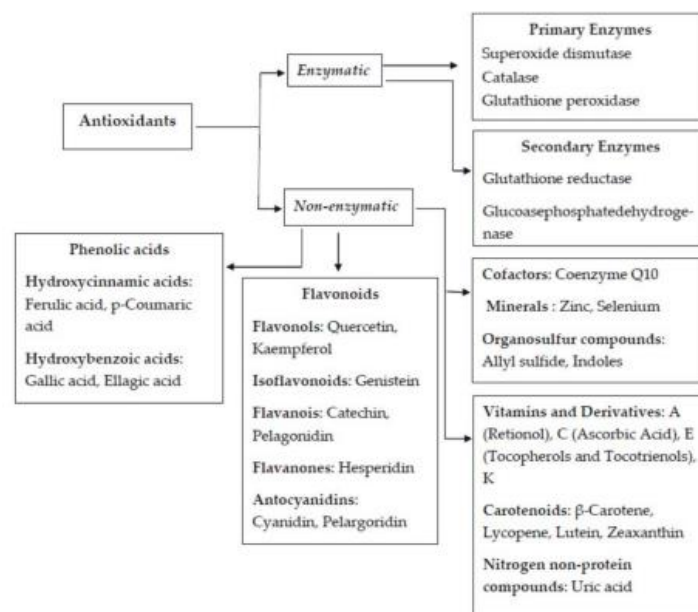
a) Antioksidan Alami

Antioksidan alami dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu antioksidan alami yang dapat diperoleh secara alami di dalam tubuh yang digunakan sebagai sistem

pertahanan tubuh dan antioksidan alami yang dihasilkan dari luar tubuh seperti asupan sumber antioksidan dari luar tubuh. Contoh dari antioksidan alami di dalam tubuh adalah (GPx) glutathione peroksidase, (GR) glutathione reduktase, katalase (CAT) dan peroxiredoxins (Prxs) dan contoh antioksidan alami dari luar tubuh adalah asam askorbat (vitamin C), alfa tokoferol (vitamin E), serta ubiquinon.

b) Antioksidan Sintetis

Antioksidan sintetis merupakan antioksidan yang bersumber dari bahan kimia dengan proses sintesis, contoh dari antioksidan sintetis adalah BHT (Butyl Hidroksi Toluene), BHA (Butyl Hidroksil Anitol), propel galat serta TBHQ (Tert-Butil Buinon).



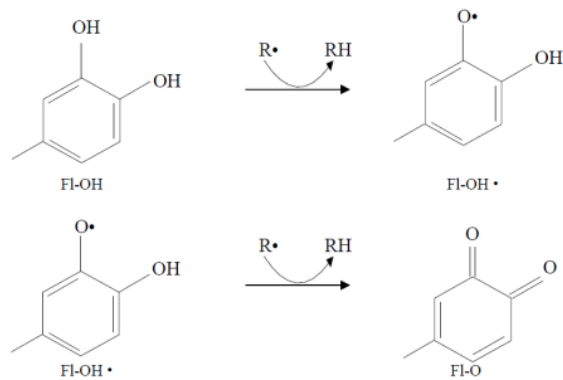
Gambar 2. 11 Klasifikasi Antioksidan (Munteanu dan Apetrei, 2021)

2.4.4 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan adalah menangkap radikal tidak stabil (radikal bebas), menghambat peroksida, menghambat insiasi rantai serta menghambat abstraksi hidrogen (Andarina dan Djauhari, 2017).

a) Menangkap radikal tidak stabil (radikal bebas)

Radikal bebas yang tidak stabil yaitu kondisi dimana senyawa radikal kehilangan satu elektron sehingga akan mencari kesetimbangan dan akan bereaksi dengan senyawa-senyawa yang ada di dalam tubuh, reaksi tersebut merupakan reaksi oksidasi yang berantai, sehingga komposisi radikal bebas akan semakin meningkat. Peningkatan radikal bebas menyebabkan stress oksidatif. Salah satu senyawa antioksidan yaitu golongan polifenol seperti flavonoid memiliki mekanisme sebagai penghambat dari reaksi oksidasi dengan cara *radical scavenging* (penangkapan radikal bebas), senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu elektron ke sisi radikal bebas yang mengalami ketidakstabilan, sehingga radikal bebas akan menjadi senyawa yang stabil dan prosentase radikal bebas akan berkurang. Pada (Gambar 2.11) merupakan reaksi penghambatan radikal bebas, $R\cdot$ (senyawa radikal bebas), Fl-OH (senyawa flavonoid), sedangkan Fl-OH $\cdot$ (radikal flavonoid).



Gambar 2. 12 Mekanisme Penghambatan Radikal Bebas

Oleh Flavonoid (Ridho dkk., 2014)

b) Mengambat peroksida

Peroksida merupakan senyawa yang memiliki ikatan tunggal oksigen-oksigen, pembentukan peroksida terjadi pada tahap inisiasi. Radikal bebas akan bereaksi dengan oksigen dan menghasilkan senyawa radikal peroksi, kemudian atom dari molekul tak jenuh lain akan menghasilkan peroksida serta radikal bebas yang baru. Antioksidan berperan sebagai penekanan dari nilai bilangan peroksida. Bilangan peroksida merupakan nilai terpenting untuk menentukan derajat kerusakan pada minyak atau lemak akibat terbentuknya peroksida. Semakin tinggi antioksidan maka semakin besar kemampuan menahan oksidasi dan ditunjukkan dengan nilai bilangan peroksida yang semakin rendah, dan sebaliknya jika antioksidan yang dihasilkan lemah maka kemampuan menahan oksidasi rendah serta nilai bilangan peroksida menunjukkan angka yang besar (Nurminha dan Nuraini, 2021).

c) Menghambat abstraksi hidrogen

Antioksidan memiliki mekanisme menghambat radikal bebas berantai (*Chain-breaking antioxidant*), dengan memberikan atomnya ke sisi elektron yang tidak berpasangan, serta menangkap radikal bebas yang lain seperti radikal alkoksi dan radikal peroksi. Hal tersebut dapat mencegah abstraksi hidrogen atau HAT (Hydrogen Atom Transfer) (Santoso, 2021).

2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro*, tujuan dari pengujian adalah untuk mengetahui seberapa kuat senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan, secara *in vitro* uji aktivitas antioksidan di klasifikasikan menjadi dua jenis yaitu ORAC dan TEAC, uji ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) yaitu uji aktivitas antioksidan dengan prinsip pengukuran kemampuan pemecahan reaksi berantai dari radikal bebas oleh antioksidan, kemudian dianalisis penghambatan oksidasi radikal peroksi. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Method) merupakan uji aktivitas antioksidan dengan menganalisis nilai penghambatan radikal bebas oleh antioksidan dengan reaksi transfer elektron ke sisi radikal bebas. Contoh metode yang termasuk ke dalam TEAC adalah DPPH, ABTS dan FRAP (Munteanu dan Apetrei, 2021).

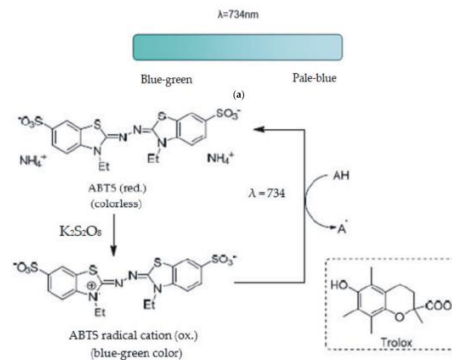
2.5.1 Jenis-Jenis Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

a) Metode DPPH

Goldsmith dan Renn menemukan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikal) (DPPH•, DPPH-R), kestabilan DPPH dan potensi redoks yang tinggi untuk mengoksidasi antioksidan alami, berdasarkan penemuan tersebut metode spektrofotometri dengan DPPH banyak digunakan untuk menguji kapasitas antioksidan senyawa kimia yang terdapat pada bahan alam (Flieger, 2020). Metode DPPH memiliki kelebihan seperti presisi yang baik, kemudahan dalam melakukan percobaan serta stabil pada suhu kamar (Munteanu dan Apetrei, 2021).

b) Metode ABTS

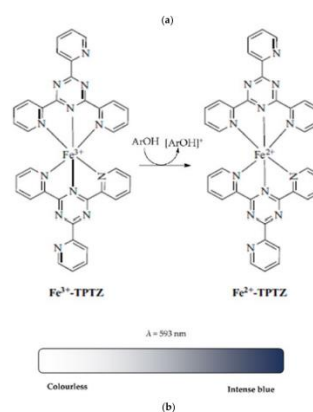
Metode ABTS *2,2-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid* merupakan salah satu pengujian aktivitas antioksidan dengan prinsip pengujian yaitu menganalisis nilai kapasitas antioksidan yang bereaksi dengan radikal kation ABTS. Perubahan warna biru-hijau menandakan bahwa antioksidan akan berubah menjadi non radikal. Metode ABTS tidak stabil terhadap cahaya sehingga proses pengujian dilakukan dalam kondisi gelap. Waktu inkubasi ABTS untuk mencapai reaksi yang optimal dibutuhkan waktu 12-16 jam (Setiawan dkk., 2018). Kekurangan metode ABTS adalah dalam tes kinetic, reaksi dalam tes TEAC tidak pasti dikarenakan zat dapat bereaksi dengan pengoksidasi, enzim dan kation radikal sehingga diperoleh nilai yang berlebihan (Munteanu dan Apetrei, 2021).



Gambar 2. 13 Metode ABTS (Munteanu dan Apetrei, 2021)

c) Metode FRAP

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan salah satu pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan pada senyawa metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan. Prinsip kerja dari metode FRAP adalah terjadi reaksi antara antioksidan dan Fe^{3+} -TPTZ (*Tris Pyridyl Triaxine*), senyawa tersebut dapat merusak sel-sel yang ada dalam tubuh (Septy dkk., 2021).



Gambar 2. 14 Metode FRAP (Munteanu dan Apetrei, 2021)

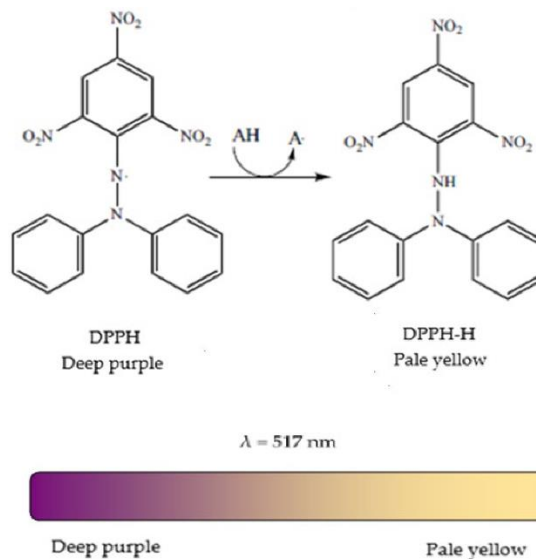
2.5.2 Presisi DPPH, ABTS, FRAP

Presisi merupakan salah satu parameter dalam validasi metode analisis yang menunjukkan derajat kesesuaian dari hasil uji dengan hasil pengujian lainnya. Presisi dapat dianalisis sebagai parameter seperti *repeatability* (keterulangan) dan *reproducibility* (ketertiruan). Nilai presisi dapat diolah menggunakan perhitungan statistika *Standar Deviasi* (SD) atau simpangan baku yang akan menghasilkan nilai *Relative Standart Deviasion* (RSD) dan *Coeficient Variation* (CV). Nilai Presisi yang sangat baik ditunjukkan dengan semakin kecil persen RSD atau CV atau dengan range < 2% dinyatakan sangat baik (Ayuni, 2022). Nilai presisi DPPH, ABTS dan FRAP pada tabel 2.2 memiliki nilai RSD yang berbeda, DDPH memiliki nilai presisi yang lebih baik dibandingkan dengan metode ABTS dan FRAP, sehingga DPPH digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 2. 1 Presisi Metode DPPH, ABTS dan FRAP

Peneliti	Metode Aktivitas Antioksidan	Data Validasi Metode Analisis
(Zuo dkk., 2021)	DPPH	Presisi (RSD) = 2,2% Akurasi = 96,9% Linieritas = 0,999 LOD = 0,0049 µg/L LOQ = 0,016 µg/L
(Ferrante dkk., 2019)	ABTS	Repeatability (Nilai presisi dalam CV%) = Pada Trolox dengan konsentrasi 1,0; 1,5; dan 2,0 didapatkan rata-rata CV 8,79%
(Suktham dkk., 2019)	FRAP	Presisi (RSD) = 6,15% Linieritas = Correlation coefficient (r^2) 0,997 LOD = 0,51 mg/L LOQ = 1,56 mg/L

2.5.3 Prinsip Kerja DPPH



Gambar 2. 15 Metode DPPH (Munteanu dan Apetrei, 2021)

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada penyumbangan elektron untuk radikal bebas dari antioksidan dengan tujuan agar senyawa radikal DPPH menjadi netral. Reaksi tersebut dapat menyebabkan pengurangan ikatan rangkap terkonjugasi sehingga menyebabkan perubahan warna yang terdapat pada Gambar 2.14. Aktivitas antioksidan dengan metode netralisasi DPPH akan memberikan hasil IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*), dapat didefinisikan sebagai nilai konsentrasi antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas DPPH awal sebesar 50%. Pada pengujian aktivitas antioksidan terdapat kondisi ekuilibrium, yaitu merupakan suatu keadaan dimana senyawa radikal DPPH dan antioksidan bereaksi pada waktu yang optimal (Munteanu dan Apetrei, 2021).

a) Karakteristik Radikal DPPH

Radikal DPPH memiliki kelarutan yang baik dalam metanol atau etanol, radikal DPPH stabil pada suhu kamar dan berwarna ungu. Radikal DPPH bersifat tidak stabil terhadap cahaya sehingga proses pengujian dilakukan pada tempat gelap yang terhindar dari cahaya matahari (Martiningsih dkk., 2016).

b) Parameter Metode DPPH

Intensitas dari antioksidan terklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} (*Inhibitoin Concentration*) ditunjukkan pada (Tabel 2.1). Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan linier ($y=bx+a$) pada % inhibisi vs konsentrasi ekstrak. Nilai y dari persamaan linier adalah 50% inhibisi, nilai b adalah slope dari % inhibisi vs ekstrak, nilai a adalah intercept dari % inhibisi vs ekstrak, sedangkan nilai x adalah nilai IC_{50} (Handayani dkk., 2020).

Tabel 2. 2 Parameter Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH (Salim, 2018)

Intensitas Kekuatan Aktivitas Antioksidan	Nilai IC 50
Sangat Kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	151-200

2.5.4 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu antioksidan yang dapat menurunkan efek dari ROS, dimana efek samping tersebut dapat menimbulkan kerusakan pada DNA, lipid serta protein. Kerusakan makromolekul tersebut dapat menyebabkan penyakit *neurodegenerative* atau penyakit kronis. Vitamin C sering dikaitkan dengan sifat antioksidan yang dapat diperoleh dari bahan alam atau eksogenik. Vitamin C sering digunakan sebagai pembanding dibandingkan dengan

vitamin A dan E karena Vitamin C memiliki nilai rata-rata IC_{50} sebesar 14,79 $\mu\text{g/mL}$ (Lung dan Destiani, 2018) serta pada tingkat presisi menunjukkan bahwa vitamin C memiliki presisi yang baik ditunjukkan dengan nilai (HorRat) sebesar 0,573 (Julizan dkk., 2019). Menurut Horwitz dkk (1980) menyatakan bahwa presisi yang baik berada pada rentang $< 0,3-1$ (HorRat).

Vitamin C dapat digunakan sebagai pembanding dalam penentuan aktivitas antioksidan, pembanding diperlukan karena untuk mengkonfirmasi bahwa prosedur dari penentuan aktivitas antioksidan yang dilakukan dalam penelitian sudah tepat, sehingga prosedur dalam penelitian dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak (Julizan dkk., 2019).

2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu instrumen alat ukur untuk menentukan nilai absorbansi dari suatu senyawa. Spektrofotometri UV-Vis mengukur absorbansi dari serapan cahaya pada daerah ultraviolet (200-400 nm) serta sinar tampak atau *visible* (400-800 nm) (Abriyani dkk., 2022). Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif, tetapi banyak digunakan dalam analisis kuantitatif, hal tersebut dikarenakan spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi pada pengukuran suatu molekul. Keuntungan menggunakan spektrofotometri UV-Vis adalah memberikan hasil yang akurat dengan kuantitas zat yang sangat kecil serta angka yang otomatis terdeteksi oleh detektor dapat tercetak dalam bentuk grafik yang terdapat nilai regresi serta dalam bentuk angka digital (Sari dan Hastuti, 2020).

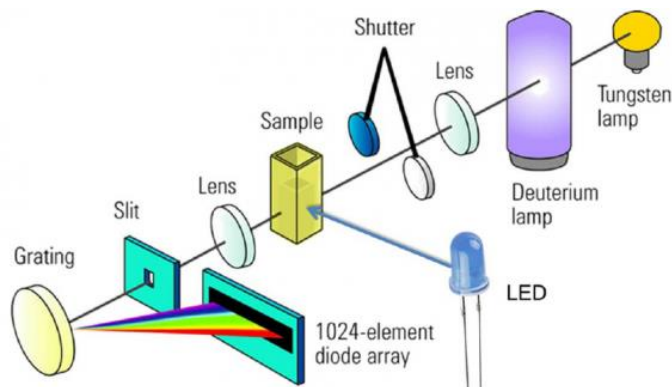
2.6.1 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis dan Komponennya

a) Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis adalah penyerapan cahaya pada suatu larutan yang telah ditentukan konsentrasinya atau disebut dengan spektrofotometri absorbansi. Lampu deuterium atau wolfram merupakan sumber cahaya yang terdapat dalam spektrofotometri UV-Vis, kedua komponen tersebut memiliki sifat polikromatis yang akan diteruskan ke monokromator melalui lensa pada spektrofotometer. Kemudian monokromator akan merubah polikromatis menjadi monokromatis. Cahaya dengan panjang tertentu akan diteruskan ke sampel yang telah dibuat dengan konsentrasi tertentu, sehingga akan terdapat cahaya yang terserap dan terdapat cahaya yang terlewatkan. Detektor akan menerima cahaya yang terlewatkan dan secara otomatis menghitung cahaya yang diserap oleh larutan atau sampel yang telah ditentukan konsentrasinya. Konsentrasi zat yang terdapat dalam sampel memiliki jumlah yang sebanding dengan cahaya yang terserap sehingga dapat diketahui konsentrasi zat yang terdapat dalam sampel secara kuantitatif dengan cara melakukan perbandingan antara kurva standart dengan absorbansi sampel (Sari dan Hastuti, 2020).

b) Komponen Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis terdiri dari beberapa komponen, diantaranya sebagai berikut (Suhartati, 2017).



Gambar 2. 16 Komponen Spektrofotometri UV-Vis

1) Sumber Cahaya

Pada komponen ini terdapat sinar UV yang akan ditembakkan pada sampel. Pada komponen ini terdiri dari lampu tungsten (wolfram) yang digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak serta lampu deuterium yang digunakan pada panjang gelombang 190-380 nm untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah UV.

2) Monokromator

Monokromator merupakan komponen yang berfungsi sebagai pemisah radiasi spektrum lain yang tidak diperlukan. Pada komponen monokromator terdapat prisma, kisi difraksi, celah optis dan filter yang masing-masing fungsinya sebagai berikut:

- Prisma, berfungsi sebagai pendispersi radiasi elektromagnetik dengan tujuan agar mendapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

- Kisi difraksi, berfungsi sebagai menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata, dengan pendispersi yang sama hasil dispersi akan menjadi lebih baik.
- Celah optis, berfungsi sebagai mengarahkan sinar monokromatis dari sumber radiasi
- Filter, berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih.

3) Kompartemen sampel

Pada komponen ini digunakan sebagai tempat untuk diletakkannya kuvet, kuvet merupakan wadah yang digunakan untuk meletakkan sampel yang akan dianalisis, kondisi kuvet yang memenuhi syarat adalah permukaannya yang sejajar secara optis, kuvet tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat tertransmisikan dengan optimal, memiliki bahan yang tidak bereaksi dengan bahan-bahan kimia, dan memiliki bahan dasar yang kokoh atau tidak mudah rapuh.

4) Detektor

Detektor merupakan komponen yang berfungsi sebagai alat yang merubah energi cahaya menjadi energi listrik, yang berhubungan dengan daya radiasi yang terserap oleh permukaan yang sentisif sehingga memberikan suatu isyarat listrik. Terdapat 2 jenis jangkauan gelombang yaitu phototube dan photomultiplier dengan jangkauan panjang gelombang 150-1000 nm.

5) Sistem pengolah

Sistem pengolahan merupakan komponen yang berfungsi sebagai pengolah kekuatan arus dari detektor dengan besaran transmisi, kemudian diubah menjadi data dengan sistem pembacaan.

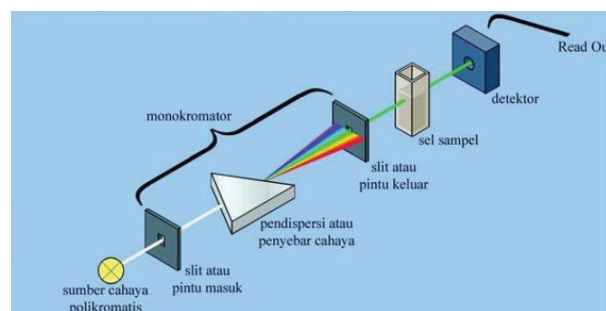
6) Sistem pembacaan

Sistem pembacaan merupakan komponen yang berfungsi sebagai bagian yang menampilkan bentuk % transmittan (%T) maupun Absorbansi (A). Serapan sel yang diukur terhadap udara sebagai blanko tidak boleh memiliki besar $> 0,4$ cm/tebal cairan.

2.6.2 Tipe Spektrofotometri UV-Vis

Secara umum tipe spektrofotometri UV-Vis diklasifikasikan menjadi 2 tipe yaitu single-beam dan double-beam (Suhartati, 2017).

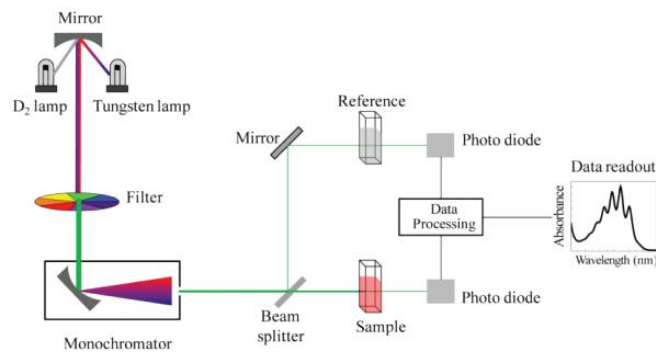
a) Single-beam



Gambar 2. 17 Spektrofotometri UV-Vis Single Beam

Single-beam digunakan untuk mengukur sinar ultra violet serta sinar tampak atau *visible*, dengan panjang gelombang paling rendah adalah 190-210 nm serta paling tinggi adalah 800-1000 nm.

b) Double-beam



Gambar 2. 18 Spektrofotometri UV-Vis Double Beam

Double-beam memiliki dua sinar yang terbentuk dari potongan cermin dengan bentuk V atau yang sering disebut dengan pemecah sinar. Sinar yang pertama akan melewati blanko sedangkan sinar kedua akan melewati sampel. Pada double-beam lampu deuterium untuk sinar UV sedangkan wolfram adalah sinar tampak atau visible. Monokromator pada spektrofotometri UV-Vis menggunakan lensa prima serta filter optik. Kuvet yang berisi sampel terbuat dari kuarsa atau gelas dengan ukuran yang bermacam-macam, serta detektor yang berfungsi sebagai penangkap cahaya dari sampel dan akan diubah menjadi arus listrik.

2.6.3 Syarat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk menganalisis sampel dengan berbagai bentuk seperti larutan dan gas. Secara umum sampel dalam bentuk larutan sering digunakan, sampel dalam bentuk larutan perlu dibuat dengan kondisi jernih sebelum melakukan analisis. Berikut syarat yang harus diperhatikan untuk sampel dalam bentuk larutan (Suhartati, 2017)

- 1) Sampel dan pelarut yang digunakan harus memiliki sifat larut yang baik.
- 2) Pelarut yang digunakan tidak memiliki sifat dapat menyerap sinar yang dipakai oleh sampel.
- 3) Memiliki *impurity* atau kemurnian yang tinggi.
- 4) Senyawa yang akan dianalisis tidak memiliki interaksi dengan pelarut yang digunakan.
- 5) Pelarut yang digunakan tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi serta tidak berwarna.

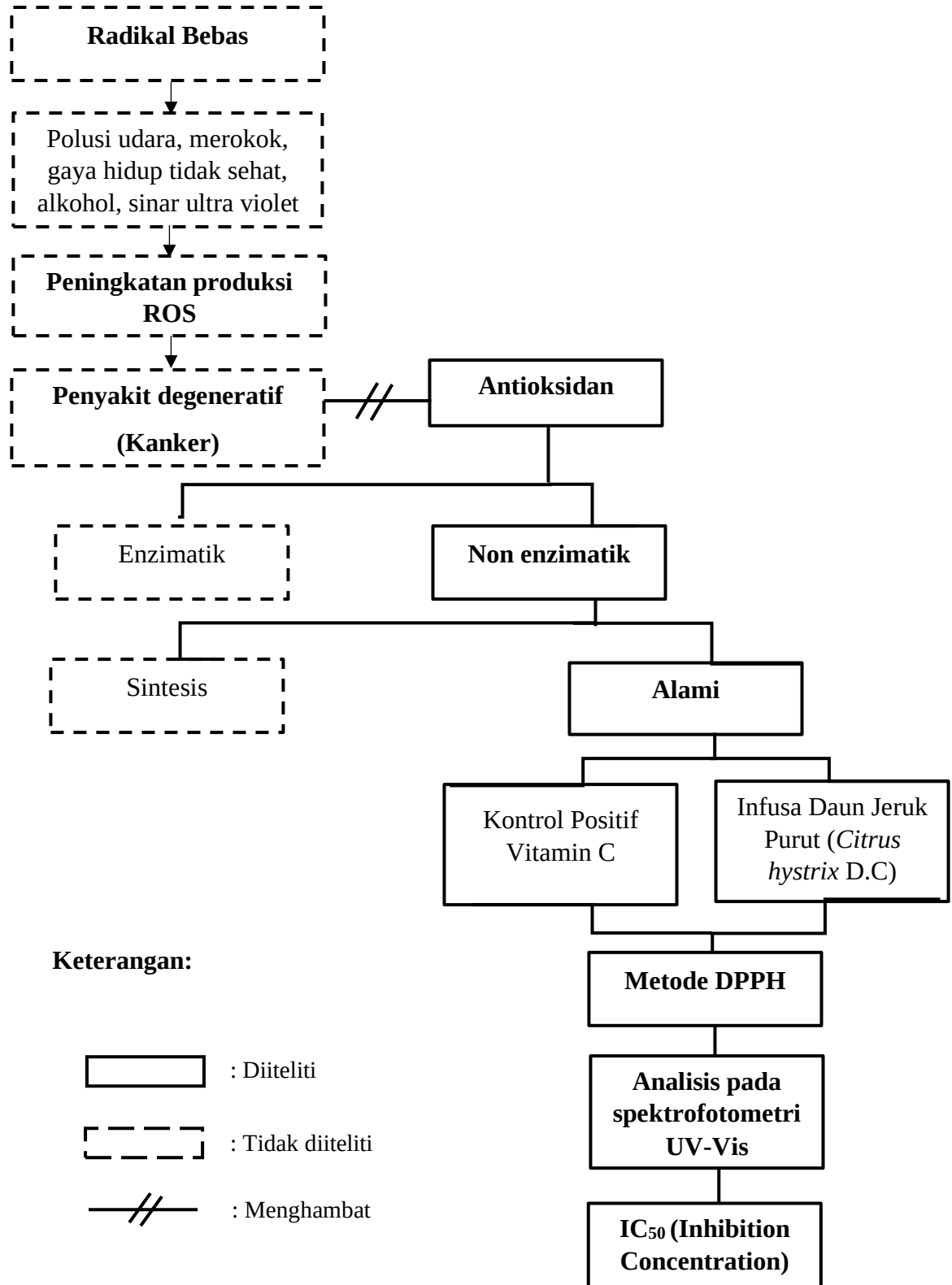
Pada tabel 2.3 merupakan pelarut yang memiliki penyerapan pada daerah UV, pelarut yang sering digunakan adalah metanol, air, etanol serta n-heksan.

Tabel 2. 3 Jenis Pelarut Pada Daerah UV

Pelarut	λ_{maks}, nm	Pelarut	λ_{maks}, nm
Asetonitril	190	n-heksan	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzena	285	Piridina	305

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Hipotesis

Hipotesis adalah jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berikut merupakan hipotesis penelitian:

H1: Terdapat perbedaan signifikan aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan vitamin C menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

H0: Tidak terdapat perbedaan signifikan aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan vitamin C menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometer UV-Vis

4.2 Variabel Penelitian

Variabel merupakan suatu hal dalam bentuk apa saja yang telah ditetapkan oleh peneliti dengan tujuan penggalan informasi sehingga akan diperoleh hasil dan kemudian bisa ditentukan kesimpulannya (Purwanto, 2019).

4.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau variabel independent merupakan variabel penyebab yang berdampak atau mempengaruhi variabel lain (Purwanto, 2019). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan seri konsentrasi 75 ppm; 100 ppm; 125 ppm; 150 ppm; 175 ppm.

4.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau variabel dependent merupakan variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas, serta variabel terikat memiliki besaran tergantung pada variabel bebas, sehingga perubahan sekian satuan pada variabel bebas akan berdampak pada perubahan sekian satuan juga pada variabel terikat (Purwanto, 2019). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai IC₅₀ yang menunjukkan aktivitas antioksidan.

4.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol atau variabel kontrol merupakan variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan, sehingga hubungan antara variabel independen dan dependen tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal yang tidak diteliti (Danuri dan Maisaroh, 2019). Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi daun jeruk purut, suhu pemanasan, pelarut yang digunakan, pengujian aktivitas antioksidan, konsentrasi radikal DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) serta waktu inkubasi.

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biologi Farmasi, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi Jember.

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian uji aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dimulai bulan Februari 2023.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan variabel yang di definisikan secara operasional dengan cara medeskripsikan variabel penelitian sehingga variabel tersebut akan bersifat spesifik dan terukur (*measurable*), peneliti mampu melakukan pengukuran atau observasi secara tepat pada suatu fenomena atau objek (Danuri dan Maisaroh, 2019). Definisi operasional dalam penelitian ini dapat ditunjukkan pada tabel 4.1

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Seri konsentrasi infusa daun jeruk purut	Proses ekstraksi serbuk simplisia dengan pelarut aquadest secara infundasi (dipanaskan 90 °C selama 15 menit), kemudian dibentuk seri konsentrasi larutan uji dalam satuan ppm	VI.MI = V2.M2 (Perbandingan konsentrasi infusa daun jeruk purut dengan pelarut metanol), sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, dan 175 ppm.	Mikropipet	Rasio	Diperoleh masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian diambil dengan cara dipipet dari larutan induk dan dimasukkan ke larutan sampel, sebagai berikut: 1. 75 ppm sebanyak 0,15 mL 2. 100 ppm sebanyak 0,2 mL 3. 125 ppm sebanyak 0,25 mL 4. 150 ppm sebanyak 0,3 mL 5. 175 ppm sebanyak 0,35 mL
Aktivitas Antioksidan	Hasil nilai absorbansi infusa daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) kemudian dianalisis nilai IC ₅₀ untuk menentukan persen peredaman radikal bebas	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet masing-masing konsentrasi infusa daun jeruk purut dengan konsentrasi (75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, dan 175 ppm).	Spektrofotometri UV-Vis	Ordinal	a. < 50µg/mL menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. b. 50-100 µg/mL menunjukkan aktivitas antioskidan kuat. c. 101-150 µg/mL menunjukkan aktivitas antioksidan sedang d. 151-200 µg/mL menunjukkan aktivitas antioksidan lemah.

4.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data merupakan tujuan utama penelitian dan langkah paling utama dalam mendapatkan data. Dalam mendapatkan data dapat dilakukan berbagai cara, salah satunya adalah dengan metode eksperimen pada laboratorium (Danuri dan Maisaroh, 2019).

4.6.1 Alat dan Bahan

a) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu UV-1900*), kuvet, panci infusa, blender, neraca analitik (*CHQ*), kompor (*Hi-coock*), corong kaca (merk), botol infusa kapasitas 100 mL, botol vial kapasitas 10 mL, batang pengaduk, kain flannel, kertas saring, waterbath (*memmert*), cawan porselen, thermometer, stopwatch, beaker glass (*pyrex*), labu ukur (100 mL, 25 mL dan 10 mL) (*iwaki*), tabung reaksi (*iwaki*), mikropipet 100-1000 μ L (*Dragon lab*), tips mikropipet.

b) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang di peroleh di Pasar Tanjung Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur, HCl pekat , besi (III) klorida 1%, pereaksi dragendorf, metanol p.a, aquadest, asam askorbat (vitamin C), alumunium foil, senyawa DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) (*Sigma Aldrich*).

4.6.2 Determinasi Daun Jeruk Purut

Determinasi tanaman merupakan tahapan yang dilakukan dalam penelitian untuk memastikan identitas dari tanaman yang akan digunakan sesuai. Tujuan dilakukan determinasi tanaman adalah untuk meminimalisir terjadinya kesalahan saat pengambilan sampel tanaman (Nurmalasari dkk., 2019).

Determinasi tanaman daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dilaksanakan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negri Jember.

4.6.3 Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Purut

Pada penelitian ini tanaman yang digunakan adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C). Daun jeruk purut yang digunakan adalah pada bagian daun yang berwarna hijau tua dan segar (Ratseewo dkk., 2016). Menimbang daun jeruk purut segar 100 gram, kemudian daun jeruk purut dicuci dengan air mengalir serta dilakukan sortasi basah, pengeringan daun jeruk purut menggunakan sinar matahari secara tidak langsung selama 3-4 hari saat cuaca cerah, kemudian setelah dalam keadaan kering dihaluskan menggunakan blender, sehingga akan dihasilkan simplisia daun jeruk purut dalam bentuk serbuk. Simpan simplisia dalam wadah kering dan bersih.

4.6.4 Pembuatan Infusa Daun jeruk Purut

Simplisia daun jeruk purut yang sudah dalam bentuk serbuk di ekstraksi dengan metode infusa, dengan cara menimbang 50 gram serbuk simplisia dengan pelarut aquadest 250 mL dan dilakukan pemanasan dengan suhu 90°C selama 15 menit ke dalam panci infusa dengan sesekali diaduk, kemudian disaring saat panas

dengan bantuan kain flannel dan corong kaca, hasil penyaringan ditampung ke dalam botol infusa yang sudah terkalibrasi 250 mL (Salim, 2018). Filtrat hasil infundasi daun jeruk purut dikentalkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50 °C (Yanuary, 2021), sehingga dihasilkan ekstrak kental daun jeruk purut (Sulastri dkk., 2020).

4.6.5 Perhitungan Rendemen Daun Jeruk Purut

Tujuan penentuan rendemen adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi oleh pelarut yang digunakan. Faktor yang mempengaruhi hasil rendemen adalah kepolaran pelarut yang digunakan serta ukuran simplisia. Semakin halus simplisia yang digunakan serta semakin besar bahan baku, akan diperoleh nilai rendemen yang semakin banyak (Egra dkk., 2019). Perhitungan % rendemen infusa daun jeruk purut dapat dilakukan dengan persamaan sebagai berikut (Septiani dkk., 2018) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak kental(gram)}}{\text{Berat Serbuk (gram)}} \times 100\%$$

Persen rendemen yang memenuhi persyaratan adalah tidak kurang dari 10% (Oktapiya dkk., 2022).

4.6.6 Skrining Fitokimia

a) Uji Flavonoid

Uji flavonoid pada ekstrak infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan cara menimbang 1 gram ekstrak kemudian ditambahkan 2 tetes HCl pekat, kemudian dipanaskan, perubahan warna merah, violet, jingga, hijau dan coklat menunjukkan hasil positif flavonoid (Wahyuni dan Nafi'ah, 2021).

b) Uji Alkaloid

Uji alkaloid pada ekstrak infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan cara menimbang 1 gram ekstrak kemudian ditambahkan 2 mL HCl pekat, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendorf. Hasil positif alkaloid ditandai dengan perubahan warna endapan jingga pada dragendorf (Mayasari, 2018).

c) Uji Tannin

Uji tannin pada ekstrak infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan cara menimbang 1 gram ekstrak, kemudian ditambahkan 10 mL aquadest dan saring filtrat dari hasil penyaringan ditambahkan 3-4 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Hasil positif tannin ditandai dengan perubahan warna menjadi biru-hitam (tannin pirogalol), hijau-hitam (tannin katekol) (Mayasari, 2018).

d) Uji Saponin

Uji saponin pada ekstrak infusa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi ekstrak sebanyak 1 gram kemudian ditambahkan aquadest panas sampai ekstrak terendam, kemudian kocok tabung reaksi tersebut selama 5 menit. Hasil positif saponin ditandai dengan munculnya busa dengan rentang waktu 5-10 menit secara konsisten (Handayani dkk., 2020).

4.6.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DDPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Tahapan yang dilakukan dalam penentuan aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut adalah penyiapan larutan DPPH, penentuan panjang gelombang maksimum (λ max) DPPH, penyiapan larutan uji infusa daun jeruk purut, penyiapan larutan kontrol positif (vitamin C), optimasi waktu inkubasi antara sampel dan DDPH serta pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas DPPH untuk mengetahui nilai IC₅₀.

a) Pembuatan Larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Pembuatan larutan DPPH yaitu dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 5 mg pada labu ukur 100 mL, dengan pelarut metanol p.a, sehingga akan diperoleh konsentrasi DPPH sebesar 50 ppm (Maruya Kusuma dkk., 2020). Larutan DPPH dihomogenkan kemudian disimpan pada botol gelap (Lembang dkk., 2020). Pada penelitian ini menggunakan botol coklat yang dilapisi aluminium foil.

b) Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Larutan DPPH dipipet sebanyak 3 mL dari larutan DPPH konsentrasi 50 ppm ke dalam kuvet, kemudian dibaca dengan panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang maksimum senyawa DPPH (Yanuary, 2021).

c) Pembuatan Larutan Uji Infusa Daun Jeruk Purut

Penentuan aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut dengan menggunakan 50 gram serbuk simplisia daun jeruk purut dan dilarutkan dalam 100 mL aquadest, kemudian dikentalkan menggunakan waterbath, sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental infusa daun jeruk purut dibuat dengan konsentrasi 5000 ppm, dengan penimbangan ekstrak kental 50 mg dan dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a, kemudian larutan induk 5000 ppm di homogenkan menggunakan ultrasonik. Dilakukan pengenceran seri konsentrasi induk ekstrak infusa daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi, yaitu 75 ppm; 100 ppm; 125 ppm; 150 ppm; 175 ppm kemudian ditambahkan metanol p.a 10 mL sampai tanda batas labu ukur (Salim, 2018). Cara preparasi larutan induk ekstrak air daun jeruk purut menjadi beberapa konsentrasi pada tabel 4.2 sebagai berikut.

Tabel 4. 2 Preparasi Larutan Induk Ekstrak Daun Jeruk Purut

Konsentrasi Induk (Ekstrak Air Daun Jeruk Purut)	Keterangan
5000 ppm (Induk Ekstrak)	Menimbang 50 mg ekstrak <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
75 ppm	Larutan induk ekstrak diambil 0,15 mL atau 150 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
100 ppm	Larutan induk ekstrak diambil 0,2 mL atau 200 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
125 ppm	Larutan induk ekstrak diambil 0,25 mL atau 250 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
150 ppm	Larutan induk ekstrak diambil 0,3 mL atau 300 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
175 ppm	Larutan induk ekstrak diambil 0,35 mL atau 350 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a

d) Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Vitamin C 2,5 mg ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 25 mL ke dalam labu ukur sampai tanda batas dengan metanol p.a, sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi vitamin C dengan berbagai konsentrasi, yaitu 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm (Alyidrus dan Nurjannah, 2021). Cara preparasi larutan induk pembanding vitamin C menjadi beberapa konsentrasi pada tabel 4.3 sebagai berikut.

Tabel 4. 3 Preparasi Larutan Induk Vitamin C

Konsentrasi (pembanding vitamin C)	Keterangan
100 ppm (Larutan induk vitamin C)	Menimbang vitamin C sebanyak 2,5 mg <i>ad</i> 25 mL metanol p.a
2 ppm	Larutan induk vitamin C diambil 0,2 mL atau 200 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
4 ppm	Larutan induk vitamin C diambil 0,4 mL atau 400 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
6 ppm	Larutan induk vitamin C diambil 0,6 mL atau 600 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
8 ppm	Larutan induk vitamin C diambil 0,8 mL atau 800 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a
10 ppm	Larutan induk vitamin C diambil 1 mL atau 1000 μ L (menggunakan mikropipet) <i>ad</i> 10 mL metanol p.a

e) Optimasi Waktu Inkubasi

Larutan DPPH 50 ppm dipipet 2000 μ L atau 2 mL dimasukkan ke dalam botol vial , serta direaksikan dengan kontrol positif (vitamin C) dan ekstrak dengan masing-masing 2000 μ L atau 2 mL. Kemudian diamati absorbansi dengan panjang gelombang maksimum pada menit ke-0 sampai menit ke-60, dengan selang waktu 5 menit (Wulandari dkk., 2020). Pada penentuan waktu optimasi paling optimal adalah dengan melihat nilai koefisien korelasi (r^2) dari data persamaan % inhibisi dan konsentrasi (ppm), semakin linier nilai koefisien korelasi maka semakin

optimum. Koefisien korelasi dikatakan linier jika nilai r^2 sama dengan 1 atau mendekati 1 (Setiani dkk., 2017). Proses reaksi antara sampel dan DPPH akan menunjukkan perubahan warna radikal DPPH yang memiliki karakteristik berwarna ungu akan memudar menjadi warna kuning (Rumangu dkk., 2019).

f) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan pembanding Vitamin C

Membuat larutan kontrol sebagai data absorbansi blanko dengan mengambil 2 mL metanol p.a sebagai blanko dan 2 mL larutan DPPH, kedua larutan tersebut diletakkan kedalam kuvet dan dimasukkan ke dalam spektrofotometri UV-Vis. Kemudian mengambil infusa daun jeruk purut dan pembanding vitamin C sebanyak 2 mL dari masing-masing larutan dari konsentrasi infusa dan jeruk purut (75 ppm; 100 ppm; 125 ppm; 150 ppm; 175 ppm) dan vitamin C (2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm dan 10 ppm), masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam botol vial ukuran 10 mL dan dilapisi dengan aluminium foil, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH konsentrasi 50 ppm. Proses tersebut dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, kemudian simpan pada tempat yang tidak terpapar cahaya matahari karena dapat mempengaruhi reaksi antara sampel dan radikal DPPH, didiamkan sesuai dengan waktu optimasi yang paling efektif. Mengamati absorbansi dengan panjang gelombang maksimum yang telah di optimasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian menentukan nilai IC_{50} dari infusa daun jeruk dan vitamin C (Rumangu dkk., 2019).

g) Analisis IC₅₀ dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50*) merupakan konsentrasi antioksidan (µg/mL), yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Prosentase % inhibisi ditentukan untuk mengetahui besarnya hambatan serapan radikal DPPH dengan mensubstitusikan nilai aborbansi blanko dan absorbansi sampel yang telah dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis ke dalam rumus sebagai berikut, (Handayani dkk., 2020):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A₀ = Aborbansi blanko

A_s = Absorbansi DPPH dan sampel

Dari hasil perhitungan % inhibisi pada masing-masing konsentrasi, selanjutnya adalah dibuat kurva regresi antara % inhibisi (sebagai sumbu y) dan konsentrasi sampel (sebagai sumbu x) sehingga akan diperoleh persamaan $y = bx + a$, data persamaan regresi linier tersebut diperoleh dari hasil penginputan data pada aplikasi *Microsoft Excel*. Nilai (y) merupakan prosentase hambatan 50, nilai (a) adalah potongan garis pada sumbu y, nilai (b) adalah slope, sedangkan nilai (x) adalah nilai IC₅₀ (Santoso dkk., 2022). Sehingga dapat digunakan rumus sebagai berikut (Handayani dkk., 2020):

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

Y = nilai 50% inhibisi

a = Potongan garis di sumbu Y

b = Slope (kemiringan)

x = Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Jika nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi rendah maka semakin besar aktivitas penghambatan radikal bebas, dan sebaliknya jika nilai IC_{50} semakin besar maka semakin kecil penghambatan pada senyawa radikal bebas (Rahman Oey dkk., 2022).

h) Teknik Analisa Data

Perbedaan data nilai IC_{50} dari infusa daun jeruk purut serta pembanding vitamin C akan di uji normalitas menggunakan (*Shapiro-Wilk*) sebagai syarat uji analisis T-test (*Independent Sample T-Test*). Data dinyatakan terdistribusi normal jika data menunjukkan hasil signifikan $p > 0,05$ sedangkan data terdistribusi homogen jika data menunjukkan hasil signifikan $p > 0,05$. Data IC_{50} dianalisis menggunakan uji T tidak berpasangan untuk melihat perbedaan IC_{50} antara infusa daun jeruk purut dengan vitamin C. Jika nilai signifikan $p < 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_1) diterima (Magdalena dan Angela Krisanti, 2019).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)

5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun jeruk purut dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1. Determinasi tanaman daun jeruk purut menyatakan bahwa tanaman daun jeruk purut yang digunakan untuk penelitian sudah dapat di validasi kebenarannya yaitu dengan spesies *Citrus hystrix* D.C yang tergolong dalam family *rutaceae*.

5.1.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun jeruk purut dilakukan di Pasar Tanjung Kabupaten Jember. Pengolahan sampel daun jeruk purut dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, penghalusan simplisia, dan didapat hasil akhir berupa serbuk halus sebanyak 50 g. Hasil dokumentasi dapat dilihat pada lampiran 2.

5.1.3 Ekstraksi (Hasil Nilai % Rendemen Infusa Daun Jeruk Purut)



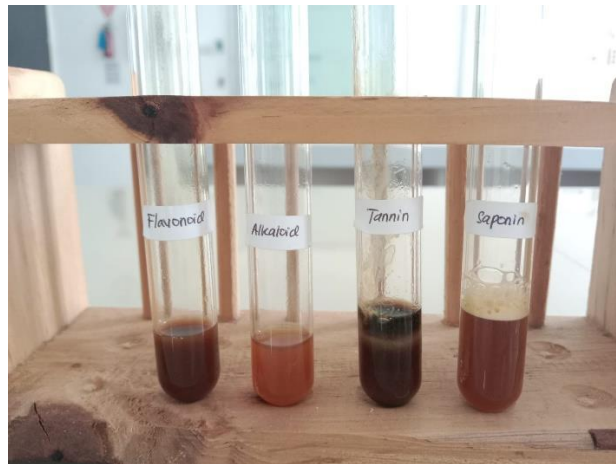
Gambar 5. 1 Ekstrak Kental Daun Jeruk Purut

Ekstraksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dilakukan menggunakan metode infusa dengan pelarut aquadest sebanyak 250 mL kemudian dipanaskan selama 15 menit dengan suhu 90°C, kemudian dikentalkan menggunakan waterbath sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 10,53 g dari 50 g serbuk simplisia daun jeruk purut, sehingga diperoleh rendemen 21,06%. Nilai % rendemen dapat dilihat pada tabel 5.1 dan pada lampiran 4, Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada lampiran 3

Tabel 5. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Jeruk Purut

Berat serbuk simplisia daun jeruk purut (g)	Berat ekstrak kental daun jeruk purut (g)	% Rendemen ekstrak daun jeruk purut
50 g	10,53 g	21,06%

5.1.4 Skrining Fitokimia



Gambar 5. 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui dan mengidentifikasi secara kualitatif jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa daun jeruk purut memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin yang dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5. 2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut

Senyawa	Pereaksi	Pustaka	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Flavonoid	HCL pekat	Menimbang 1 gram ekstrak kental + 2 tetes HCl pekat, positif flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna merah, coklat, violet, hijau dan jingga (Wahyuni dan Nafi'ah, 2021).	Larutan berwarna coklat	(+)
Alkaloid	HCl pekat + Reagen dragendrof	Menimbang 1 gram ekstrak + 2 mL HCl pekat + reagen ragendorf, positif alkaloid ditunjukkan dengan perubahan warna jingga atau orange (Mayasari, 2018).	Larutan berwarna jingga (orange)	(+)
Tannin	FeCl ₃	Menimbang 1 gram ekstrak + 5 mL aquadest saring filtrat dan ditambahkan FeCl ₃ 1% sebanyak 4 tetes, positif alkaloid ditunjukkan dengan perubahan warna biru-hitam dan hijau-hitam (Mayasari, 2018)	Larutan berwarna hijau kehitaman	(+)
Saponin	Aquadest panas	Menimbang 1 gram ekstrak kemudian ditambahkan aquadest panas sampai ekstrak terendam, kemudian kocok tabung selama 5 menit. Positif saponin ditunjukkan dengan terdapat busa yang konsisten selama 5 menit (Handayani dkk, 2020).	Timbul busa yang bertahan 5 menit pada larutan	(+)

5.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC₅₀)

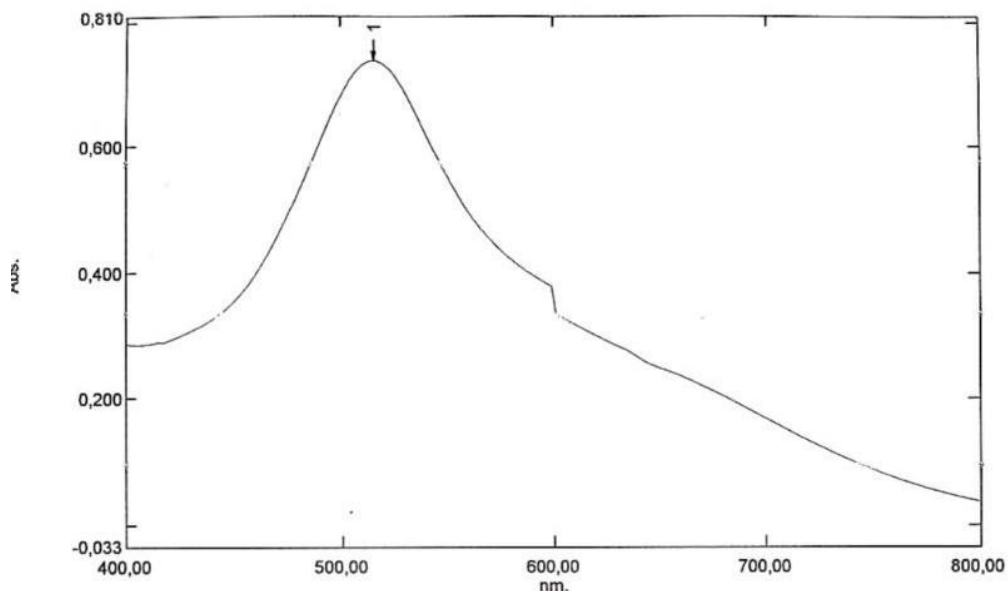
5.2.1 Optimasi Panjang Gelombang

Panjang gelombang DPPH ditentukan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis, optimasi dilakukan dengan mengambil DPPH 50 ppm sebanyak 3 mL. Hasil serapan maksimum menunjukkan hasil 0,739 pada panjang gelombang 516 nm. Hasil pengukuran optimasi panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 5.1 serta lampiran 6.

Spectrum Peak Pick Report

27/02/2023 10:43:17

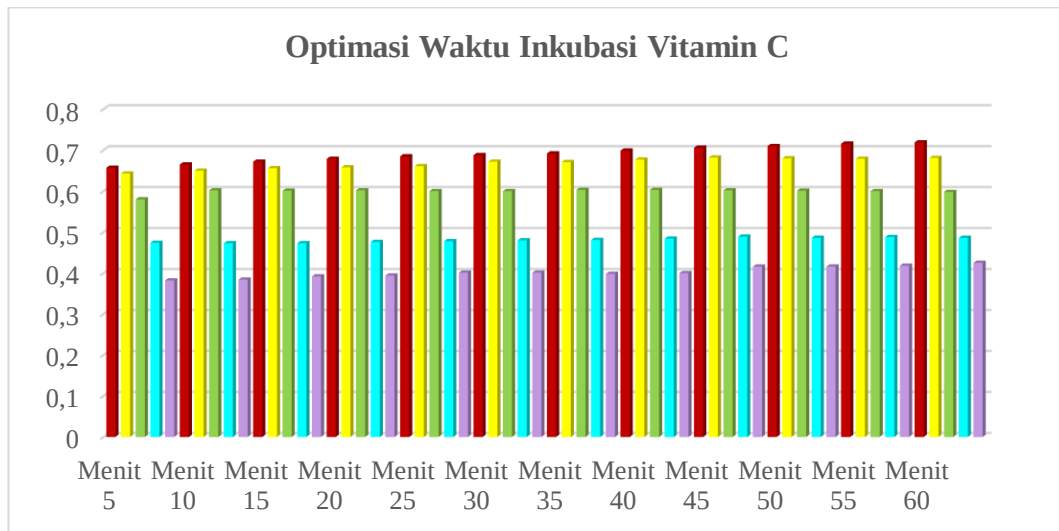
Data Set: Panjang gelombang max dhes - RawData



Gambar 5. 3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH 50 ppm

5.2.2 Optimasi Waktu Inkubasi Vitamin C

Optimasi waktu inkubasi pada vitamin C menunjukkan waktu optimum pada menit ke-40, hasil tersebut dapat dilihat pada nilai r^2 yang mendekati 1 dan nilai IC_{50} yang menunjukkan hasil paling kuat. Hasil absorbansi pada menit ke-5 sampai menit ke-60 untuk penentuan waktu inkubasi optimum vitamin C dapat dilihat pada gambar 5.2 dan lampiran 7.



Keterangan:

- 2 ppm
- 4 ppm
- 6 ppm
- 8 ppm
- 10 ppm

Gambar 5.4 Optimasi Waktu Inkubasi Vitamin C

Dari nilai absorbansi yang diperoleh dari pembacaan instrument spektrofotometri UV-Vis, kemudian di olah menjadi data % Inhibisi sehingga dapat diperoleh persamaan regresi linier $y=bx+a$, nilai r^2 serta nilai IC_{50} pada menit ke-5 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit. Hasil optimasi waktu inkubasi vitamin C memiliki waktu optimum pada menit ke-40 dengan nilai r^2 mendekati 1 dan nilai IC_{50} rendah yaitu dengan persamaan regresi $y= 5,352x - 9,6$ dengan nilai r^2 0,9800 serta nilai IC_{50} 11,1 $\mu\text{g/mL}$, hal tersebut bisa dilihat pada tabel 5.3 dan lampiran 7.

Tabel 5. 3 Optimasi Waktu Inkubasi Menit 5-60

Waktu (Menit)	Persamaan regresi	Nilai r^2	Nilai IC_{50} ($\mu g/mL$)
5	$y = 4,8685x - 3,783$	0,9568	11,04
10	$y = 4,9995x - 5,077$	0,9600	11,01
15	$y = 5,0264x - 5,7772$	0,96543	11,09
20	$y = 5,088x - 6,556$	0,970	11,1
25	$y = 5,0803x - 6,9424$	0,9751	11,20
30	$y = 5,1816x - 7,9822$	0,9737	11,19
35	$y = 5,2645x - 8,587$	0,97502	11,12
40	$y = 5,352x - 9,6$	0,9800	11,1
45	$y = 5,2295x - 9,733$	0,98222	11,42
50	$y = 5,28995x - 10,0383$	0,9847	11,3
55	$y = 5,3245x - 10,465$	0,9883	11,35
60	$y = 5,2975x - 10,521$	0,9889	11,24

5.2.3 Pengukuran Absorbansi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Pengujian aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak daun jeruk purut dilakukan dengan instrument spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm dan dengan waktu inkubasi selama 40 menit pada ruangan gelap pada suhu dingin. Dari hasil pembacaan pada spektrofotometri UV-Vis didapatkan data absorbansi vitamin C dan ekstrak daun jeruk purut, dari data nilai absorbansi tersebut akan diolah menjadi data % Inhibisi. Hasil % Inhibisi pada vitamin C dan ekstrak daun jeruk purut dalam dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5. 4 Hasil Absorbansi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (Replikasi)			$\bar{x} \pm SD$
		1	2	3	
Blanko		0,723	0,723	0,723	
Vitamin C	2 ppm	0,686	0,689	0,699	0,69133 $\pm$ 0,006807
	4 ppm	0,583	0,593	0,591	0,589 $\pm$ 0,005292
	6 ppm	0,327	0,331	0,325	0,327667 $\pm$ 0,003055
	8 ppm	0,196	0,195	0,198	0,196333 $\pm$ 0,001528
	10 ppm	0,039	0,025	0,027	0,030333 $\pm$ 0,007572
Blanko		0,807	0,807	0,807	
Ekstrak	75 ppm	0,563	0,561	0,562	0,562 $\pm$ 0,001
	100 ppm	0,458	0,474	0,455	0,46233 $\pm$ 0,010214
	125 ppm	0,343	0,312	0,319	0,32466 $\pm$ 0,016258
	150 ppm	0,289	0,292	0,298	0,293 $\pm$ 0,004583
	175 ppm	0,208	0,178	0,221	0,20233 $\pm$ 0,022053

Tabel 5. 5 Hasil % Inhibisi Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi (Replikasi)			$\bar{x} \pm SD$
		1	2	3	
Vitamin C	2 ppm	5,117	4,70	3,319	4,379 $\pm$ 0,941086
	4 ppm	19,36	17,99	18,25	18,534 $\pm$ 0,7277
	6 ppm	54,77	54,21	55,04	54,6734 $\pm$ 0,4233
	8 ppm	71,99	73,02	72,61	72,54 $\pm$ 0,5185
	10 ppm	94,6	96,54	96,26	95,8 $\pm$ 1,0486
Ekstrak	75 ppm	30,23	30,48	30,35	30,354 $\pm$ 0,12503
	100 ppm	43,24	41,26	43,61	42,7034 $\pm$ 1,2635
	125 ppm	57,49	61,33	60,47	59,764 $\pm$ 2,0152
	150 ppm	64,18	63,81	63,07	63,687 $\pm$ 0,56518
	175 ppm	74,22	77,94	72,61	74,924 $\pm$ 2,73372

Tabel 5. 6 Persamaan Regresi Linier Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Senyawa	Replikasi	Nilai Regresi linier	Nilai r^2
Vitamin C	1	$y = 11,579x - 20,3114$	0,99247
	2	$y = 11,963x - 22,326$	0,9922179
	3	$y = 12,0120x - 22,9768$	0,992457
Ekstrak	1	$y = 0,43568x - 0,588$	0,992
	2	$y = 0,46988x - 3,771$	0,980982
	3	$y = 0,41592x + 2,032$	0,97483

5.2.4 Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Vitamin C dan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Nilai absorbansi pada larutan DPPH dan sampel dihitung sebagai data % inhibisi. Data % inhibisi disubstitusikan ke dalam persamaan regresi $y = bx + a$ sebagai sumbu y (ordinat) serta data konsentrasi sampel (ppm) sebagai sumbu x (absis), dari perhitungan tersebut akan didapatkan nilai IC₅₀. Pada pengujian aktivitas antioksidan vitamin C dihasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada replikasi ke-2 dengan nilai IC₅₀ sebesar 6,0594 µg/mL dengan rata-rata dan SD sebesar $6,05086 \pm 0,00833$, seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.7 dan terlampir pada lampiran 11.

Tabel 5. 7 Nilai IC₅₀ Vitamin C

Replikasi (Vitamin C)	IC ₅₀ (µg/mL)	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	6,0719	$6,05086 \pm 0,00833$	Sangat Kuat
2	6,0594		
3	6,0752		

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jeruk purut tertinggi dihasilkan pada replikasi ke-2 dengan nilai IC₅₀ sebesar 114,4 µg/mL dengan rata-rata dan SD sebesar $115,273 \pm 0,85096$, seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.8 dan terlampir pada lampiran 10.

Tabel 5. 8 Nilai IC₅₀ Ekstrak Daun Jeruk Purut

Replikasi (Ekstrak Daun Jeruk Purut)	IC ₅₀ (µg/mL)	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	116,1	$115,273 \pm 0,85096$	Sedang
2	114,4		
3	115,32		

5.2.5 Hasil Analisis Data

Perbedaan data nilai IC_{50} infusa daun jeruk purut dan vitamin C diolah menggunakan aplikasi SPSS. Untuk mengetahui perbedaan nilai IC_{50} dilakukan uji *independent T-test*. Syarat untuk melakukan *independent T-test* adalah melakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas. Data terdistribusi normal jika nilai *sig value* $> 0,05$, dimana nilai *sig value* dari infusa daun jeruk purut adalah 0,909 dan vitamin C 0,381. Data terdistribusi homogen jika nilai *sig value* $> 0,05$, dimana *sig value* yang dihasilkan adalah 0,98. Dari hasil analisa statistik dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, sehingga bisa dilakukan uji *independent T-test*. Data pada uji *independent T-test* dapat dikatakan beda signifikan jika nilai *p value* $< 0,05$, hasil dari uji *independent T-test* pada penelitian ini adalah 0,00, hasil interpretasi data statistik dapat dilihat pada lampiran 13. Dapat disimpulkan bahwa H_1 diterima dan H_0 ditolak, dikarenakan uji aktivitas antioksidan infusa daun jeruk purut dan vitamin C memiliki perbedaan yang signifikan.

Senyawa	$\bar{x} \pm SD$	<i>p-value</i>
Vitamin C	$6,0688 \pm 0,00833$	0.000*
Ekstrak	$115,273 \pm 0,85096$	

* $p < 0,05$

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)

6.1.1 Ekstraksi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)

Tanaman daun jeruk purut diperoleh secara acak di Pasar Tanjung Kabupaten Jember. Tanaman yang telah diperoleh dipastikan kebenarannya dengan melakukan determinasi tanaman di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember. Determinasi tanaman perlu dilakukan karena proses determinasi dapat meminimalisir kesalahan dan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman saat pengumpulan bahan (Sawiji dkk., 2020), hal tersebut juga merupakan salah satu tahapan dari penelitian ini, pada hasil determinasi menyatakan bahwa daun jeruk purut yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan identitas tanaman yang sesuai dan memiliki nama spesies *Citrus hystrix* D.C.

Tanaman daun jeruk purut yang telah diperoleh secara acak dilakukan tahap pensortiran, hal tersebut bertujuan agar daun jeruk purut terpisah dari bagian yang tidak digunakan serta bebas dari pengotor, pensortiran perlu dilakukan karena hasil pensortiran mempengaruhi mutu simplisia, karena dalam tanaman terdapat bahan-bahan asing seperti bagian daun yang telah rusak, tanah, serangga, serta bagian yang tidak digunakan, bahan asing tersebut dapat memicu pertumbuhan mikroba sehingga dapat mempengaruhi mutu simplisia (Indriaty dkk., 2021). Setelah proses pensortiran selesai kemudian dilakukan pencucian daun jeruk purut dengan air bersih seperti air sumur, air PAM dan sumber mata air. Tujuan dilakukan pencucian adalah untuk memisahkan bahan pengotor seperti tanah atau kotoran lain (Indriaty

dkk., 2021). Kemudian dilakukan proses pengeringan daun jeruk purut dengan menggunakan sinar matahari selama 4 hari. Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dan meminimalisir pertumbuhan mikroba serta menghentikan rekasi enzimatis sehingga sampel akan memiliki waktu simpan yang lebih lama dan stabil (Fajriyah dan Qulub, 2018). Pengeringan dengan sinar matahari memiliki kelebihan dibandingkan dengan pengeringan oven, hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Hurawati dkk (2016) bahwa kadar air lebih banyak berkurang menggunakan pengeringan sinar matahari dibandingkan dengan pengeringan pada oven, dimana kadar air menggunakan sinar matahari sebesar 14,76% dan kadar air menggunakan oven sebesar 23,66% (Huriawati dkk., 2016). Proses pengeringan yang baik dan sudah dikatakan selesai jika kandungan air yang terdapat dalam tanaman menghilang, warna daun jeruk purut berubah menjadi kecoklatan, mudah dipatahkan (Sutriyono dan Ali, 2018). Setelah dilakukan proses pengeringan kemudian dilakukan proses penghalusan simplisia daun jeruk purut dengan menggunakan blender, Tujuan penghalusan adalah agar simplisia daun jeruk purut memiliki ukuran partikel yang lebih kecil, sehingga semakin besar kontak simplisia dengan pelarut saat dilakukan proses ekstraksi, hal tersebut dapat mempermudah pelarut untuk menarik senyawa-senyawa dari simplisia (Husni dkk., 2018).

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara menimbang serbuk simplisia daun jeruk purut sebanyak 50 g dengan pelarut aquadest 250 mL dengan menggunakan metode ekstraksi infusa dengan suhu 90°C selama 15 menit (Wijaya dkk., 2018). Prosedur kerja ekstraksi infusa adalah dengan memasukkan serbuk simplisia daun jeruk purut 50 g pada panci atas (A) kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 250 mL, pada

panci bawah (B) diletakkan air yang sudah dipanaskan terlebih dahulu, kemudian dipanaskan sampai dengan suhu 90°C selama 15 menit. Kelebihan metode ekstraksi infusa adalah metode ekstraksi secara sederhana dan prosedur ekstraksi sesuai dengan pembuatan obat tradisional yang dikenal oleh masyarakat. Prinsip penarikan senyawa kimia adalah *like dissolve like* dimana senyawa polar akan tersari dengan pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan tersari dengan pelarut non polar. Salah satu contoh senyawa yang larut dalam pelarut polar adalah flavonoid, sebagian besar senyawa flavonoid berbentuk glikosida yang bersifat dapat larut dalam pelarut air serta sedikit larut dalam pelarut organik, sehingga flavonoid dapat tersari dengan metode infusa (Firmanto dkk., 2023).

Proses pengentalan ekstrak daun jeruk purut dilakukan untuk mengetahui nilai % rendemen. Proses pengentalan ekstrak menggunakan waterbath dengan suhu 50°C (Rumayar dkk., 2020). Pada proses pengentalan menggunakan suhu 50°C dikarenakan senyawa kimia yang terdapat dalam daun jeruk purut memiliki titik didih terendah sebesar 50°C sehingga senyawa yang terkandung dalam daun jeruk purut tidak mengalami kerusakan. Flavonoid memiliki titik didih $\pm 55^\circ\text{C}$ dan tidak mengalami kerusakan sampai suhu 90°C (Wahyuni dkk., 2018), alkaloid memiliki titik didih 95-97°C dan tahan pada suhu 138°C (Majdiyah dkk., 2021), tannin memiliki titik didih 60°C dan mengalami kerusakan pada suhu 80°C (Zsa dan Oematan, 2015) serta saponin memiliki titik didih 158°C dan pada proses ekstraksi saponin tahan pada suhu 70°C (Santosa dkk., 2018).

6.1.2 Nilai % Rendemen Infusa Daun Jeruk

Ekstrak kental daun jeruk purut yang diperoleh adalah sebanyak 10,53 g dari bobot simplisia 50 g dengan nilai rendemen sebesar 21,06% dan ekstrak kental berwarna coklat. Nilai % rendemen diperoleh dengan membandingkan berat ekstrak kental (gram) dengan berat simplisia (gram) kemudian dikalikan 100 sehingga nilai rendemen akan berbentuk persen (Wijaya dkk., 2018). Nilai rendemen berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi sehingga penentuan nilai % rendemen pada penelitian ini perlu dilakukan. Semakin besar nilai rendemen maka mutu ekstrak dikategorikan sangat baik, syarat nilai rendemen yang dikategorikan sangat baik adalah jika nilai rendemen lebih dari 10% (Anjaswati dkk., 2021), pada penelitian ini dihasilkan rendemen 21,06% sehingga dapat dikategorikan sangat baik. Metode esktraksi infusa daun jeruk purut memiliki nilai rendemen yang lebih baik dibandingkan dengan metode esktraksi lain, hal tersebut dapat dilihat pada tabel 6.1. Faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai % rendemen adalah dari jenis metode ekstraksi serta pelarut yang digunakan (Wijaya dkk., 2018).

Tabel 6. 1 Nilai % Rendemen Daun Jeruk Purut Berbagai Metode Ekstraksi

Peneliti	Tahun	Judul Penelitian	% Rendemen	Metode ekstraksi	Pelarut
Sari dan Ayati	2018	Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	5,38%	Maserasi	Etanol 70%
Zuhria dkk	2017	Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i>) Dan Bentuk Liposomnya	9,85%	Maserasi	Etanol 96%
Astriani dan Marchelia	2021	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hytrix</i>) Terhadap <i>Escheria coli</i>	14%	Perkolasi	Etanol 96%
Handayani dkk	2020	Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC) dan Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i> (christm) swingle) Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH	11,313%	Maserasi	Etanol 96%

6.1.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terlarut saat proses ekstraksi. Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia pada senyawa flavonoid, alkaoid, tannin dan saponin dikarenakan senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan (Nurulita dkk., 2019). Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin. Menurut hasil penelitian lain menunjukkan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol daun jeruk purut dengan metode maserasi mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin (Handayani dkk., 2020), serta dengan metode perkolasi ekstrak etanol daun jeruk purut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin serta saponin (Astriani dan Marcellia, 2021). Perbedaan hasil skrining fitokimia

dikarenakan kepekaan metode uji yang digunakan terhadap senyawa kimia yang terkandung dari sampel yang diuji serta dapat dipengaruhi oleh ketinggian tempat tumbuh tanaman serta karakteristik tanah (Purwati dkk., 2017).

Ekstrak daun jeruk purut dikatakan positif flavonoid jika penambahan HCl pekat memberikan perubahan warna coklat dikarenakan senyawa flavonoid pada ekstrak daun jeruk purut membentuk aglikon (agikon polihidroksi dan polimetoksi) serta membentuk glikosida (Wahyuni dkk., 2018). Ekstrak daun jeruk purut dikatakan positif alkaloid jika penambahan peraksi dragendorf menunjukkan perubahan warna jingga, perubahan warna tersebut dikarenakan atom nitrogen yang ada pada alkaloid daun jeruk purut membentuk ikatan kovalen dengan K^+ sehingga terjadi perubahan warna senyawa uji menjadi warna jingga (Ayuchecaria dkk., 2020). Ekstrak daun jeruk purut dikatakan positif tannin dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman dikarenakan senyawa tannin membentuk senyawa kompleks dengan penambahan pereaksi ion Fe^{3+} (Purwati dkk., 2017). Ekstrak daun jeruk purut dikatakan positif saponin dengan terbentuknya busa yang konsisten, hal tersebut dikarenakan keberadaan glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang akan terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lain (Purwati dkk., 2017).

6.2 Analisis Nilai % Inhibisi (IC_{50}) Ekstrak Daun Jeruk Purut

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas terhadap senyawa radikal DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dengan sampel ekstrak daun jeruk purut menggunakan metode ekstraksi infusa. Tujuan pengujian aktivitas antioksidan adalah untuk menentukan nilai IC_{50} , nilai tersebut akan

menunjukkan kemampuan ekstrak daun jeruk purut dalam menghambat radikal bebas, semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Lady dkk., 2023). Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa uji untuk menghambat senyawa radikal sebesar 50% (Utari, 2017). Metode DPPH memiliki prinsip kerja yang didasarkan pada penyumbangan elektron pada senyawa radikal bebas sehingga akan menghasilkan radikal DPPH yang bersifat non radikal, reaksi tersebut menyebabkan pengurangan ikatan rangkap terkonjugasi sehingga akan mengakibatkan perubahan warna dari ungu tua menjadi ungu muda sampai kuning, semakin kuat % penghambatan semakin pudar warna yang dihasilkan (Munteanu dan Apetrei, 2021).

6.2.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tahap pertama yang dilakukan pada penelitian ini adalah optimasi panjang gelombang maksimum DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum merupakan serapan tertinggi. Penentuan panjang gelombang maksimum pada senyawa DPPH bertujuan untuk mengetahui serapan maksimal serta meningkatkan akurasi dan meminimalkan kesalahan serta untuk mengukur perubahan serapan pada setiap konsentrasi (Damayanti dan Kurniawati, 2017). Hasil optimasi panjang gelombang maksimum pada penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum (λ_{max}) sebesar 516 nm dengan serapan 0,739 dapat dilihat pada lampiran 1. Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan bervariasi. Menurut penelitian Yuliani (2015) menyatakan bahwa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 517,6

nm dengan absorbansi 0,975, menggunakan tipe spektrofotometri UV-Vis shimadzu W-1700 (Yuliani dan Dienina, 2015). Pada penelitian Salim (2018) menyatakan bahwa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm dengan absorbansi 0,750, menggunakan tipe spektrofotometri UV-Vis T70 (Salim, 2018). Pada penelitian Kristiningrum (2018) menyatakan bahwa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm dengan absorbansi 0,800, menggunakan tipe spektrofotometri Hitachi U-1800 (Kristiningrum dkk., 2018). Perbedaan panjang gelombang maksimum senyawa DPPH dikarenakan beberapa faktor yaitu jenis instrument spektrofotometer yang digunakan, pelarut, konsentrasi DPPH serta jenis kuvet (Rahayu dkk., 2021).

6.2.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Tahapan berikutnya adalah optimasi waktu inkubasi optimum atau *operating time*, tahapan tersebut diuji untuk menentukan waktu optimum yang dibutuhkan agar senyawa DPPH dengan senyawa uji bereaksi secara optimum, tahapan ini dilakukan untuk meminimalisir kesalahan serta dapat diketahui secara pasti waktu terbaik penghambatan DPPH serta untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan pembanding (vitamin C) tetap habis bereaksi (Agustiarini dkk., 2022). Pengujian waktu inkubasi optimum diukur dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan panjang gelombang maksimum 516 nm selama menit ke-5 sampai menit ke-60. Hasil optimasi waktu inkubasi optimum pada penelitian ini didapatkan pada menit ke-40, hal tersebut dapat dilihat pada tabel 5.3 dan lampiran 7. Cara penentuan waktu optimum yaitu dengan menghitung nilai koefisien korelasi (r^2) yang mendekati 1 (linier) dan nilai IC_{50} terendah (Kristiningrum dkk., 2018). Hasil dari

optimasi waktu inkubasi sesuai dengan penelitian Miranti (2018) menyatakan bahwa vitamin C memiliki waktu optimum pada menit ke-40 hal tersebut yang menyebabkan nilai IC_{50} yang dihasilkan pada menit ke-40 memiliki nilai IC_{50} yang lebih baik dan nilai r yang mendekati 1 dibandingkan dengan menit yang lain.

6.2.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Tahapan berikutnya adalah pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jeruk purut dan pembanding terhadap senyawa radikal DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jeruk purut dan pembanding dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dengan menggunakan panjang gelombang 516 nm dan waktu inkubasi selama 40 menit. Pengujian dengan replikasi bertujuan untuk meminimalisir kesalahan serta meningkatkan presisi, akurasi dan validitas pada senyawa sampel (Kumalasari dkk., 2018).

Pada penelitian ini digunakan 5 jenis konsentrasi untuk membentuk kurva baku sehingga akan didapatkan persamaan regresi linier dan dapat digunakan untuk menghitung % peredaman radikal bebas. Jenis konsentrasi pada sampel dapat mempengaruhi absorbansi dan nilai % inhibisi, semakin besar konsentrasi sampel (ppm) maka semakin kecil nilai absorbansi dan akan semakin besar nilai % inhibisi (Hidayah dan Anggarani, 2022). Konsentrasi vitamin C yang digunakan pada penelitian ini adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm (Sabaan dkk., 2022). Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut yang digunakan pada penelitian ini adalah 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm dan 175 ppm, penggunaan konsentrasi sama yang dilakukan oleh Salim (2018) dengan metode ekstraksi infusa (Salim, 2018). Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi berbeda pada ekstrak daun jeruk purut

dan vitamin C dikarenakan vitamin C memiliki potensi antioksidan yang termasuk dalam antioksidan non enzimatis dan tergolong antioksidan dalam jenis *vitamins* dan *derivatives*, sehingga dengan konsentrasi kecil sudah dapat memberikan aktivitas antioksidan (Andarina dan Djauhari, 2017). Konsentrasi ekstrak lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dikarenakan ekstrak daun jeruk purut merupakan sampel yang masih dalam bentuk ekstrak serta potensi sebagai antioksidan belum diketahui. Inkubasi senyawa uji (ekstrak daun jeruk purut/vitamin C) dilakukan selama 40 menit dengan kondisi tertutup rapat, terhindar dari cahaya serta menggunakan suhu dingin, hal tersebut bertujuan untuk menghindari kerusakan DPPH serta menghindari penguapan pada pelarut yaitu metanol p.a, karena penguapan pelarut dan kerusakan DPPH akan mempengaruhi proses reaksi yang sedang berlangsung (Kemuning dkk., 2022). Reaksi antara senyawa uji dan DPPH akan mengalami perubahan warna, DPPH yang semula berwarna ungu akan menjadi warna ungu pudar sampai dengan warna kuning, hal tersebut dikarenakan senyawa uji mengurangi ikatan rangkap terkonjugasi, dan mendonorkan atom OH ke sisi radikal bebas, sehingga semakin tinggi konsentrasi senyawa uji maka semakin rendah absorbansi yang tampak, hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang ditunjukkan pada lampiran 10 dan 11. Perubahan warna pada setiap konsentrasi yang telah terinkubasi dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis, perubahan warna dapat dilihat pada gambar yang terletak pada lampiran 9.

Data absorbansi senyawa uji (ekstrak daun jeruk purut/vitamin C) dapat dihitung sebagai % inhibisi dan akan didapatkan persamaan regresi linier yang diperoleh dari data % inhibisi (sumbu y) dan konsentrasi sampel (sumbu x) sehingga nilai IC_{50} dapat ditentukan (Santoso dkk, 2022). Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa uji dapat dilihat pada tabel 5.7 dan 5.8. Pada grafik persamaan regresi linier dapat dilihat bahwa nilai r (koefisien korelasi) pada vitamin C dengan 3 replikasi sebesar 0,99247, 0,992217, 0,992457, serta nilai r pada ekstrak daun jeruk purut dengan 3 replikasi sebesar 0,992, 0,98098, 0,97483. Nilai r yang baik adalah dengan nilai mendekati 1, sehingga semakin mendekati maka nilai koefisien korelasi semakin baik. Koefisien korelasi memenuhi kriteria jika nilai r lebih dari 0,98 dan dikatakan sangat kuat jika nilai r lebih dari 0,9 tetapi kurang dari 1,0, dari hasil penelitian yang telah dilakukan nilai $r > 0,90$, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi serta % inhibisi memiliki korelasi yang baik (Latu dan Suleman, 2023). Pada ketiga replikasi senyawa uji (ekstrak daun jeruk purut/vitamin C) memiliki nilai r^2 yang baik sehingga terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan peningkatan nilai % inhibisi. Grafik dapat dilihat pada lampiran 9. Nilai IC_{50} pada vitamin C dan ekstrak daun jeruk purut adalah dengan rata-rata $6,05086 \pm 0,02961$ dan $115,273 \pm 0,85096$. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan pada vitamin C adalah sangat kuat sedangkan pada ekstrak daun jeruk purut dikategorikan sedang, parameter aktivitas peredaman radikal bebas dapat dilihat pada tabel 2.1.

Pada hasil penelitian menurut Sari dan Ayati (2018) pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun jeruk purut dengan metode maserasi didapatkan nilai IC_{50} sebesar 187,36 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori sedang, sedangkan pada penelitian Handayani dkk (2020) pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% dengan metode maserasi didapatkan nilai IC_{50} sebesar 228,695 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori lemah. Pada hasil penelitian menurut Salim (2018) dengan pengujian aktivitas antioksidan vitamin C, menggunakan pelarut metanol p.a menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 13,22 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sangat kuat. Pada penelitian Konda dkk (2020) aktivitas antioksidan vitamin C dengan pelarut metanol menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 8,03 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sangat kuat. Perbedaan kekuatan aktivitas antioksidan dikarenakan metode ekstraksi yang digunakan, pelarut, konsentrasi senyawa uji dan konsentrasi radikal DPPH yang digunakan berbeda. Faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan adalah lama ekstraksi yang dilakukan dikarenakan dapat mempengaruhi kandungan senyawa kimia sehingga akan terjadi degradasi (Sumarlan dkk., 2018).

Perbandingan nilai IC_{50} dari ekstrak daun jeruk purut dan vitamin C menunjukkan bahwa vitamin C memiliki nilai IC_{50} lebih rendah dibandingkan ekstrak daun jeruk purut sehingga aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk purut. Hal tersebut dikarenakan ekstrak daun jeruk purut masih berbentuk ekstrak sehingga ekstrak masih belum murni yang berarti masih terdapat berbagai komponen senyawa lain (Sami dkk., 2019). Pada penelitian ini belum diketahui berapa prosentase total senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun jeruk purut. Aktivitas antioksidan dikatakan sangat

kuat pada vitamin C dikarenakan vitamin C merupakan salah satu jenis antioksidan pada golongan *derivates and vitamins* yang tergolong antioksidan non enzimatik, sehingga potensi antioksidan dari vitamin C sudah dipastikan sangat baik (Munteanu dan Apetrei, 2021). Sehingga pada penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai baku pembanding atau larutan standar pada metode peredaman radikal bebas DPPH.

Pada penelitian ini ekstrak daun jeruk purut positif mengandung flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin, senyawa metabolit sekunder tersebut dapat berpotensi sebagai antioksidan. Flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat pembentukan enzim yang membentuk ROS (*Reactive Oxygen Species*), sehingga meningkatkan proteksi dari antioksidan serta memiliki mekanisme kerja melindungi lipid dari kerusakan oksidatif dengan cara menghambat peningkatan kadar MDA (Malondialdehid) melalui peroksidasi lipid (Lestari dan Kurniawaty, 2016). Alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan dikarenakan dalam struktur alkaloid mengandung atom nitrogen, atom nitrogen dapat berfungsi sebagai penghambat radikal bebas berlebih dalam tubuh (Hasan dkk., 2022). Tannin memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan secara biologis dikarenakan tannin memiliki fungsi sebagai penghelat logam serta protein (Noer dkk., 2018). Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan karena saponin dapat membentuk intermediet hiperoksida sehingga mampu menghambat superoksida, reaksi tersebut dapat mencegah kerusakan biomolekuler radikal bebas (Hasan dkk., 2022). Pada penelitian ini dihasilkan bahwa infusa daun jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai $IC_{50} 115,273 \pm 0,85096 \mu\text{g/mL}$, hasil nilai IC_{50}

aktivitas antioksidan infusa daun jeruk lebih baik dibandingkan dengan pengujian aktivitas antioksidan infusa daun ungu oleh Salim tahun 2018, dan lebih baik dibandingkan dengan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% oleh Sari dan Ayati tahun 2018 serta pada penelitian Handayani dkk tahun 2020 pada pengujian ekstrak etanol 96% daun jeruk purut.

BAB 7 KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa uji aktivitas antioksidan daun jeruk purut adalah sebagai berikut:

1. Nilai % rendemen infusa daun jeruk purut sebesar 21,06 % yang tergolong sangat baik.
2. Nilai aktivitas antioksidan infusa daun jeruk (*Citrus hystrix* D.C) menggunakan metode DPPH adalah dengan rata-rata nilai IC_{50} sebesar $115,273 \pm 0,85096$ dengan kategori aktivitas antioksidan sedang, sedangkan uji aktivitas antioksidan vitamin C adalah rata-rata nilai IC_{50} $6,05086 \pm 0,02961$ dengan kategori aktivitas antioksidan sangat kuat.
3. Hasil analisis perbandingan aktivitas antioksidan antara infusa daun jeruk purut dan vitamin C menunjukkan bahwa memiliki perbedaan yang signifikan.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar senyawa total dari flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ekstraksi panas lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Selvia, N., Rosidah, R., dan Ismanita, S. 2022 . *Analisis Kafein Menggunakan Metode UV-Vis: Tinjauan Literatur*. 4, 2556–2560.
- Adam, Z., Razali, R., Arapoc, D. J., Aziz, A. H. A., dan Marsiddi, N. A. 2021 . DPPH radical scavenging and folin-ciocalteu assays : simple and reliable methods to quantify antioxidant activity and total phenolic content. *Nuclear Technical Conventions*, July, 8.
- Adlini, M. N., dan Umaroh, H. K. 2021 . Karakterisasi Tanaman Jeruk (Citrus sp.) Di Kecamatan Nibung Hangus Kabupaten Batu Bara Sumatera Utara. *Klorofil:: Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 4(1), 48. <https://doi.org/10.30821/kfl:jibt.v4i1.8921>.
- Ainia, N. 2017 . Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (Momordica charantia L.) dan Pengaruh Lama Terapi dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus (Rattus norvegicus) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi of Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang*, 1–161.
- Alyidrus, R., dan Nurjannah, A. S. I. S. 2021 . Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sawo Manila (Acrhras zapota L.). *XVI*(1), 1–7.
- Amin, R. S. *et al.* (2022) ‘Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat J-Abdi Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat’, 1(11), pp. 3123–3132.
- Andarina, R., dan Djauhari, T. 2017 . Antioksidan Dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 39–48.
- Anuar, A., Awang, M. A., dan Tan, H. F. 2021 . Impact of solvent selection on the extraction of total phenolic content and total flavonoid content from kaffir lime leaves: Ultrasonic assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE).

- Apak, R. 2019 . Current Issues in Antioxidant Measurement., *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67(33), 9187–9202. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03657>.
- Ardilla, D., Taufik, M., Tarigan, D. M., Thamrin, M., Razali, M., dan Siregar, H. S. 2018 . Analisis Lemak Babi Pada Produk Pangan Olahan Menggunakan Spektroskopi UV – Vis. *Agrintech: Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, 1(2), 111–116. <https://doi.org/10.30596/agrintech.v1i2.2011>.
- Ayuni, B. F. 2022. *Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri UV-Vis*. 7(02), 155–164.
- Azwar, Y. *et al.* (2022) ‘Penanaman Tanaman Obat Keluarga (Toga)’, *Jurnal ABDIMAS-HIP : Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), pp. 11–16. doi: 10.37402/abdimaship.vol3.iss1.162.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., dan Suhendra, L. 2019 . Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>.
- Damanik, W. S., dan Nasution, A. R. 2021 . Vega ZR Tahun 2011 Guna Mengurangi Polusi Udara FT-UMSU FT-UMSU. *Jurnal Rekayasa Material,Manufaktur Dan Energi*, 4(2), 160–167.
- Danuri, dan Maisaroh, S. 2019. *Metodologi penelitian*.
- Egra, S., Mardhiana, ., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., dan Mitsunaga, T. 2019 . Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 26. <https://doi.org/10.21107/grovigor.v12i1.5143>.

- Fadaka, A. O., Ajiboye, B. O., Adewale, I., Ojo, O. A., Oyinloye, B. E., dan Okesola, M. A. 2019 . Significance of Antioxidants in the Treatment and Prevention of Neurodegenerative Diseases. *The Journal of Phytopharmacology*, 8(2), 75–83. <https://doi.org/10.31254/phyto.2019.8210>.
- F.,Kurniasih, E., Adriana, dan Rusydi. 2019 . Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.30811/vokasi.v3i1.960>.
- Fendri, S. T. J., Putri, N. R., dan Putri, N. P. 2021 . Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak buah Rotan (*Calamus* sp) Dengan Menggunakan Metode. *Jurnal Katalisator*,6(2),223–232.
- Ferrante, A. A., Martins, I. R., Alves, L., Silva, D. C., dan Percário, S. 2019 . Analytical Methodology for Determination of the Plasma Antioxidant Capacity Through the Radicalf 2,2-azino-bis-3- ethylbenzthiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, May, 2–6. <https://doi.org/10.22587/ajbas.2019.13.3.3>.
- Flieger, J., dan Flieger, M. 2020 . The [DPPH•/DPPH-H]-HPLC-DAD Method on Tracking the Antioxidant Activity of Pure Antioxidants and Goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) Hydroalcoholic Extracts. *Molecules*, 25(24). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25246005>.
- Handayani, S., Kurniawati, I., dan Abdul Rasyid, F. 2020 . Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 141–150. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15022>.
- Handayani, V., Naid, T., dan Umasangaji, R. F. 2020 . Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dan Daun Jeruk Nipis (*Citrus urantifolia* (christm) Swingle) Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 12(1), 57–63. <https://doi.org/10.33096/jifa.v12i1.621>.

- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyantri, D., dan Al ansori, J. 2019 . Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode Dpph. *Kandaga– Media Publikasi Ilmiah Jabatan Fungsional Tenaga Kependidikan*, 1(1). <https://doi.org/10.24198/kandaga.v1i1.21473>
- Junaidi, R., dan Fatria, D. 2022 . Ekstraksi Zat Warna Alami Bunga Telang dengan Metode Ekstraksi Sokletasi. *Jurnal Hasil Penelitian Dan Ulasan Ilmiah*, 13, 22–30.
- Kamoda, A. P. M. D., Maria Nindatu, Indrawanti Kusadhiani, Eka Astuty, Halidah Rahawarin, dan Elpira Asmin. 2021 . Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *Saragassum* Sp. Dengan Metode 1,1- Difenil-2-Pikrihidrasil (Dpph). *PAMERI:Pattimura Medical Review*, 3(1), 60–62.
- Khumaira Sari, A., dan Ayati, R. 2018 . (Antioxidant Activity Determination Of Ethanol Extract Of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* D.C) With DPPH Method (1,1-. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 69–74.
- Kurniawati, I. F., dan Sutoyo, S. 2021 . Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis* [Park. I] Fosberg) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 1–11.
- Labola, Y. A., dan Puspita, D. 2018 . Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Farmasetika.Com (Online)*, 2(5), 12. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i2.13668>.
- Lembang, D. T., Daniel, dan Saleh, C. 2020 . Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi N-Heksana, Etil Asetat Dan Etanol Sisa Dari Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Atomik*, 05(1), 37–42.
- Lung, J. K. S., dan Destiani, D. P. 2018 . Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53–62.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Al Anshori, J. 2018 . Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam

- Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93.
<https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>.
- Magdalena, R., & Angela Krisanti, M. (2019). Analisis Penyebab dan Solusi Rekonsiliasi Finished Goods Menggunakan Hipotesis Statistik dengan Metode Pengujian Independent Sample T-Test di PT.Merck, Tbk. *Jurnal Tekno*, 16(2), 35–48.
- Maimunah, S., Rayhana, R. and Silalahi, Y. C. E. (2020) ‘Antibacterial Activity Extract of Leaves of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC) Againsts of *Staphylococcus aureus* Bacteria’, *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 6(2), pp. 129–138. doi: 10.36987/jpbn.v6i2.1767.
- Martiningsih, N. W., Widana, G. A. B., Kristiyanti, P. L. P., BANDYOPADHYAY, S., MUKERJI, J., Yenerel, N. M., Dinc, U. A., Gorgun, E., Radical, F., Activity, S., Alsophila, O. F., Sm, J., Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., dan Sihotang, H. 2016 . Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode DPPH. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 3(3), 332–338.
- Maruya Kusuma, I., Veryanti, R., dan Chairunnisa, B. 2020 . *Antioxidant Activity on Methanol Extract of Kawista (Limonia acidissima) Fruit with DPPH Method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)*. 13(2), 60.
- Mayasari, U. 2018 . Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia serta Analisis secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis) Daun dan Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon* (L .) Burm . F .). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*, 2(2), 7–13.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., dan Zujko, M. E. 2018 . Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68–78.
- Mukono, H.J. 2011 .*Aspek Kesehatan Pencemaran Udara*.
<https://doi.org/https://books.google.co.id/books>.

- Munteanu, I. G., dan Apetrei, C. 2021 . Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., dan Yar, M. S. 2019 . Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178.
- Ngibad, K., Herawati, D., Ilmu Kesehatan, F., Maarif Hasyim Latif, U., dan Raya, J. 2019 . Comparison of Measurement The Vitamin C Level using UV-Vis Spectrophotometry at Uv and Visible Wavelength. *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology*, 1(2), 77–81.
- Nur Oktavia, S., Wahyuningsih, E., dan Deti Andasari, S. 2020 . Skrining Fitokimia Dari Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau(*Cyclea barbata* Miers). *Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 2685–1229.
- Nur, A., dan Fariqah, I. 2022 . *Optimization Of Exstraction Of Black Mulberry (Morus nigra L.) Leaf Using Ultrasonic Method and Determination Its Phenolic Compounds*.
- Nurhayati, N., Qonitah, F., dan Ahwan, A. 2022 . Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(1), 84. <https://doi.org/10.31764/lf.v3i1.7457>
- Nurhidayah, V., dan Akuntansi, P. S. 2020 . Pengenalan Pemanfaatan Tanaman Yang Berpotensi Obat Dari Family Rutaceae Pada Kelompok Ibu Pengajian. *Platform Riset Mahasiswa Akuntansi*, 01(02), 132–142. <https://ojs.stiesa.ac.id/index.php/prisma>.

- Nurmalasari, E. Y., S. Luliana, dan S. Wahdaningsih. 2019 . Identifikasi Senyawa Fenol dan Flavonoid dari Berbagai Bagian Tanaman Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Mahasiswa Farmasi*, 4, 1–5.
- Nurminha, N., dan Nuraini, S. 2021 . Pengaruh Penambahan Serbuk Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) Terhadap Penurunan Bilangan Peroksida Pada Minyak Goreng Curah. *Jurnal Analis Kesehatan*, 10(1), 49.
- Oktapiya, T. R., Pratama, N. P., dan Purnamaningsih, N. 2022 . Analisis fitokimia dan kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2), 105–110.
- Pradito, S. A., Muthmainah, N., dan Biworo, A. 2022 . Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Infus dan Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostatis : Jurnal Mahasiswa Pendidikan Dokter*, 5(1), 135–144.
- Purwanto, N. 2019 . Variabel Dalam Penelitian Pendidikan. *Jurnal Teknodik*, 6115, 196–215.
- Ratseewo, J., Tangkawanit, E., Meeso, N., Kaewseejan, N., dan Siriamornpun, S. 2016 . Changes in antioxidant properties and volatile compounds of kaffir lime leaf as affected by cooking processes. *International Food Research Journal*, 23(1), 188–196.
- Ridho, E., Sari, R., dan Wahdaningsih, S. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrasil). *J Conserv Dent*. 2013, 16(4), 2013. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23956527>.
- Riskesdas. 2018 . *Riskesdas*. National Health Survey. *Science*, 127(3309), 1275–1279. <https://doi.org/10.1126/science.127.3309.1275>.
- Roflin, E., dan Liberty, I. A. 2021 . Populasi, Sampel, Variabel dalam Penelitian Kedokteran. Penerbit NEM.

- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I., dan Edyson. 2017 . Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi Dengan Sokletasi Pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*) (Studi pendahuluan terhadap proses pembuatan sediaan obat penyembuhan luka). *Dentin (Jur. Ked. Gigi)*, 1(1), 100–105.
- Rumangu, A. V., Yudistira, A., dan Rotinsulu, H. 2019 . Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Bunga Kana Merah (*Canna coccinea* Mill) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmacon*, 8(3), 542.
- Salim, R. 2018 . Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1- diphenil- 2-picrylhidrazil). *Jurnal Katalisator*, 3(2), 153.
- Salsabila, A. N., dan Sukei, T. Y. 2022 . Efektivitas Larvasida Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Mortalitas Larva *Ae. aegypti*. *Jurnal Vektor Penyakit*, 16(1), 1–10.
- Santoso, P., Megawati, F., Wayan, N., Purnama, C., Kadek, N., dan Paramita, L. 2022 . *Identification Of Flavonoid Compounds And Antioxidant Activity Fruit Of Dewandaru Ethanol Extract (Eugenia Uniflora L .)*. 2(1), 21–25.
- Saputri, N. H. *et al.* (2021) ‘Narrative Review: Edible Film Strip Antioksidan dari Ekstrak Herba Kelingkit (*Malpighia coccigera* L.)’, *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)*, 8(1), pp. 25–36. doi: 10.48177/bimfi.v8i1.58.
- Sari, D., dan Hastuti, S. 2020 . Analisis flavonoid total ekstrak etanol daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell.Arg) dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Indonesian Journal On Medical Science (IJMS)*, 7(1), 55–62.
- Sari, P., dan Wulandari, P. 2020 . Pengambilan Galaktomanan Dari Buah Nipah Dengan Metode Ekstraksi. *Teknik Kimia*, 20(192), 20–27.

- Septiani, N. K. A., Parwata, I. M. O. A., dan Putra, A. A. B. 2018 . Penentuan Kadar Total Fenol, Kadar Total Flavonoid Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Matematika, Sains, Dan Pembelajarannya*, 12(1), 78–89.
- Septy, D. M., Saptawati, T., dan Rachma, F. A. 2021 . The Anatomical Characteristic, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Test of *Drosera capillaris* Herbs Using the FRAP Method. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 1272–1280.
- Setiani, A., Sari, B., Indriani, L., dan Jupersio. 2017 . *Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Metanol 70% Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.) Dengan Metode Maserasi dan MAE (Microwave Asisted Exstraction)*. 7(2), 1–14.
- Setiawan, F., Yunita, O., dan Kurniawan, A. 2018 . Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Shah, P., dan Modi, H. A. 2015 . Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, 3(6), 636–641. www.ijraset.com
- Silviani, Y., dan Prian Nirwana, A. 2020 . Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Metode Perkolasi Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 7–12.
- Siregar, S., Indriani, I., Vincentia Ade Rizky, V., Visensius Krisdianilo, V., dan Anna Teresia Marbun, R. 2020 . Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dan Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 3(1), 39–46. <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.524>.
- Sudarwati, T. puji lestari, dan Fernanda, M. . H. 2019 . *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes aegypti* (N. Hariyati (ed.).

- Suhartati, T. 2017 . *Dasar dasar Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Strktur Senyawa Organik* (Aura (ed.)). Aura CV.Anugrah Utama Raharja Anggota IKAPI No.003/LPU/2013. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Suharyanto, S., dan Hayati, T. N. 2021 . Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Gambas (*Luffa acutangula*(L.) Roxb.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis Determination of Total Flavonoid Levels Gambas Fruit Extract (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) with UV-Vis Spectrofotometry Method.
- Suktham, T., Jones, A., Soliven, A., Dennis, G. R., dan Shalliker, R. A. 2019 . A comparison of the performance of the cupric reducing antioxidant potential assay and the ferric reducing antioxidant power assay for the analysis of antioxidants using reaction flow chromatography. *Microchemical Journal*, 149(May), 104046. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104046>.
- Sulastri, L., Oktavia, I., dan Simanjutak, P. 2020 . *Antioxidant Activity of Kecibeling, Red Mangrove , and Star Gooseberry at Different Extraction Methods and Extract Ratios*. 31(1), 1–7.
- Suresh, A., Velusamy, S., Ayyasamy, S., dan Rathinasamy, M. 2021 . Techniques for essential oil extraction from kaffir lime and its application in health care products—A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(1), 5–21. <https://doi.org/10.1002/ffj.3626>.
- Syahra, A., Wilda, A., dan Rizki, F. 2021 . *Perbandingan Metode Maserasi dan Refluks Terhadap Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak*. 1–7.
- Syarifah, T. 2017 . *Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Batang, Daun dan Kulit Jeruk Purut (*citrus hystrix* DC) Dengan Metode Solvent-Free Microwave Extraction*.
- Tuasamu, Y. 2018 . Karakterisasi Morfologi Daun dan Anatomi Stomata pada Beberapa Species Tanaman Jeruk (*Citrus* sp). *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 11(2), 85. <https://doi.org/10.29239/j.agrikan.11.2.85-90>

- Tuning, S. S., Handini, T., Biyantoro, D., dan Samin. 2017 . Ekstraksi Zr Dan Hf Menggunakan Campuran Ektaktan TBP Dan CYANEX 921 Extraction Of Zr And Hf By Solvent Mixture Of TBP And CYANEX-921. *Jurnal Iptek Nuklir Ganendra*, 19(1), 27–35.
- Utami, S., Larasati, R., Hidayati, S., dan Sugito, B. H. 2022 . The Effectiveness of Involvement Test of kaffir lime (*Citrus hystrix*) Fruit Extract on the Growth of *Streptococcus Mutans* Bacteria (in vitro). *International Conference on Dental and Oral Health*, 2(1), 64–71.
- Wahyuni, D., dan Nafi'ah, S. 2021 . Uji Efektivitas Repellent Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Pharma Bhakta*, 1(2), 20–29.
- Widiastini, L. P., Karuniadi, I. G. A. M., dan Tangkas, M. 2021 . Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Di Denpasar Selatan Bali. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 16(1), 135. <https://doi.org/10.32382/medkes.v16i1.2038>
- Widyastuti, Y., Yuliani, N., dan Widhyastini, I. G. A. M. 2019 . Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Natural*, 6(1), 33.
- Wigati, D., dan Rahardian, R. R. 2018 . Penetapan Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Hasil Perkolasi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.)Merr). *JIFFK : Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 15(2), 36. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v15i2.2564>.
- Wijaya, D. R., Paramitha, M., dan Putri, N. P. 2019 . C. Kata kunci: Oleoresin, jahe, ekstraksi, soklet. *Jurnal Konversi*, 8(1), 9–16.
- Wijaya, H., Novitasari, dan Jubaidah, S. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.

- Wulandari, L., Nugraha, A. S., dan Azhari, N. P. 2020 . Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) secara In Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(1), 60. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020>.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., dan Liu, R. 2020 . Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60–69.
- Yanuary, R. 2021 . Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal FARMASINDO Politeknik Indonusa Surakarta*, Vol. 5, 53–56.
- Zuo, Y., Han, Y., Zhang, G., Fan, L., Liu, Z., dan Guo, Y. 2021 . EDTA- β -cyclodextrin functionalized graphene for electrochemical detection and scavenge of DPPH radical. *Journal of Applied Electrochemistry*, 51(12), 1731–1739. <https://doi.org/10.1007/s10800-021-01598-2>.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Daun Jeruk Purut



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 26/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 0680/FIKES.UDS/U/II/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Dhesinta Putri Hartari
NIM : 19040025
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Spindales; Famili: Rutaceae; Genus: Citrus; Spesies: Citrus hystrix, D.C

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 Februari 2023
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

UPT. PP. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

Lampiran : 1 Berkas
Perihal : Identifikasi Kalsifikasi dan Morfologi Tanaman Jeruk Purut sebagai Kajian Skripsi
Nama Peneliti : Dhesinta Putri Hartari (Mahasiswa Farmasi Univ dr. Soebandi)
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*) dengan Pembanding Vitamin C secara Spektrofotometri UV-Vis.
Pengidentifikasi : Ujang Tri Cahyono, S.P., M.M

Hasil Identifikasi Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*, D.C) merupakan tanaman perdu, tegak yang banyak memiliki dahan dan ranting dengan tinggi berkisar 2 - 12 meter. Batangnya berduri tempel dan sering ditumbuhi tunas-tunas air pada batangnya. Tanaman jeruk purut dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian berkisar 500-1.200 m dpl sedangkan di dataran rendah 100-400 m dpl. Tanaman jeruk purut membutuhkan suhu berkisar 15-30 °C, dengan kelembaban udara rata-rata berkisar 50-80%. Tanaman jeruk lemon membutuhkan cahaya penyiangan matahari penuh sepanjang hari. Tanah yang sesuai untuk tanaman jeruk purut adalah tanah bertekstur dan drainase yang baik, gembur, cukup bahan organik, curah hujan optimal tidak melebihi 100 mm/bulan dengan minimal 3 bulan kering, derajat keasaman tanah (pH) tidak terlalu asam berkisar 6-7.

Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut :

Kingdom/Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
Ordo : Spindales
Famili : Rutaceae
Genus : Citrus
Spesies : *Citrus hystrix*, D.C

Kunci Determinasi Tanaman Jeruk Purut

Kunci Determinasi	Keterangan	
1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15b, 197b, 208b, 219b, 220a, 221a, (62) Family Rutaceae , 1a (1) genus: <i>Citrus</i> , species: <i>Citrus hystrix</i> , D.C	1b	Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati. Sedikit-dikitnya dengan benang sari dan atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga.....2
	2b	Tidak ada alat pembelit. Tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang,poros daun atau tangkai daun).....3
	3b	Daun tidak berbentuk jarum atau tidak terdapat dalam berkas tersebut diatas.....4
	4b	Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan atau bunga berlainan dengan yang diterangkan diatas.....6
	6b	Dengan daun yang jelas.....7
	7b	Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya.....9
	9b	Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dan tidak membelit.....10
	10b	Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi roset.....11
	11b	Tidak demikian. Ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun yang kesamping dan serong keatas.....12
	12b	Tidak semua daun dalam karangan. Atau tidak ada daun sama sekali.....13
	13b	Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain.....14
	14a	Daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan15
	15b	Daun majemuk menjari atau majemuk menyirip atau juga tunggal, kalau demikian tentu berbagi menyirip rangkap sampai bercangap menyirip rangkap (golongan 9)109
	197b	Daun menyirip dan terdiri atas paling sedikit 2 pasang anak daun.....208
	208b	Daun majemuk menyirip tunggal.....219
	219b	Tumbuh-tumbuhan lain.....220
	220a	Ibu tangkai bersayap (kadang-kadang sempit).....221
	221a	Tumbuh-tumbuhan berduri. Anak daun transparan karena bintik kelenjar minyak.....62. Rutaceae
	Fam. (62) Rutaceae	
	Pohon atau perdu, jarang semak. Daun berhadapan atau berseling, tunggal atau majemuk, dengan kelenjar minyak yang	

		transparan. Bunga beraturan, kebanyakan berkelamin 2, dalam anak payung, tandan atau malai. Kelopak berjumlah 4-5, bersatu atau tidak. Mahkota kebanyakan berjumlah 4-5, berdaun lepas. Benang sari 4-5 atau 8-10, jarang 6, jarang lebih daripada 10; kepala sari beruang 2. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk, di dalam benang sari. Bakal buah menumpang, seperti juga buahnya, bentuknya sangat berbeda. Buah buni kotak, buni, atau batu atau buah berbelah.
	1a	1 Anak daun (oleh karena bersayap tangkai daunnya dan beruas dengan helaian daun, kerap kali terlihat seolah-olah 2 anak daun yang satu di atas yang lain.....1. <i>Citrus</i> Genus: 1. <i>Citrus</i> Spesies: <i>Citrus hystrix</i> , D.C

REFERENSI

- C.G.G.J. Van Steenis, G. Den Hoed, S. Bloembergen, dan P.J. Eyma. 2005. *Flora*. PT. Pradnya Paramita: Jakarta.
- C.G.G.J. Van Steenis. 2010. *Flora Pegunungan Jawa (The Mountain Flora of Java)*. Pusat Penelitian Biologi-LIPI: Bogor.
- Muzayyinah. 2008. *Terminologi Tumbuhan*. LPP UNS dan UNS Press: Surakarta.
- Rosanti, D. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.

Mengetahui,
Ka. UPA, Pengembangan Pertanian Terpadu

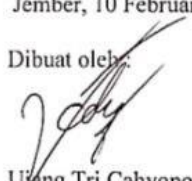


Upt. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001



Jember, 10 Februari 2023

Dibuat oleh



Ujang Tri Cahyono, S.P,M.M
NIP. 198107082006041003

Lampiran 2. Proses Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Purut

No	Perlakuan	No.	Perlakuan
1.	Pengumpulan Daun Jeruk Purut	2.	Pencucian Daun Jeruk Purut
			
3.	Pengeringan Daun Jeruk Purut	4.	Penghalusan Daun Jeruk Purut
	 		 

Lampiran 3. Pembuatan Infusa Daun Jeruk Purut

No. 1.	Perlakuan Penimbangan Serbuk Simplisia	No. 2.	Perlakuan Pembuatan Infusa
			 
3.	Pengentalan Infusa	4.	Hasil Pengentalan
			 

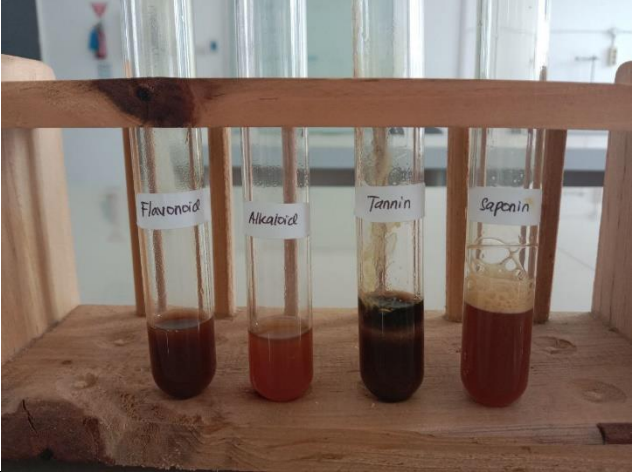
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Jeruk Purut

No.	Parameter	Hasil (gram)	Dokumentasi
1.	Berat Serbuk Simplisia	50	
2.	Berat botol vial + ekstrak	32,44	
3.	Berat Botol vial	21,91	
4.	Berat ekstrak kental	32,44 - 21,91 = 10,53	-

Perhitungan % Rendemen

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{10,53 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 21,06\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Skrining Fitokimia Daun Jeruk Purut

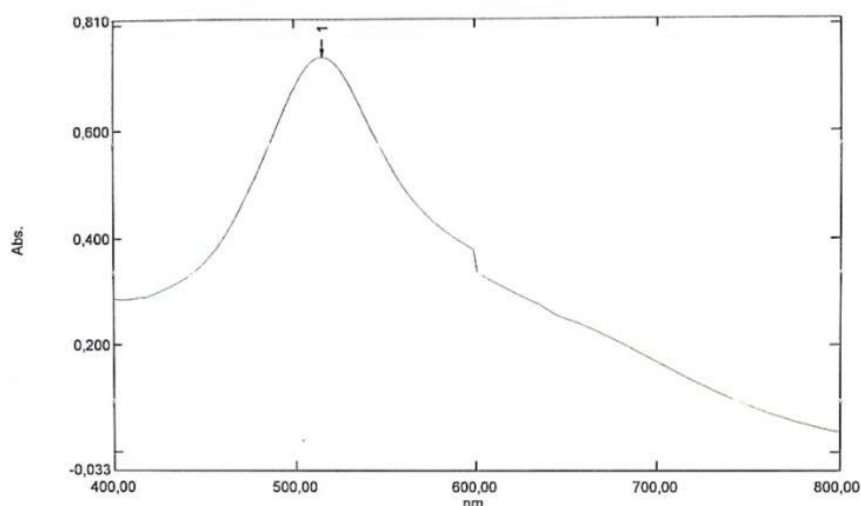
Skrining Fitokimia Daun Jeruk Purut		
		
Pengujian	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Terjadi perubahan warna coklat yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid	(+)
Alkaloid	Terjadi perubahan warna jingga yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid	(+)
Tannin	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin	(+)
Saponin	Terdapat busa konsisten selama 5 menit menunjukkan adanya senyawa saponin	(+)

Lampiran 6. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH 50 ppm

Spectrum Peak Pick Report

27/02/2023 10:43:17

Data Set: Panjang gelombang max dhes - RawData



[Measurement Properties]
 Wavelength Range (nm.): 400.00 to 800.00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 1.0
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	516.00	0.739	
2	●	405.00	0.285	

[Instrument Properties]
 Instrument Type: UV-1900 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1.0 mm
 Light Source Change Wavelength: 340.8 nm
 S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
 Attachment: None

[Operation]
 Threshold: 0,0010000
 Points: 4
 InterPolate: Disabled
 Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Lampiran 7. Optimasi Waktu Inkubasi Vitamin C

Sampel	Menit	Konsentrasi	Abs	Sampel	Menit	Konsentrasi	Abs
Blanko			0,739	Blanko			0,739
	5	2 ppm	0,657		35	2 ppm	0,692
		4 ppm	0,643			4 ppm	0,671
		6 ppm	0,58			6 ppm	0,603
		8 ppm	0,474			8 ppm	0,481
		10 ppm	0,382			10 ppm	0,398
	10	2 ppm	0,665		40	2 ppm	0,699
		4 ppm	0,650			4 ppm	0,677
		6 ppm	0,602			6 ppm	0,603
		8 ppm	0,473			8 ppm	0,484
		10 ppm	0,384			10 ppm	0,400
	15	2 ppm	0,672		45	2 ppm	0,706
		4 ppm	0,656			4 ppm	0,682
		6 ppm	0,601			6 ppm	0,602
		8 ppm	0,473			8 ppm	0,489
		10 ppm	0,392			10 ppm	0,416
	20	2 ppm	0,679		50	2 ppm	0,710
		4 ppm	0,658			4 ppm	0,680
		6 ppm	0,602			6 ppm	0,601
		8 ppm	0,476			8 ppm	0,486
		10 ppm	0,394			10 ppm	0,416
	25	2 ppm	0,685		55	2 ppm	0,716
		4 ppm	0,661			4 ppm	0,679
		6 ppm	0,600			6 ppm	0,600
		8 ppm	0,478			8 ppm	0,488
		10 ppm	0,401			10 ppm	0,418
	30	2 ppm	0,688		60	2 ppm	0,719
		4 ppm	0,672			4 ppm	0,681
		6 ppm	0,600			6 ppm	0,598
		8 ppm	0,480			8 ppm	0,486
		10 ppm	0,401			10 ppm	0,425

Tabel % Inhibisi dan Nilai IC₅₀

Menit	Konsentrasi	% Inhibisi	IC ₅₀	Menit	Konsentrasi	% Inhibisi	IC ₅₀
5	2 ppm	11,09%	11,04	35	2 ppm	6,35%	11,12
	4 ppm	12,9%			4 ppm	9,20%	
	6 ppm	19%			6 ppm	18,40%	
	8 ppm	35,85%			8 ppm	34,91%	
	10 ppm	48,30%			10 ppm	46,14%	
10	2 ppm	10,1%	11,01	40	2 ppm	5,41%	11,1
	4 ppm	12,04%			4 ppm	8,38%	
	6 ppm	18,53%			6 ppm	18,40%	
	8 ppm	35,99%			8 ppm	34,50%	
	10 ppm	48,03%			10 ppm	45,87%	
15	2 ppm	9,066%	11,09	45	2 ppm	4,46%	11,42
	4 ppm	11,23%			4 ppm	7,71%	
	6 ppm	18,67%			6 ppm	18,53%	
	8 ppm	35,99%			8 ppm	33,82%	
	10 ppm	46,95%			10 ppm	43,70%	
20	2 ppm	8,11%	11,1	50	2 ppm	3,924%	11,3
	4 ppm	10,96%			4 ppm	7,983%	
	6 ppm	18,53%			6 ppm	18,67%	
	8 ppm	35,58%			8 ppm	34,23%	
	10 ppm	46,68%			10 ppm	43,70%	
25	2 ppm	7,307%	11,20	55	2 ppm	3,11%	11,35
	4 ppm	10,55%			4 ppm	8,11%	
	6 ppm	18,50%			6 ppm	18,80%	
	8 ppm	35,31%			8 ppm	33,96%	
	10 ppm	45,73%			10 ppm	43,43%	
30	2 ppm	6,901%	11,19	60	2 ppm	2,70%	11,24
	4 ppm	9,066%			4 ppm	7,84%	
	6 ppm	18,80%			6 ppm	19,07%	
	8 ppm	35,04%			8 ppm	34,23%	
	10 ppm	45,73%			10 ppm	42,48%	

Menit	Nilai r	Menit	Nilai r
5	0,9568	35	0,97502
10	0,9600	40	0,9800
15	0,96543	45	0,98222
20	0,970	50	0,9847
25	0,9751	55	0,9883
30	0,9737	60	0,9889

Lampiran 8. Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut Dengan Metode DPPH

1. Pembuatan DPPH 50 ppm

Diketahui:

Berat serbuk DPPH = 5 mg

Pelarut (metanol p.a) = 100 mL

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 50 ppm} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 50 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Uji Infusa Daun Jeruk Purut

a. Pembuatan Larutan Induk Infusa Daun Jeruk Purut (ekstrak kental)

Berat Ekstrak Kental = 50 mg

Volume Pelarut (metanol p.a) = 10 mL

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 5000 ppm} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 5000 \text{ ppm}\end{aligned}$$

b. Pengenceran Larutan Induk (75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm)

Rumus: $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$\begin{aligned} 1. \quad 75 \text{ ppm} &= \frac{75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{5000 \text{ ppm}} \\ &= 0,15 \text{ mL (150 } \mu\text{l)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \quad 100 \text{ ppm} &= \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{5000 \text{ ppm}} \\ &= 0,2 \text{ mL (200 } \mu\text{l)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \quad 125 \text{ ppm} &= \frac{125 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{5000 \text{ ppm}} \\ &= 0,25 \text{ mL (250 } \mu\text{l)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 4. \quad 150 \text{ ppm} &= \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{5000 \text{ ppm}} \\ &= 0,3 \text{ mL (300 } \mu\text{l)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 5. \quad 175 \text{ ppm} &= \frac{175 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{5000 \text{ ppm}} \\ &= 0,35 \text{ mL (350 } \mu\text{l)} \end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

a. Pembuatan Larutan Induk Pembanding Vitamin C

$$\begin{aligned} \text{Berat Vitamin C} &= 2,5 \text{ mg} \\ \text{Volume Pelarut (metanol p.a)} &= 25 \text{ mL} \\ \text{Konsentrasi 100 ppm} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{2,5 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 100 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b. Pengenceran Larutan Vitamin C (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm)

Rumus: $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$1. \quad 2 \text{ ppm} = \frac{2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 0,2 \text{ mL (200 } \mu\text{l)}$$

$$2. \quad 4 \text{ ppm} = \frac{4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 0,4 \text{ mL (400 } \mu\text{l)}$$

$$3. \quad 6 \text{ ppm} = \frac{6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 0,6 \text{ mL (600 } \mu\text{l)}$$

$$4. \quad 8 \text{ ppm} = \frac{8 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 0,8 \text{ mL (800 } \mu\text{l)}$$

$$5. \quad 10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 1 \text{ mL (1000 } \mu\text{l)}$$

Lampiran 9. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Infusa Daun Jeruk Purut

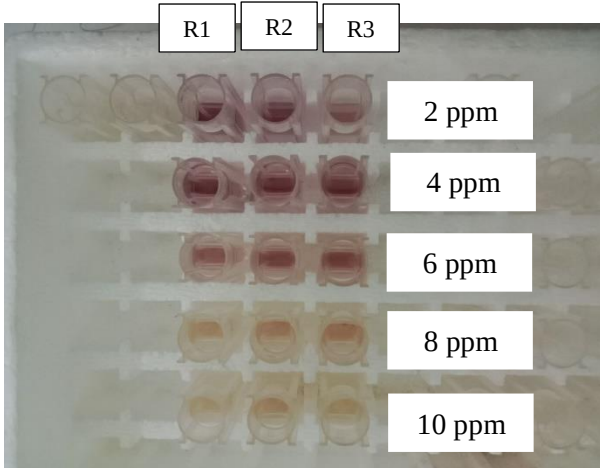


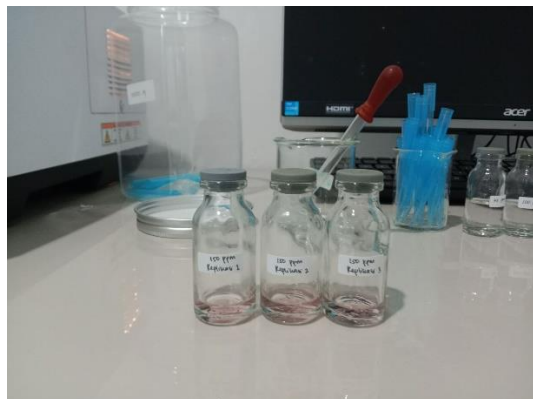
Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Vitamin C



Optimasi Waktu Inkubasi

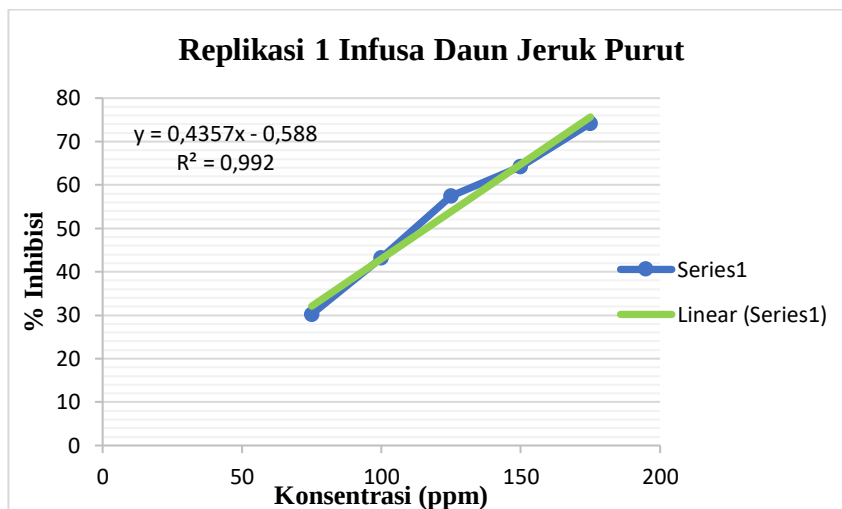


Pengukuran Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C																								
75 ppm (R1, R2, R3) 																									
100 ppm (R1, R2, R3) 	 <table data-bbox="1037 918 1415 1366"><tr><th></th><th>R1</th><th>R2</th><th>R3</th></tr><tr><td>2 ppm</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td></tr><tr><td>4 ppm</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td></tr><tr><td>6 ppm</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td></tr><tr><td>8 ppm</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td></tr><tr><td>10 ppm</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td><td>Yellow</td></tr></table>		R1	R2	R3	2 ppm	Yellow	Yellow	Yellow	4 ppm	Yellow	Yellow	Yellow	6 ppm	Yellow	Yellow	Yellow	8 ppm	Yellow	Yellow	Yellow	10 ppm	Yellow	Yellow	Yellow
	R1	R2	R3																						
2 ppm	Yellow	Yellow	Yellow																						
4 ppm	Yellow	Yellow	Yellow																						
6 ppm	Yellow	Yellow	Yellow																						
8 ppm	Yellow	Yellow	Yellow																						
10 ppm	Yellow	Yellow	Yellow																						
125 ppm (R1, R2, R3) 																									

150 ppm (R1, R2, R3)**175 ppm (R1, R2, R3)**

Lampiran 10. Persamaan Regresi Linier dan IC₅₀ Infusa Daun Jeruk Purut

Replikasi 1



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

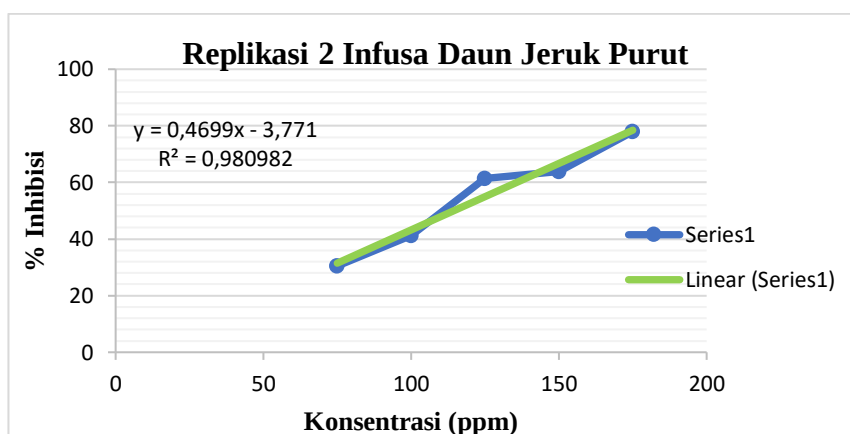
$$Y = 0,4357x - 0,588$$

IC₅₀

$$50 = 0,4357x - 0,588$$

$$\frac{50 + 0,588}{0,4357} = 116,1 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

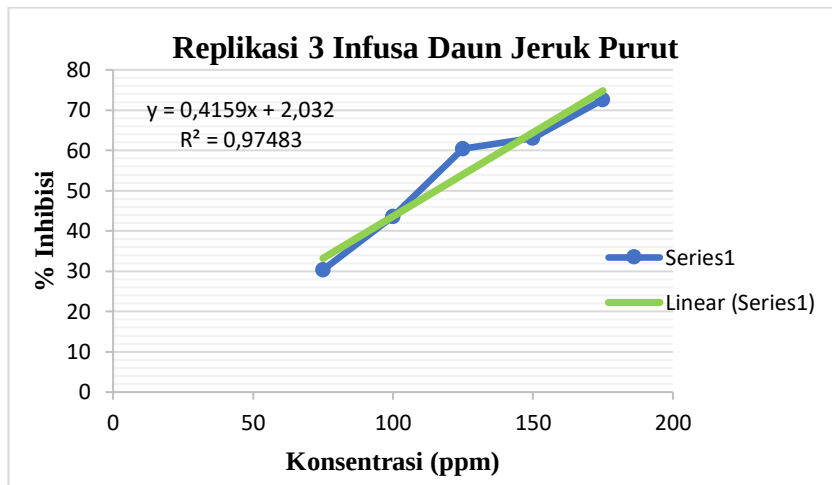
$$Y = 0,4699x - 3,771$$

IC₅₀

$$50 = 0,4699x - 3,771$$

$$\frac{50 + 3,771}{0,4699} = 114,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,4159x + 2,032$$

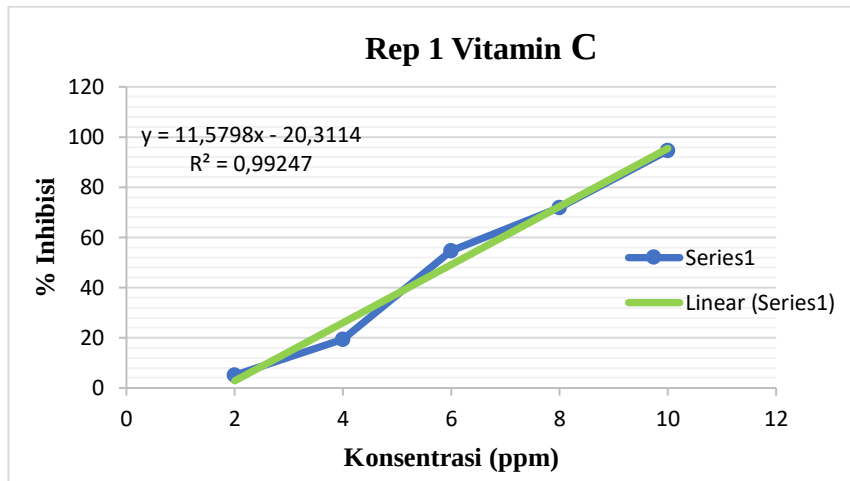
IC₅₀

$$50 = 0,4159x + 2,032$$

$$\frac{50 - 2,032}{0,4159} = 115,32 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 11. Persamaan Regresi Linier dan IC₅₀ Vitamin C

Replikasi 1



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

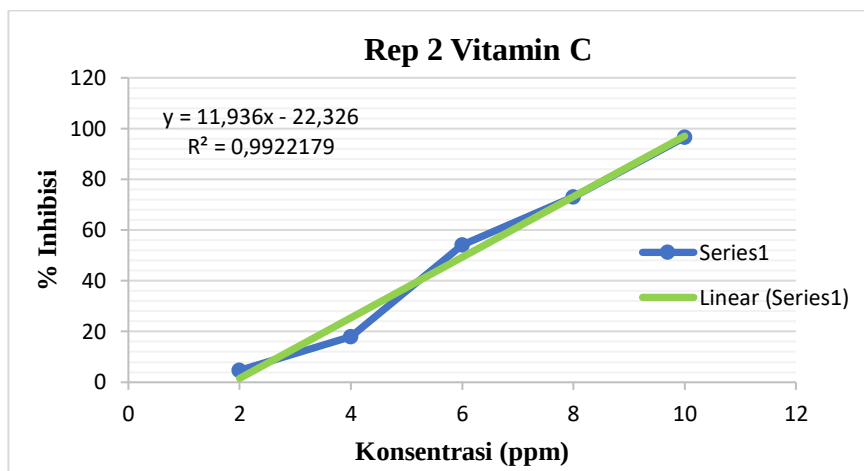
$$Y = 11,5798x - 20,3114$$

IC₅₀

$$50 = 11,5798x - 20,3114$$

$$\frac{50 + 20,3114}{11,5798} = 6,0719 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

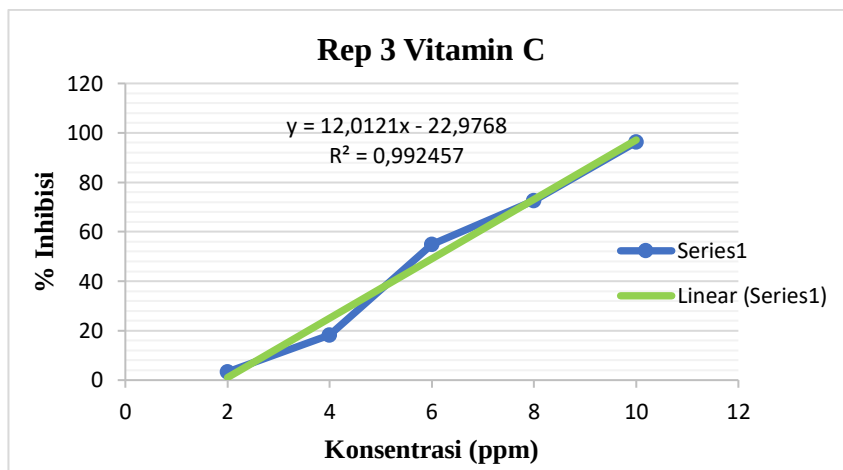
$$Y = 11,963x - 22,326$$

IC₅₀

$$50 = 11,963x - 22,326$$

$$\frac{50 + 22,326}{11,963} = 6,05948 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3



Persamaan regresi linier

$$Y = bx + a$$

$$Y = 12,0121x - 22,9768$$

IC₅₀

$$50 = 12,0121x - 22,9768$$

$$\frac{50 + 22,9768}{12,0121} = 6,0752 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

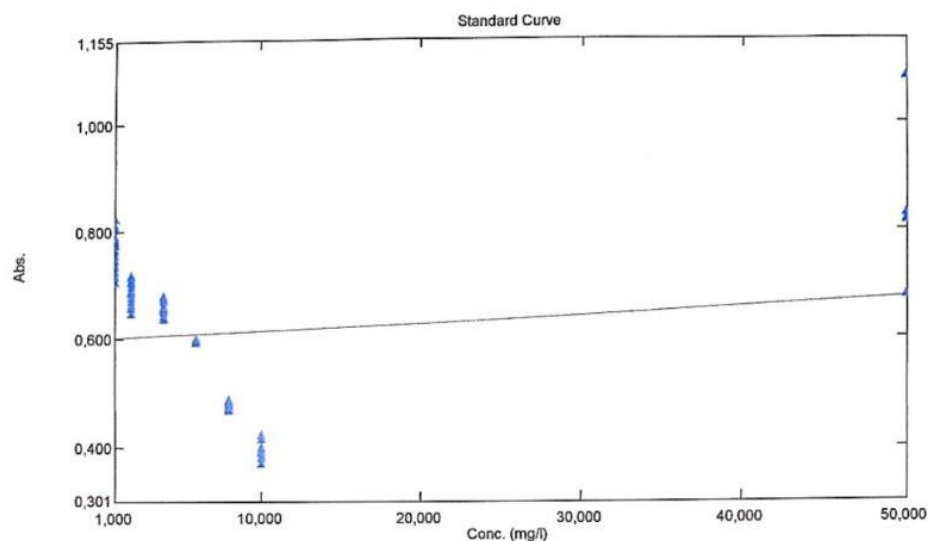
Lampiran 12. Photometry Test Report Infusa Daun Jeruk Purut dan Vitamin C

1. Optimasi Waktu Inkubasi

Standard Table Report

27/02/2023 12:34:05

File Name: C:\Users\Operator\Documents\dhesinta\Optimasi waktu inkubasi day 2.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,5	Wgt.Factor	Comments
1	Blanko	Standard		50.000	0.678	1.000	
2	1ppmmnt0	Standard		1.000	0.707	1.000	
3	2ppmmnt0	Standard		2.000	0.649	1.000	
4	4ppmmnt0	Standard		4.000	0.639	1.000	
5	6ppmmnt0	Standard		6.000	0.594	1.000	
6	8ppmmnt0	Standard		8.000	0.470	1.000	
7	10ppmmnt0	Standard		10.000	0.372	1.000	
8	1ppmmnt5	Standard		1.000	0.716	1.000	
9	2ppmmnt5	Standard		2.000	0.657	1.000	
10	4ppmmnt5	Standard		4.000	0.643	1.000	
11	6ppmmnt5	Standard		6.000	0.598	1.000	
12	8ppmmnt5	Standard		8.000	0.474	1.000	
13	10ppmmnt5	Standard		10.000	0.382	1.000	
14	1ppmmnt10	Standard		1.000	0.726	1.000	
15	2ppmmnt10	Standard		2.000	0.665	1.000	
16	4ppmmnt10	Standard		4.000	0.650	1.000	
17	6ppmmnt10	Standard		6.000	0.602	1.000	
18	8ppmmnt10	Standard		8.000	0.473	1.000	

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL510.0	Wgt.Factor	Comments
19	10ppmmnt10	Standard		10.000	0.384	1.000	
20	1ppmmnt15	Standard		1.000	0.737	1.000	
21	2ppmmnt15	Standard		2.000	0.672	1.000	
22	4ppmmnt15	Standard		4.000	0.656	1.000	
23	6ppmmnt15	Standard		6.000	0.601	1.000	
24	8ppmmnt15	Standard		8.000	0.473	1.000	
25	10ppmmnt15	Standard		10.000	0.392	1.000	
26	1ppmmnt20	Standard		1.000	0.746	1.000	
27	2ppmmnt20	Standard		2.000	0.679	1.000	
28	4ppmmnt20	Standard		4.000	0.658	1.000	
29	6ppmmnt20	Standard		6.000	0.602	1.000	
30	8ppmmnt20	Standard		8.000	0.476	1.000	
31	10ppmmnt20	Standard		10.000	0.394	1.000	
32	1ppmmnt25	Standard		1.000	0.756	1.000	
33	2ppmmnt25	Standard		2.000	0.685	1.000	
34	4ppmmnt25	Standard		4.000	0.661	1.000	
35	6ppmmnt25	Standard		6.000	0.600	1.000	
36	8ppmmnt25	Standard		8.000	0.478	1.000	

Page 2 / 5

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL510.0	Wgt.Factor	Comments
37	10ppmmnt25	Standard		10.000	0.401	1.000	
38	1ppmmnt30	Standard		1.000	0.767	1.000	
39	2ppmmnt30	Standard		2.000	0.688	1.000	
40	4ppmmnt30	Standard		4.000	0.672	1.000	
41	6ppmmnt30	Standard		6.000	0.600	1.000	
42	8ppmmnt30	Standard		8.000	0.480	1.000	
43	10ppmmnt30	Standard		10.000	0.401	1.000	
44	1ppmmnt35	Standard		1.000	0.778	1.000	
45	2ppmmnt35	Standard		2.000	0.692	1.000	
46	4ppmmnt35	Standard		4.000	0.671	1.000	
47	6ppmmnt35	Standard		6.000	0.603	1.000	
48	8ppmmnt35	Standard		8.000	0.481	1.000	
49	10ppmmnt35	Standard		10.000	0.398	1.000	
50	1ppmmnt40	Standard		1.000	0.782	1.000	
51	2ppmmnt40	Standard		2.000	0.699	1.000	
52	4ppmmnt40	Standard		4.000	0.677	1.000	
53	6ppmmnt40	Standard		6.000	0.603	1.000	
54	8ppmmnt40	Standard		8.000	0.484	1.000	

Page 3 / 5

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL510.0	Wgt.Factor	Comments
55	10ppmmnt40	Standard		10.000	0.400	1.000	
56	1ppmmnt45	Standard		1.000	0.790	1.000	
57	2ppmmnt45	Standard		2.000	0.706	1.000	
58	4ppmmnt45	Standard		4.000	0.682	1.000	
59	6ppmmnt45	Standard		6.000	0.602	1.000	
60	8ppmmnt45	Standard		8.000	0.489	1.000	
61	10ppmmnt45	Standard		10.000	0.416	1.000	
62	1ppmmnt50	Standard		1.000	0.804	1.000	
63	2ppmmnt50	Standard		2.000	0.710	1.000	
64	4ppmmnt50	Standard		4.000	0.680	1.000	
65	6ppmmnt50	Standard		6.000	0.601	1.000	
66	8ppmmnt50	Standard		8.000	0.486	1.000	
67	10ppmmnt50	Standard		10.000	0.416	1.000	
68	1ppmmnt55	Standard		1.000	0.809	1.000	
69	2ppmmnt55	Standard		2.000	0.716	1.000	
70	4ppmmnt55	Standard		4.000	0.679	1.000	
71	6ppmmnt55	Standard		6.000	0.600	1.000	
72	8ppmmnt55	Standard		8.000	0.488	1.000	

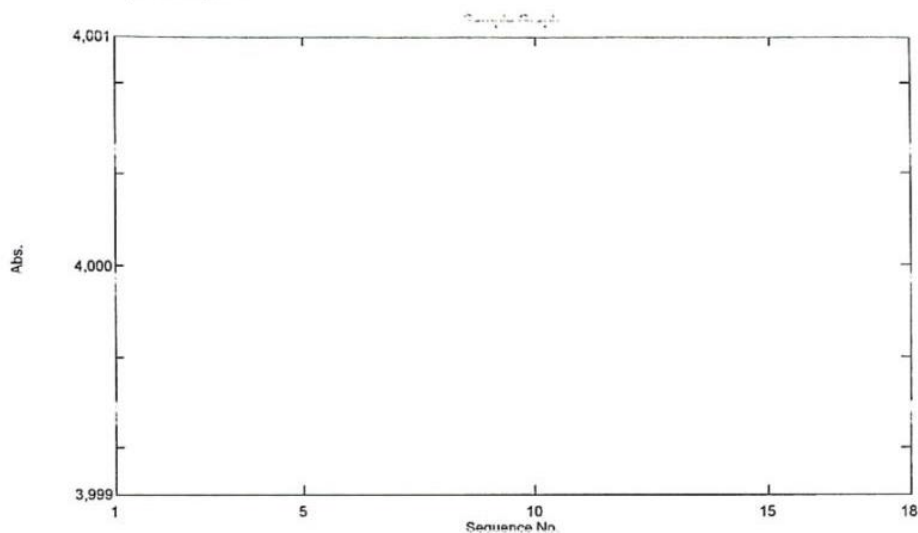
Page 4 / 5

2. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Jeruk Purut 40 menit

Sample Table Report

09/03/2023 13.49.09

File Name: C:\Users\Operator\Documents\ldhesinta\uji aktivitas antioksidan ekstrak daun jeruk purut 2.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
1	Blanko	Unknown	✓	*****	0.807	
2	blanko.	Unknown		*****	0.647	
3	75ppmmnt40r1	Unknown	✓	*****	0.563	
4	75ppmmnt40r2	Unknown	✓	*****	0.561	
5	75ppmmnt40r3	Unknown	✓	*****	0.562	
6	100ppmmnt40r1	Unknown	✓	*****	0.458	
7	100ppmmnt40r2	Unknown	✓	*****	0.474	
8	100ppmmnt40r3	Unknown	✓	*****	0.455	
9	125ppmmnt40r1	Unknown	✓	*****	0.312	
10	125ppmmnt40r2	Unknown	✓	*****	0.312	
11	125ppmmnt40r3	Unknown	✓	*****	0.319	
12	150ppmmnt40r1	Unknown	✓	*****	0.289	
13	150ppmmnt40r2	Unknown		*****	0.303	
14	150ppmmnt40r3	Unknown	✓	*****	0.292	
15	150ppmmnt40r2.2	Unknown		*****	0.312	
16	150ppmmnt40rep2	Unknown	✓	*****	0.298	
17	175ppmmnt40r1	Unknown		*****	0.202	
18	175ppmmnt40r2	Unknown	✓	*****	0.208	

Page 1 / 2

Sample Table

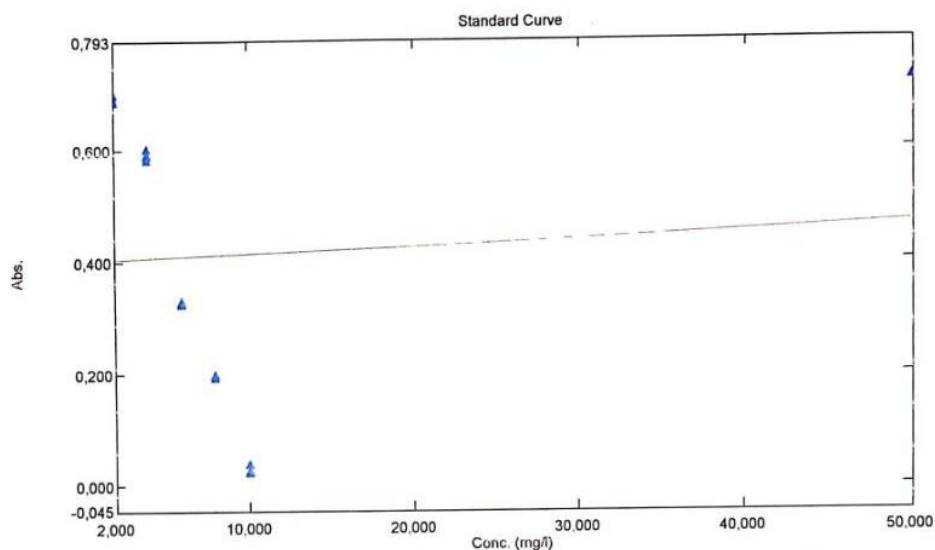
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
19	175ppmmnt40r3	Unknown	✓	*****	0.178	
20	175ppmmnt40rep3	Unknown	✓	*****	0.221	
21	175ppmmnt40r1.1	Unknown		*****	0.293	
22						

3. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C 40 menit

Standard Table Report

01/03/2023 15:42:04

File Name: C:\Users\Operator\Documents\dhesinta\Uji aktivitas antioksidan vitamin c fix.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	EA	Conc.	WL516.0	Wgt.Factor	Comments
1	Blanko	Standard		50.000	0.723	1.000	
2	2ppm40mnt1	Standard		2.000	0.686	1.000	
3	2ppm40mnt2	Standard		2.000	0.689	1.000	
4	2ppm40mnt3	Standard		2.000	0.699	1.000	
5	4ppm40mnt1	Standard		4.000	0.563	1.000	
6	4ppm40mnt2	Standard		4.000	0.593	1.000	
7	4ppm40mnt3	Standard		4.000	0.602	1.000	
8	4ppm40mnt3	Standard		4.000	0.604	1.000	
9	4ppm40mnt3	Standard		4.000	0.591	1.000	
10	6ppm40mnt1	Standard		6.000	0.327	1.000	
11	6ppm40mnt2	Standard		6.000	0.331	1.000	
12	6ppm40mnt3	Standard		6.000	0.325	1.000	
13	8ppm40mnt1	Standard		8.000	0.196	1.000	
14	8ppm40mnt2	Standard		8.000	0.195	1.000	
15	8ppm40mnt3	Standard		8.000	0.198	1.000	
16	10ppm40mnt1	Standard		10.000	0.039	1.000	
17	10ppm40mnt1	Standard		10.000	0.025	1.000	
18	10ppm40mnt1	Standard		10.000	0.027	1.000	

Lampiran 13. Hasil Analisis Data Dengan SPSS

Uji Normalitas

Tests of Normality							
Sampel		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nila IC ₅₀	Infusa daun jeruk purut	.189	3	.	.998	3	.909
	Vitamin C	.310	3	.	.898	3	.381

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Nilai IC₅₀

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.614	1	4	.098

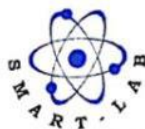
Uji Independent Sampel T-Test

Group Statistics					
Sampel		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Nilai IC ₅₀	Infusa daun jeruk purut	3	115.2733	.85096	.49130
	Vitamin C	3	6.0688	.00833	.00481

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Nilai IC ₅₀	Equal variances assumed	4.614	.098	222.265	4	.000	109.20450	.49133	107.84036	110.56864
	Equal variances not assumed			222.265	2.000	.000	109.20450	.49133	107.09088	111.31812

Lampiran 14. Sertifikat DPPH


PT. SMART-LAB INDONESIA
 MANUFACTURER OF ANALYTICAL REAGENTS



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Free radical)	Molecular Weight	: 394.32 g/mol
Catalog No.	: A 2095	Batch No.	: 221220001
Grade	: Analytical Reagent	Manufacturing Date	: December 22, 2020
Formula	: $C_{18}H_{12}N_4O_6$	Expire Date	: December , 2025
Cas No	: 1898-66-4		

NO	ITEM TEST	UNITS	SPECIFICATION	RESULT
1.	Appearance	-	Purple black or green powder	Conform
2.	Assay	wt %	min 85.0	86.33
3.	Melting point	°C	125 – 145	127.7

Result : The above product corresponds to AR Grade
Reference or standard of product specification to Analar standard specification

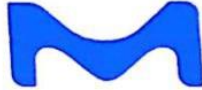
PT. SMART LAB INDONESIA



SUDIROS S. Si
Head QC

Ruko Boulevard TamanTidiroBlok E No 10-11 BSD Sektor VI Sepang Tangerang - Indonesia
 Telp. (62-21) 7588 0205, Fax : (62-21) 7588 0198 Website: www.smartlab.co.id Email : sales@smartlab.co.id

Lampiran 15. Sertifikat Vitamin C



Certificate of Analysis

1.00468.0000 **L(+)-Ascorbic Acid for analysis** **EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur**
Batch **K54197668**

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (iodometric)	99.0 - 100.5	%	99.7	%
Identity (IR-spectrum)	conforms		conforms	
Appearance	white or almost white, crystalline powder		white or almost white, crystalline powder	
Appearance of solution (50 g/l CO ₂ -free water)	clear (≤ 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY ₁		clear (≤ 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY ₁	
pH (50 g/l CO ₂ -free water)	2.1 - 2.6		2.4	
Spec. rotation [α] _D ²⁰ (100 g/l, water)	+20.5 - +21.5	*	+20.8	*
Chloride (Cl)	≤ 50	ppm	≤ 50	ppm
Sulfate (SO ₄)	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Cu (Copper)	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Fe (Iron)	≤ 2	ppm	≤ 2	ppm
Heavy metals (ACS)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Oxalic acid	≤ 0.2	%	≤ 0.2	%
Related substances (HPLC) (Impurity C)	≤ 0.15	%	0.01	%
Related substances (HPLC) (Impurity D)	≤ 0.15	%	< 0.05	%
Related substances (HPLC) (unspecified impurities singly)	≤ 0.10	%	0.06	%
Related substances (HPLC) (sum of impurities (except impurity C and D))	≤ 0.2	%	< 0.1	%
Sulfated ash (600 °C)	≤ 0.05	%	≤ 0.05	%
Loss on Drying (105 °C)	≤ 0.1	%	< 0.1	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 17.03.2022
 Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.03.2024

Dr. Sebastian Lips
 Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
 EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
 400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000
SALSA Version 1178899/9960005/225771 Date: 17.03.2022

Page 1 of 1

Lampiran 16. Sertifikat Metanol


PT. SMART-LAB INDONESIA
 MANUFACTURER OF ANALYTICAL REAGENTS

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name : Methanol

Catalog No. : A-1056

Grade : Analytical Reagent

Formula : CH_3OH

Cas No : 67-56-1

Molecular Weight : 32.04 g/mol

Batch No. : 220922005

Manufacturing Date : September 22, 2022

Expire Date : September, 2027

Recommended for a plastic container for 24 month from the date of pouring (Expiry date corresponding to label)

NO.	ITEM TEST	UNITS	SPECIFICATION	RESULT
1.	Appearance	—	Clear colorless liquid	Clear colorless liquid
2.	Assay (GC)	wt %	min 99.8	99.980
3.	Wt. Per ml at 20 °C	g/cm ³	0.789 – 0.792	0.791
4.	Colour	Hazen	max 10	< 10
5.	Refractive Index	n _D ²⁰	1.327 – 1.330	1.329
6.	Water (H ₂ O)	wt %	max 0.1	0.0598
7.	Non-volatile matter	wt %	max 0.001	0.00073
8.	Acidity (as HCOOH)	wt %	max 0.001	0.00072
9.	Alkalinity (NH ₃)	wt %	max 0.0002	0.00012
10.	Ethanol (GC)	wt %	max 0.1	NIL
11.	Acetone (GC)	wt %	max 0.001	NIL
12.	Acetaldehyde	wt %	max 0.001	< 0.001
13.	Formaldehyde	wt %	max 0.001	< 0.001
14.	Solubility in water	—	passes test	Passes test
15.	Substances darkened (by H ₂ SO ₄)	—	passes test	Passes test
16.	Substances Reducing KMnO ₄	—	passes tes	Passes test

Result : The above product corresponds to AR Grade

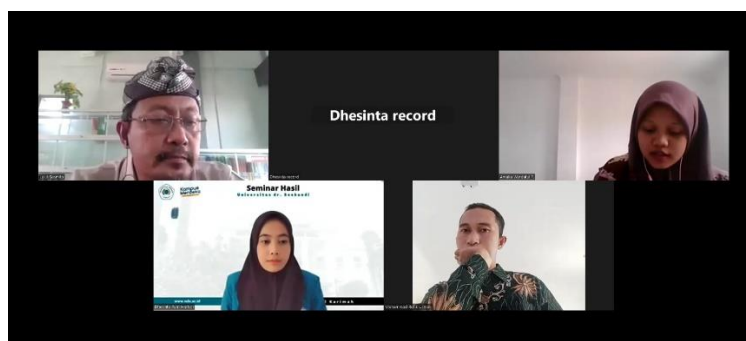
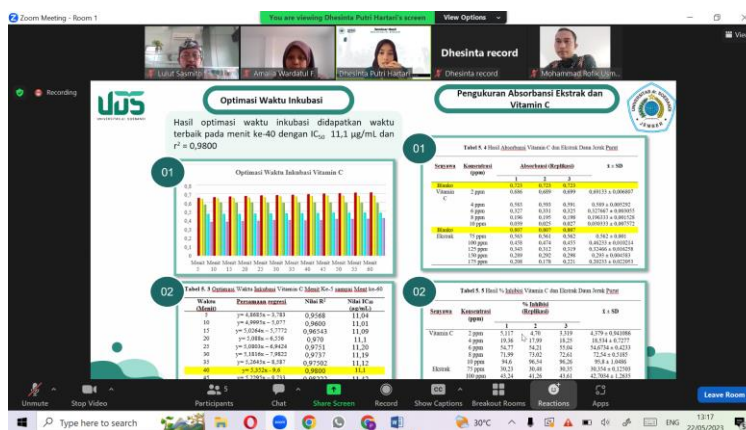
Reference or standard of product specification to Analar standard and ACS specification

PT. SMART LAB INDONESIA


Yuvraj Sagvekar
 Head QC

Ruko Boulevard Taman Tero Blok E No.10-11 BSD Sektor XI Serpong Tangerang - Indonesia
 Telp : (62-21) 7588 0205, Fax : (62-21) 7588 0198 Website: www.smartlab.co.id Email : sales@smartlab.co.id

Lampiran 17. Dokumentasi Seminar Hasil



Lampiran 18. Uji Plagiasi Turnitin

turnitin		Similarity Report ID: oId-20222-35489959
PAPER NAME	AUTHOR	
Naskah_Skripsi_Dhesinta_Putri_Hartari_1 9040025_Farmasi_19A_FIX_1 (3).pdf	Dhesinta	
WORD COUNT	CHARACTER COUNT	
16355 Words	95058 Characters	
PAGE COUNT	FILE SIZE	
113 Pages	3.0MB	
SUBMISSION DATE	REPORT DATE	
May 16, 2023 8:51 AM GMT+7	May 16, 2023 8:53 AM GMT+7	
● 22% Overall Similarity The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database. • 20% Internet database • 7% Publications database • Crossref database • Crossref Posted Content database • 13% Submitted Works database		
● Excluded from Similarity Report • Bibliographic material • Cited material • Small Matches (Less than 10 words)		
Summary		