

**PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI
SOXHLETASI DAN SONIKASI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*)**

SKRIPSI



Oleh:

Dinda Azzah Aulia

19040030

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2023

**PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI
SOXHLETASI DAN SONIKASI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Dinda Azzah Aulia

19040030

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan disetujui untuk

Mengikuti seminar proposal Program Studi Sarjana Farmasi

Universitas dr. Soebandi

Jember, 08 Februari 2023

Pembimbing Utama,



Dr. apt. Nuri, M.Farm

NIDN. 0012046905

Pembimbing Anggota,



apt. Dhina Ayu Susanti, M.kes

NIDN. 0729098401

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Soxhletasi dan Sonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Senin
Tanggal : 31 Juli 2023
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



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

NIDN.0705019003

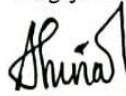
Penguji II



Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si

NIDN. 0012046905

Penguji III



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes

NIDN. 0729098401

Mengesahkan

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dr. Soebandi



Apt. EMBER Setyaningrum, M. Farm

NIDN. 07030668903

LEMBAR PERNYATAAN ORSINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dinda Azzah Aulia

Nim : 19040030

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan 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 sebenar-benarnya.

Jember, 31 Juli 2023

Yang Menyatakan,



(Dinda Azzah Aulia)

SKRIPSI

**PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI
SOXHLETASI DAN SONIKASI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN JERUK NIPIS
(*Citrus aurantifolia*)**

Oleh :

Dinda Azzah Aulia

Nim. 19040030

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT , karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar dan tepat waktu;
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
3. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Sarjana Farmasi Univeritas dr.Soebandi, khususnya kepada dosen pembimbing skripsi saya Bapak Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si dan Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes yang telah sabar dalam membimbing saya dan telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi saya;
4. Kepada kedua orang tua saya yang telah berjuang untuk saya dalam hal pendidikan, yang selalu mendoakan saya dan memberikan semangat untuk saya. Saya mengucapkan banyak terimakasih karena saya tidak pernah merasakan kekurangan dalam hal apapun, saya juga berterimakasih kepada adik saya yang selalu menghibur saya ketika saya merasa lelah dan patah semangat untuk menyelesaikan skripsi ini, saya berharap semoga skripsi ini menjadi tahap awalan untuk membahagiakan kedua orang tua saya;
5. Kepada Rafli Aditya yang selalu menemani saya mengerjakan skripsi, menghibur, memberikan semangat, mendengarkan keluh kesah saya dan membantu memberikan solusi;

6. Kepada Atikah Pujiastuti sahabat yang menemani saya dari Pra Ospek sampai saat ini, seseorang yang selalu ada buat saya 24 jam, teman tidur saya, teman berkeluh kesah, teman berbagi cerita, teman makan dan minum saya;
7. Kepada teman tongkrongan saya Atikah, Aninda dan Ferin, terimakasih telah mengajak saya mencari suasana baru untuk mengerjakan skripsi;
8. Kepada teman seperjuangan saya dalam melakukan penelitian ini Diana Rezhanti dan Sri Wijayanti, saya mengucapkan terimakasih banyak karena telah sabar menjalani penelitian ini dengan saya;
9. Almamater Universitas dr.Soebandi Jember;

MOTTO

“Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu dan sesungguhnya yang demikian sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu”

-QS. Al-Baqarah:45

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain)”

-QS. Al-Insyirah: 6-7

“Tidak ada sesuatu yang mustahil untuk dikerjakan. Hanya tidak ada sesuatu yang mudah”

-Napoleon Bonaparte

ABSTRAK

Aulia, Dinda Azzah* Nuri** Susanti, Dhina Ayu***.2023. **Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Soxhletasi dan Sonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi. Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : Makanan instan dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan yaitu daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Dalam daun jeruk nipis terdapat flavonoid seperti kuersetin dan fenolik yang telah diketahui sebagai antioksidan. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi panas dan dingin yaitu sonikasi dan soxhletasi, pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

Metode : Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* dengan metode DPPH sebagai radikal bebas, kuersetin sebagai pembanding, dua metode ekstraksi yaitu soxhletasi dan sonikasi dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

Hasil Penelitian : Rendemen ekstrak daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi $21,3400 \pm 0,47885\%$ dan sonikasi $19,4967 \pm 0,86731\%$. Nilai IC_{50} kuersetin $21,8333 \pm 3,05474 \mu\text{g/ml}$, ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi $81,3067 \pm 8,21259 \mu\text{g/ml}$ dan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode sonikasi $78,7600 \pm 3,71617 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} kuersetin termasuk dalam kategori sangat kuat sedangkan ekstrak etanol daun jeruk nipis termasuk dalam kategori kuat.

Kesimpulan : Metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi mempengaruhi hasil rendemen tetapi tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Kata Kunci : Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), Soxhletasi dan Sonikasi, Aktivitas Antioksidan, DPPH

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Aulia, Dinda Azzah* Nuri** Susanti, Dhina Ayu***. 2023. **Effect of Soxhletation and Sonication Extraction Methods on Antioxidant Activity of Lime (*Citrus aurantifolia*) Ethanol Extract**. Thesis. Pharmacy Undergraduate Study Program. dr. University Soebandi.

Background : Instant food can cause degenerative diseases. One of the plants that is widely used for treatment is lime leaves (*Citrus aurantifolia*). In lime leaves there are flavonoids such as quercetin and phenolic which have been known as antioxidants. In this study, hot and cold extraction methods were used, namely sonication and soxhletation, the solvent used was 96% ethanol. Testing of antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method.

Method : This study used a true experimental design using the DPPH method as a free radical, quercetin as a comparison, two extraction methods namely soxhletation and sonication with concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm and 250 ppm.

Result : The yield of lime leaf extract using the soxhletation method was $21.3400 \pm 0.47885\%$ and sonication $19.4967 \pm 0.86731\%$. The IC₅₀ value of quercetin was $21.8333 \pm 3.05474 \mu\text{g/ml}$, the ethanol extract of lime leaves using the soxhletation method $81.3067 \pm 8.21259 \mu\text{g/ml}$ and the ethanol extract of lime leaves using the sonication method $78.7600 \pm 3.71617 \mu\text{g/ml}$. The IC₅₀ value of quercetin is included in the very strong category while the ethanol extract of lime leaves is included in the strong category.

Conclusion : The soxhletation and sonication extraction methods affected the yield but did not affect the antioxidant activity.

Keyword : Lime Leaves (*Citrus aurantifolia*), Soxhletation and Sonication, Antioxidant Activity, DPPH

* Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Soxhletasi Dan Sonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)”**. Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan pengarahan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Andi Eka Pranata, S.St., S.Kep., Ns., M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi.
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember dan Pembimbing Anggota
4. Bapak Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si selaku Pembimbing utama.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini terdapat kekurangan, sehingga penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun.

Jember, 31 Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain.....	5
1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat.....	5
1.4.4 Manfaat bagi Institut Pendidikan.....	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tanaman Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	7
2.1.1 Morfologi Tanaman	7
2.1.2 Klasifikasi Tanaman.....	7
2.1.3 Kandungan Kimia Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	9
2.1.4 Manfaat Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	9
2.2 Ekstraksi	10
2.2.1 Definisi	10

2.2.2	Macam-Macam Metode Ekstraksi	10
2.3	Radikal Bebas	14
2.4	Efek Radikal Bebas Dalam Tubuh	17
2.5	Antioksidan.....	17
2.5.1	Definisi	17
2.5.2	Mekanisme Antioksidan.....	19
2.6	Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	20
2.6.1	Definisi.....	20
2.6.2	Parameter Antioksidan	21
2.7	Pelarut.....	21
2.8	Kuarsetin.....	22
2.9	Instrumen Spektrofotometri UV-Vis	22
2.9.1	Definisi	22
2.9.2	Prinsip Spektrofotometri UV-Vis	23
2.9.3	Syarat Pengukuran Spektrofotometri UV-Vis.....	24
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	25
3.1	Kerangka Konsep.....	25
3.2	Hipotesis Penelitian	26
BAB 4	METODE PENELITIAN	27
4.1	Desain Penelitian	27
4.2	Populasi dan Sampel.....	27
4.2.1	Populasi	27
4.2.2	Sampel	27
4.3	Variabel Penelitian	27
4.3.1	Variabel Bebas	27
4.3.2	Variabel Terikat	28
4.4	Tempat Penelitian	28
4.5	Waktu Penelitian.....	28

4.6	Definisi Operasional	29
4.7	Teknik Pengumpulan Data	30
4.7.1	Alat dan Bahan	30
4.7.2	Persiapan Sampel	30
4.7.3	Ekstraksi Sampel	31
4.7.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif.....	32
4.8	Teknik Analisis Data	35
BAB 5	HASIL PENELITIAN	37
5.1	Hasil Determinasi	37
5.2	Ekstraksi	37
5.3	Optimasi Panjang Gelombang Maksimum.....	39
5.4	Optimasi Waktu Inkubasi	39
5.5	Aktivitas Antioksidan	40
5.5.1	Kuersetin	41
5.5.2	Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Soxhletasi.....	41
5.5.3	Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Sonikasi	42
5.6	Hasil Analisis Data	43
BAB 6	PEMBAHASAN	46
6.1	Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	46
6.2	Aktivitas Antioksidan	48
BAB 7	KESIMPULAN	53
7.1	Kesimpulan	53
7.2	Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
DAFTAR LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1.5 Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Kandungan Daun Jeruk Nipis	9
Tabel 2.2 Antioksidan Alami	19
Tabel 2.3 Parameter Antioksidan.....	21
Tabel 4.6 Definisi Operasional	29
Tabel 5.1 Perhitungan Besar Rendemen	38
Tabel 5.2 Persamaan Nilai Regresi Linier Menit Ke-10 Sampai ke-60.....	40
Tabel 5.3 Uji Aktivitas Kuersetin	41
Tabel 5.4 Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Ekstraksi Soxhletasi	41
Tabel 5.5 Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Ekstraksi Sonikasi.....	42
Tabel 5.6 Hasil Analisis Data	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	8
Gambar 2.2 Pembentukan Radikal Bebas dan Antioksidan.....	14
Gambar 5.1 Optimasi Inkubasi Kuersetin	40

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	: <i>2,2-Azinobis-3-Ethylbenzoathiazoline-6-sulfonic acid</i>
BHA	: <i>Butylated Hydroxy Anisole</i>
BHT	: <i>Butylated Hydroxy Toluene</i>
CUPRAC	: <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Activity</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
IC50	: <i>Inhibiton Concentration</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
ORAC	: <i>Oxygen Radical Absorbing Capacity</i>
p.a	: <i>Pro analisis</i>
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan zaman di era modern saat ini, telah banyak masyarakat yang mengubah pola hidup mereka. Hal ini bisa dilihat dari pola makan masyarakat yang lebih memilih untuk memakan makanan yang tidak sehat seperti makanan instan yang disertai terpaparnya zat kimia yang berbahaya yang masuk ke dalam tubuh manusia sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Penyebab penyakit degeneratif sebagian besar karena adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam sel tubuh manusia. Stres oksidatif dapat terjadi karena adanya ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan jumlah antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh manusia. Keadaan ini jika tidak diatasi dengan cara yang tepat dapat menimbulkan berbagai macam penyakit degeneratif seperti penuaan dini, kanker, diabetes, jantung koroner dan berbagai penyakit degeneratif lainnya. Kanker merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan oleh adanya radikal bebas, terutama radikal bebas eksogen seperti asap rokok (zat karsinogen). Karsinogenesis merupakan proses kompleks dan bertingkat yang dimulai dengan terbentuknya populasi sel yang abnormal dan kemudian ditingkatkan ke arah mutasi dan perubahan pola ekspresi gen. Pada umumnya kanker timbul karena paparan terhadap suatu karsinogen. Radikal bebas yang bereaksi dengan DNA akan menyebabkan perubahan basa-basa DNA yaitu terjadinya mutasi. Mutasi DNA ini yang menginduksi terbentuknya karsinogenik, sebagai faktor utama penyebab kanker (Simanjuntak 2012).

Di Indonesia angka kejadian penyakit degeneratif semakin meningkat. Berdasarkan hasil riset kesehatan (2018) prevalensi stroke dari 7% menjadi 10,9%, hipertensi dari 25,8% menjadi 34,1%, kanker dari 1,4% menjadi 1,8%. Radikal bebas yang terbentuk dari reaksi oksidasi merupakan penyebab dari penyakit degeneratif. Oksidasi merupakan pengurangan tingkat elektron sehingga terjadi peningkatan muatan positif. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, seperti saat kita bernafas dan proses metabolisme dalam tubuh, reaksi ini dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Kusbandari dkk, 2017).

Antioksidan didefinisikan sebagai zat yang menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh. Antioksidan merupakan zat yang dapat menangkal terbentuknya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Lung dkk, 2018). Antioksidan dibedakan menjadi 2 yaitu, antioksidan sintetis dan antioksidan alami. *Butylated Hydroxy Anisole* dan *Butylated Hydroxy Toluena* merupakan contoh dari antioksidan sintetis. Contoh dari antioksidan sintetis tersebut memiliki efek karsinogenesis sehingga penggunaan beralih pada antioksidan yang berasal dari bahan alam. Antioksidan alami dapat berupa vitamin A, vitamin E, vitamin C, kartenoid, senyawa fenolik dan polifenolik seperti golongan flavonoid. Antioksidan alami dapat dijumpai pada tumbuhan, seperti bunga, daun dan buah (Hani dkk, 2016).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan yaitu daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terdapat aktivitas biologi yaitu, antibakteri, antivirus, antioksidan, antijamur, antiinflamasi, dan analgesik. Dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terdapat

flavonoid seperti kuarsetin dan fenolik yang telah diketahui sebagai antioksidan (Pallavi *et.al.*, 2017).

Metode Ekstraksi merupakan metode yang digunakan untuk menarik senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun jeruk nipis dengan menggunakan pelarut yang selektif. Metode ekstraksi dapat berpengaruh pada konsentrasi senyawa metabolit dari simplisia karena memiliki sifat yang stabil dan dapat terurai. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu metode ekstraksi dengan cara panas dan dingin. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi panas dan dingin yaitu sonikasi dan soxhletasi. Ekstraksi sonikasi (*Ultrasonic-assisted extraction*) merupakan metode dengan cara dingin yang didefinisikan sebagai suatu metode ekstraksi dengan dibantu ultrasonik. Metode ekstraksi sonikasi ini digunakan untuk mendapatkan kandungan antioksidan pada daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan waktu singkat dan menggunakan suhu ruang (Sholihah dkk, 2017). Ekstraksi soxhletasi adalah ekstraksi dengan cara panas yang dapat menghasilkan ekstrak lebih banyak dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, biasanya dilakukan dengan peralatan khusus sehingga terjadi ekstraksi terus menerus dengan jumlah pelarut yang relatif konstan pada kondisi pendinginan kembali (Istiqomah, 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). DPPH merupakan suatu senyawa yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. DPPH memiliki keuntungan yaitu sangat mudah dan sederhana saat digunakan, membutuhkan sampel yang sedikit dan waktu singkat (Wulansari, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan terhadap daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diekstraksi menggunakan metode panas dan dingin, yaitu sonikasi dan soxhletasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Dipilih pelarut etanol 96% karena etanol 96% mudah menguap sehingga tidak ada sisa pelarut pada ekstrak, kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Untuk mengetahui aktivitas antioksidannya digunakan senyawa DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apakah metode ekstraksi sonikasi dan soxhletasi berpengaruh terhadap besar rendemen ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ?
- 2) Apakah metode ekstraksi sonikasi dan soxhletasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi pengaruh metode ekstraksi sonikasi dan soxhletasi terhadap besar rendemen ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

- 2) Menganalisa pengaruh metode ekstraksi sonikasi dan soxhletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

- 1) Mengetahui pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).
- 2) Dapat mengaplikasikan ilmu untuk melakukan penelitian terkait pengaruh perbedaan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan mampu dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk menentukan metode ekstraksi yang mendapatkan hasil optimal dalam mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini mampu memberikan informasi serta menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat di bidang kesehatan dan potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.4.4 Manfaat Bagi Institut Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan penambahan ilmu pengetahuan khususnya bagi ilmu kefarmasian mengenai metode ekstraksi yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Judul	Persamaan	Perbedaan
(Henny Nurhasnawati, Sukarmi, Fitri Handayani, 2017)	Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (<i>Syzygium malaccense</i> L.)	1. Menggunakan metode DPPH	1. Menggunakan pelarut etanol 70% 2. Menggunakan sampel daun jambu bol
(Anna Khumaira Sari, Risma Ayati, 2018)	Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) Dengan metode DPPH	1. Menggunakan metode DPPH	1. Menggunakan pelarut etanol 70% 2. Menggunakan sampel Daun Jeruk Purut
(Rezky Yanuary, 2021)	Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) Secara Spektrofotometri UV-Vis	1. Menggunakan metode DPPH 2. Menggunakan pelarut etanol 96% 3. Menggunakan sampel daun jeruk nipis	1. Menggunakan metode ekstraksi maserasi
(Tati Herlina, Euis Julaeha, E. Evy Ernawati, Darwati, & Muhammad Nurzaman, 2020)	Antioksidan Dari Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) Peningkat Imunitas Dalam Tubuh Dalam Menghindari Covid-19	1. Menggunakan metode DPPH	1. Menggunakan pelarut etanol p.a dan metanol 2. Sampel yang digunakan berupa minyak atsiri daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) 3. Menggunakan metode ekstraksi hidrodestilasi

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

2.1.1 Morfologi Tanaman

Tanaman jeruk merupakan tanaman yang berasal dari Asia, tanaman jeruk sudah lama tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan. Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah tanaman yang memiliki bentuk pohon kecil memiliki cabang yang lebat dan tidak beraturan tingginya berkisar 1,5 sampai 5 meter. Batang pohon berkayu ulet, keras dan berduri. Permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam (Hanafi, 2020).

Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan daun majemuk, bentuk *ellips* dengan pangkal yang membulat, ujung tumpul dan tepi bergerigi. Memiliki daun yang berukuran panjang 4-8 cm dan lebar 5 cm. Daunnya memiliki tepi yang bergerigi kecil dan tangkai daun bersayap sempit. Permukaan daun berwarna hijau tua untuk bagian atas sedangkan pada bagian bawah berwarna hijau muda (Adlini dkk, 2021).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman

Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) termasuk dalam famili *Rutaceae*. Famili *Rutaceae* memiliki 150 genus yaitu ada yang tumbuh secara liar dan ada juga yang dibudidayakan (Tuasamu, 2018).



(Sumber: Yuwono, 2015)

Gambar 2.1 Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Divisi : Magnoliophyta

Sub divisi : Spermatophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub kelas : Rosidae

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : *Citrus aurantifolia*

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki kandungan senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, tanin dan fenolik. Senyawa-senyawa tersebut yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu fenolik, flavonoid dan quersetin. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki kandungan sebagai antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ (Julizan, 2019).

Senyawa flavonoid memiliki fungsi bagi tubuh yaitu untuk melindungi struktur sel tubuh karena memiliki kerja sama yang baik dengan vitamin C antara lain untuk meningkatkan efektivitas vitamin C, mencegah kerapuhan tulang dan sebagai antibiotik (Rhamadanti dkk, 2021).

Tabel 2.1 Kandungan Daun Jeruk Nipis (Rhamadanti dkk, 2021)

Senyawa Aktif	Komponen Dalam Minyak Atsiri	Senyawa Organik
Asam sitrat	Acetaldehyde	Vitamin A
Eriotricin	A penen	Vitamin B1
Hesperidin	Sabinene	Vitamin C
Neopenocirin	Myrcene	Asam amino
Limonene	Octano	Protein
Tannin	Terpinolene	Steroid
Feleadren	Cis-1 pent-1 ol	Alkaloid

2.1.4 Manfaat Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Menurut Rhamadanti (2021) daun jeruk nipis memiliki aktivitas farmakologis yaitu sebagai antibakteri, antiinflamasi, antijamur, antikanker dan antioksidan. Daun jeruk nipis terdapat efek yang bergantung pada konsentrasi pada oksidasi LDL (*Low density lipoprotein*). Aktivitas antioksidan daun jeruk nipis berasal dari kemampuan mondonor hidrogen yang disebabkan oleh adanya flavonoid, karotenoid dan Vitamin C. Selain itu,

senyawa flavonoid yang terdapat pada daun jeruk nipis bisa untuk mengobati influenza dan air rebusan dari daun jeruk nipis dapat digunakan untuk meringankan demam, meringankan sakit kepala dan meringankan sakit tenggorokan.

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Definisi

Ekstraksi dapat diartikan sebagai suatu metode pemisahan suatu zat yang pada dasarnya terdapat perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut. Ekstraksi bertujuan untuk menyari senyawa aktif yang terdapat pada bahan alam. Senyawa-senyawa aktif seperti antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan yang dapat di ekstrak dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2016).

2.2.2 Macam-Macam Metode Ekstraksi

1) Maserasi

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi yang paling sering digunakan dan paling mudah. Maserasi berasal dari kata *macerace* yang berarti melunakkan, merendam atau mengairi. Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan simplisia tanaman dan pelarut sesuai yang digunakan kedalam wadah inert kemudian tutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi maserasi dihentikan ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut dan senyawa dalam sel tanaman sudah tercapai

kesetimbangannya. Setelah proses ekstraksi, dilakukan penyaringan untuk memisahkan pelarut dari sampel (Mukhriani, 2016).

Ekstraksi maserasi memiliki keuntungan yaitu praktis digunakan, alat dan bahan yang digunakan sederhana dan juga ekstrak yang dihasilkan banyak. Selain dari alat dan bahan yang sederhana, senyawa dalam simplisia terhindar dari perubahan kimia oleh senyawa akibat adanya pemanasan. Ekstraksi maserasi juga memiliki kerugian yaitu butuh waktu lama, banyaknya pelarut yang digunakan, beberapa senyawa yang sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2016)

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan dilakukan pada suhu ruang, dapat dilakukan dengan mengalir pelarut melalui kolom perkolator yang diisi dengan sampel, ekstrak akan dikeluarkan secara perlahan melalui keran. Penambahan pelarut dapat dihentikan jika perkolat sudah tidak mengandung komponen yang akan diambil. Keuntungan pada ekstraksi perkolasi yaitu sampel selalu dialiri dengan pelarut yang selalu baru, sedangkan kerugiannya yaitu jika sampel yang berada perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan membutuhkan banyak waktu (Atun, 2014).

3) Digesti

Digesti merupakan suatu metode ekstraksi yang biasa disebut dengan maserasi kinetik yaitu ekstraksi dengan pengadukan kontinyu dengan menggunakan temperatur panas yang lebih tinggi dari suhu kamar, dilakukan pada suhu 40-50°C (Saepudin dkk, 2020).

4) Refluks

Refluks merupakan suatu metode ekstraksi dengan membutuhkan bantuan pemanasan dan mampu mengekstraksi senyawa tahan panas. Ekstraksi refluks menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya. Refluks dilakukan dengan memasukkan dua bahan atau lebih yang akan direaksikan ke dalam labu alas bulat. Kemudian sambungkan labu dengan pendingin bola yang sudah disambungkan dengan selang untuk air pendingin, setelah semua alat terpasang labu dipanaskan sampai semua campuran mendidih. Uap pelarut akan naik sampai pendingin bola dan akan terkondensasi kembali ke dalam labu. proses tersebut berlanjut sampai diperoleh hasil yang diinginkan (Mohan dkk, 2013).

5) Sonikasi

Sonikasi merupakan suatu metode ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 16-20 kHz. Ultrasonik adalah metode ekstraksi non termal yang bisa meningkatkan laju transfer massa serta memecahkan dinding sel dengan banyaknya *microcavity* sehingga mempersingkat waktu pada proses ekstraksi dan

mengoptimalkan penggunaan pelarut. Meningkatnya kontak dengan cepat antara ekstrak dan solven menyebabkan penetrasi cairan menuju dinding sel dan lepasnya komponen sel meningkat. Kelebihan dari ekstraksi sonikasi yaitu kecepatan proses ekstraksi dibandingkan dengan ekstraksi termal atau konvensional, dapat mengeluarkan ekstrak tanpa merusak struktur ekstrak, mencegah hilangnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Yuliantari dkk, 2017).

6) Soxhletasi

Soxhletasi merupakan suatu metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel dan membran sel akibat adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Dengan begitu, metabolit sekunder di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Kemudian larutan tersebut akan menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Jika larutan melewati batas lubang pipa yang berada disamping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi, sirkulasi tersebut yang akan menghasilkan ekstrak (Febryanto, 2017).

Keuntungan pada metode soxhletasi yaitu pelarut organik dapat menarik senyawa organik bahan alam secara berulang-ulang, lebih efisien dalam waktu yang digunakan dan proses ekstraksi berjalan terus-menerus tanpa menambah volume pelarut. Sedangkan kerugian pada metode soxhletasi yaitu larutan dipanaskan secara terus-menerus

sehingga kurang sesuai pada zat aktif yang tidak tahan panas, cairan penyari dididihkan terus-menerus sehingga cairan penyari harus murni (Febryanto, 2017).

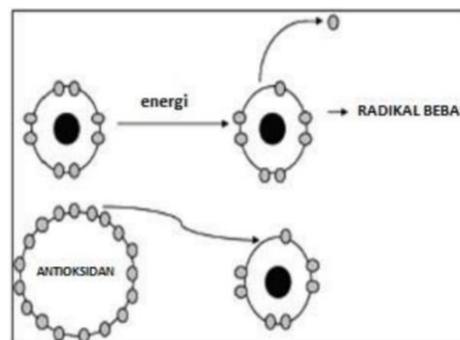
7) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan infusa dapat dilakukan dengan memanaskan simplisia di atas pemanas air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90°C sambil diaduk sesekali, kemudian dilakukan penyarian (Khafidhoh dkk, 2015).

8) Dekokta

Dekok merupakan suatu proses penyarian yang proses pembuatannya sama dengan infusa, namun pada dekokta waktu yang digunakan lebih lama yaitu selama 30 menit dengan suhu 90°C (Khafidhoh dkk, 2015).

2.3 Radikal Bebas



(Sumber : Andarina dkk, 2017)

Gambar 2.2 Pembentukan radikal bebas dan antioksidan menstabilkan radikal bebas

Radikal bebas atau bisa disebut dengan *reactive oxygen species* (ROS) merupakan suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya, memiliki sifat yang reaktif dan labil. Molekul oksigen yang tidak berpasangan ini akan mencari dan merebut elektron dari komponen vital didekatnya untuk melepaskan energi ekstra dan kembali dalam kondisi stabil. Senyawa radikal bebas adalah salah satu faktor penyebab kerusakan DNA. Jika kerusakan tidak terlalu parah, masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Tetapi, jika sudah menyebabkan rantai DNA putus di berbagai tempat, maka kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu. Bahkan bisa menyebabkan terjadinya perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu di dalam tubuh yang bisa menimbulkan penyakit kanker (Andarina dkk, 2017).

Secara umum sumber radikal bebas berasal dari 2 sumber antara lain : Sumber endogen dan sumber eksogen. Radikal bebas endogen dapat dibentuk dari sumber enzimatik dan non enzimatik. Sumber endogen enzimatik berasal dari metabolisme oksigen pada mitokondria yaitu mitokondrial oksidase, monoamin oksidase, mieloperoksidase, xantin oksidase dan nitrit oksida sintatase. Dalam proses metabolisme oksidatif mitokondria glukosa akan dipecah menjadi adenosin trifosfat (ATP) dan air. Sebagai reaksi samping molekul oksigen akan dikonversi menjadi anion seuperoksida yang merupakan ROS poten. Diperkirakan 1% sampai 2% oksigen dalam sel menghasilkan anion superoksida. Selain proses degenerasi ATP, ROS juga dihasilkan dari xantin oksidase yang mendegradasi nukleotida purin dan mengkatalisis hipoksantin menjadi xantin lalu menjadi asam urat oleh nitrit oksida

sintase untuk memproduksi nitrit oksida. Pada proses tersebut akan terbentuk sejumlah besar anion superoksida yang akan dikonversi secara spontan oleh superoksida dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2).

Sumber endogen non enzimatis ROS adalah hidrogen peroksida yang merupakan kunci reaksi *Fenton*. Pada reaksi *fenton* hidrogen peroksida bereaksi dengan besi atau tembaga dan terbentuk radikal hidroksil ($OH\cdot$) yang merupakan ROS paling tidak stabil (Andarina dkk, 2017).

Sumber eksogen berasal dari polusi udara, asap rokok, alkohol, radiasi sinar UV, obat-obatan tertentu seperti anastesi, pestisida, sinar X dan kemoterapi. Pembentukan ROS paling banyak oleh UVA. Paparan UV berarti terdapat transmisi foton energik melalui lapisan kulit yang kemudian diabsorpsi oleh molekul sel kromofor atau *photosensitizer* sehingga timbul efek biologik. Ultraviolet A bereaksi dengan *photosensitizer* atau kromofor pada kulit, seperti sitokrom, riboflavin, heme dan porfirin. Kromofor menyerap energi dari panjang gelombang UVA. Energi dilepaskan sehingga bisa stabil dengan mentransfer molekul oksigen dan terbentuk *singlet oxygen* dan ROS lain. Polutan lingkungan seperti hidrokarbon aromatik polisiklik dapat dirubah menjadi ROS yang diperantarai oleh quinon. Penelitian *in vitro* dan *in vivo* memperlihatkan hidrokarbon aromatik polisiklik dan *benzoapyrene* bekerja sebagai *photosensitizer* bersama paparan sinar UVA secara sinergis menghasilkan superoksida dan *singlet oxygen* (Andarina dkk, 2017).

2.4 Efek Radikal Bebas Dalam Tubuh

Kadar radikal bebas dalam tubuh yang tinggi jika tidak dijaga dengan baik bisa menyebabkan berbagai penyakit yang serius yaitu stroke, jantung, kanker, hipertensi dan penyakit lainnya yang disebabkan oleh stress oksidatif. Adanya stres oksidatif dapat merusak beberapa jaringan didalam tubuh seperti *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), protein dan lipid (Widayati, 2022).

Interaksi radikal bebas dengan basa DNA dapat menyebabkan berubahnya struktur kimia DNA, apabila tidak segera diperbaiki hal tersebut akan mengakibatkan mutasi yang dapat diturunkan. Jika sel DNA pada sel somatik mengalami kerusakan dapat menyebabkan inisiasi keganasan. Reaksi radikal bebas dan dengan lipid dan plasma lipoprotein dapat terjadi adanya pembentukan lipid peroksida secara kimia yang bisa menyebabkan modifikasi protein, basa nukleat dan asam amino dalam nukleat. Imunitas yang dihasilkan dalam tubuh akan bereaksi silang dengan protein dalam jaringan, hal ini merupakan awal terjadinya berbagai penyakit autoimun (Widayati, 2022).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi

Antioksidan merupakan komponen kimia yang terdiri atas monohidroksil atau polihidroksil fenol. Antioksidan bekerja pada beberapa cara yang berbeda terhadap proses oksidatif yaitu *scavenging* radikal lipid peroksil, berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan memiliki fungsi yaitu menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan

ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi (Andarina dkk, 2017)

Kulit manusia merupakan gabungan dari mekanisme pertahanan antioksidan enzimatik dan antioksidan non enzimatik terhadap ROS. Antioksidan enzimatik terdiri dari superoksida dimutase (SOD), katalase dan *glutation peroksidase* (*GSH peroksidase*). Antioksidan enzimatik bekerja untuk menstabilkan H_2O_2 . Superoksida dimutase mengkatalisis anion superoksida menjadi H_2O_2 yang merupakan ROS kurang reaktif. Hidrogen peroksida diuraikan oleh katalase dan *GSH peroksidase* menjadi H_2O dan O_2 . Antioksidan non enzimatik ialah alfa tokoferol (Vitamin E), asam askorbat (Vitamin C), *glutation* dan *ubiquinon* (Andarina dkk, 2017).

Menurut Sari (2016) sumber antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang berasal dari hewan dan tumbuhan. Antioksidan herbal alami yaitu senyawa fenolik seperti flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik multifungsi. Senyawa fenolik terdapat pada tumbuhan, termasuk kayu, biji, daun, buah dan bunga. Flavonoid bereperan dalam melawan radikal bebas karena flavonoid memiliki kemampuan untuk memodifikasi atau mereduksi radikal bebas. Antioksidan alami yang terdapat pada sayuran dan biji-bijian yaitu vitamin C, vitamin E, beta-karoten dan senyawa fenolik. Antioksidan alami ini memiliki kemampuan untuk melakukan kerusakan oksidatif yang berhubungan dengan penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, jantung koroner, arthritis dan penyakit degeneratif

lainnya. Tanaman-tanaman yang mengandung fenol dan flavonoid memiliki sifat antioksidan kuat (Sari, 2016).

Tabel 2.1 Antioksidan Alami (Sayuti, 2015)

No.	Komponen Antioksidan	Bahan Pangan
1.	Vitamin A	Jeruk, mentega, margarin, buah berwarna kuning
2.	Vitamin E	Tomat, biji bunga matahari, biji-bijian dengan kadar minyak yang tinggi, susu dan kacang-kacangan
3.	Vitamin C	Buah-buahan seperti : kiwi, anggur, jeruk, apel, pisang, tomat, melon, pir, sayuran dan kentang
4.	Vitamin B2	Susu, daging, telur, ikan, sereal tanpa polis dan kacang-kacangan
5.	Karotenoid (Prekursor vitamin A)	Wortel, melon, daun hijau dan citrus
6.	Seng (Zn)	Makanan sumber hewani seperti : ikan, susu, krustase, daging merah
7.	Tembaga (Cu)	Kadar makanan tergantung pada konsentrasi Cu dalam tanah, hati, sereal
8.	Selenium	Sereal, daging dan ikan
9.	Protein	Gandum dan telur

Antioksidan sintetik umumnya adalah BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), BHA (*Butylated Hydroxyle Anisole*) dan propil galat. Penggunaan antioksidan sintetik memiliki dampak buruk bagi kesehatan manusia seperti gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan. Hal ini terjadi jika penggunaan dosis antioksidan sintetik melebihi batas yang telah ditentukan yaitu 0,01-0,1% (Sari, 2016).

2.5.2 Mekanisme Antioksidan

Antioksidan melindungi sel dari adanya kerusakan radikal bebas, hal ini dapat dilakukan dengan mendonorkan satu elektron bebas ke radikal bebas atau menerima satu elektron yang tidak stabil sehingga menjadi stabil dan dapat menghentikan reaksi rantai serta mencegah kerusakan lipid, protein dan DNA.

Antioksidan yang mendonorkan elektron untuk radikal bebas akan menjadi antioksidan “Radikal”. Meskipun demikian antioksidan merupakan radikal yang paling tidak teaktif. Antioksidan “Radikal” dapat distabilkan dengan antioksidan lain. Antioksidan enzimatik dan non enzimatik bekerja sama secara sinergis untuk mentralkan ROS (Andarina dkk, 2017).

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

2.6.1 Definisi

Menurut Fitriana (2016) pengujian aktivitas antioksidan terdapat beberapa macam yaitu DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil*), ABTS (*2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbing Capacity*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Activity*). Pada penelitian ini metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil*) merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen.

DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil*) merupakan pengukuran aktivitas antioksidan secara *in vitro*, metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa uji dengan suatu radikal stabil. Metode DPPH dapat memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang

dapat menyebabkan hilangnya warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Turangan dkk, 2019)

2.6.2 Parameter Antioksidan

Nilai IC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} yang dieproleh maka potensi antioksidannya semakin besar (Nasution, 2015).

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	<50 μ /Ml
Kuat	50-100 μ /mL
Sedang	101-150 μ /mL
Lemah	>150 μ /mL

2.7 Pelarut

Pelarut berperan penting dalam proses penyarian senyawa kimia. Sifat kepolaran dari pelarut sangat berpengaruh dalam menyari senyawa target dari bahan bakunya. Ada beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut yaitu selektivitas, stabil, mudah diperoleh dan ekonomis. Pemilihan pelarut yang tidak selektif akan mempengaruhi pada hasil ekstrak yang diperoleh (Hakim dkk, 2020).

Pelarut etanol dengan berbagai konsentrasi telah umum digunakan untuk mendapatkan senyawa flavonoid dan senyawa fenolik. Penggunaan pelarut etanol dapat menjadi optimal apabila faktor konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi sesuai. Faktor-faktor ini tidak bisa disamaratakan dalam setiap

proses ekstraksi karena setiap bagian tumbuhan memiliki karakteristik yang berbeda (Hakim dkk, 2020).

Pada penelitian ini menggunakan pelarut polar yaitu etanol 96%. Etanol mampu menarik sebagian besar senyawa kimia berkhasiat pada tumbuhan. Senyawa flavonoid bersifat polar, oleh karena itu dibutuhkan pelarut yang bersifat polar seperti etanol. Keuntungan yang dimiliki pelarut etanol yaitu titik didih yang rendah maka lebih mudah menguap, oleh karena itu jumlah etanol yang tertinggal pada ekstrak sangat sedikit, serta ekstrak etanol sangat sulit ditumbuhi kuman dan kapang dan tidak beracun. Selain itu etanol juga sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Hakim dkk, 2020).

2.8 Kuarsetin

Kuarsetin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yang sering ditemukan pada sayur dan buah-buahan. Selain memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat kuarsetin juga mempunyai aktivitas biologi yaitu sebagai antivirus, antikanker dan antibakteri. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan kuarsetin terbukti memiliki aktivitas signifikan dalam menghambat beberapa sel kanker seperti prostat, kanker payudara, paru-paru dan kolon (Widyasari *et al.*, 2019).

2.9 Instrumen Spektrofotometri UV-Vis

2.9.1 Definisi

Spektrofotometer terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah alat yang menghasilkan sinar dari spektrum dan panjang gelombang

tertentu, sedangkan fotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang diabsorpsi. Jadi pengertian dari spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan atau direfleksikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultra violet dan cahaya tampak yang diserap oleh sampel (Elliwati, 2015).

Ultraviolet jauh memiliki rentang panjang gelombang ± 10 hingga 200 nm sedangkan untuk ultraviolet dekat memiliki rentang panjang gelombang ± 200 hingga 400 nm. Interaksi senyawa organik dengan sinar UV dan sinar tampak, bisa digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul ini yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut ialah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron bebas (non ikatan) (Suhartati, 2017).

2.9.2 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer memiliki prinsip kerja yaitu cahaya yang berasal dari lampu deuterium atau wolfram yang bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Kemudian monokromator akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karen itu, terdapat

cahaya yang diabsorpsi dan ada juga yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Kemudian detektor akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diabsorpsi oleh sampel. Cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Suhartati, 2017).

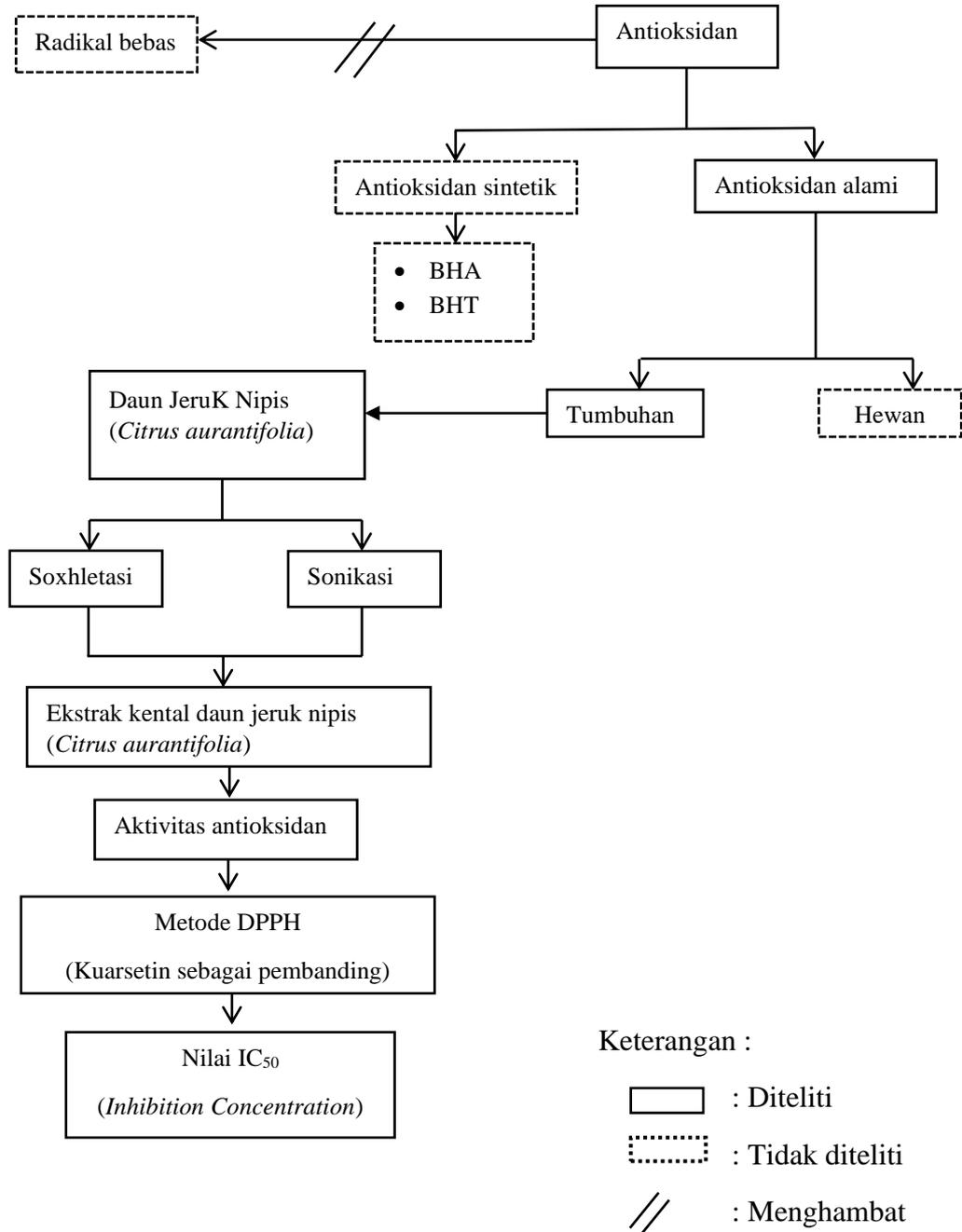
2.9.3 Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk penentuan pada sampel yang berupa larutan, gas dan uap. Umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Perlu diperhatikan beberapa hal sebagai persyaratan pelarut yang digunakan pada sampel :

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- 4) Kemurniannya harus tinggi.

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis adalah dugaan atau jawaban sementara terkait masalah yang menjadi penelitian. Berdasarkan kerangka konsep di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

H₀ : Metode ekstraksi sokhletasi dan sonikasi tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

H₁ : Metode ekstraksi sokhletasi dan sonikasi mempengaruhi aktivitas antioksidan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini desain yang dilakukan adalah *experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengidentifikasi pengaruh perbedaan metode ekstraksi sokhletasi dan sonikasi terhadap aktivitas antioksidan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menggunakan metode DPPH.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini menggunakan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diambil secara acak yang diperoleh dari daerah Srono Kabupaten Banyuwangi.

4.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari metode ekstraksi sokhletasi dan sonikasi.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak yang diperoleh metode ekstraksi sokhletasi dan sonikasi.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah rendemen ekstrak dan nilai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*).

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dimungkinkan dapat menguji variabel bebas dan variabel terikat. Variabel kontrol ini berfungsi sebagai pengontrol untuk memastikan apakah variabel bebas memiliki pengaruh terhadap variabel terikat atau ada pengaruh yang lain (Surahman dkk, 2016).

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), pelarut dan prosedur pengujian aktivitas antioksidan.

4.4 Tempat Penelitian

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

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023

4.6 Definisi Operasional

Variabel (yang diukur)	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Skala ukur	Hasil ukur
Ekstrak etanol daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Ekstrak yang diperoleh menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi dengan pelarut etanol 96% kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan etanol p.a	Ekstrak etanol daun jeruk nipis yang diencerkan dengan menggunakan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.	Timbangan dan volume	Rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari larutan induk
Rendemen ekstrak	Perbandingan berat ekstrak yang diperoleh terhadap berat simplisia sebagai bahan baku	Dihitung menggunakan rumus % rendemen ekstrak	Neraca analitik	Rasio	Nilai persen (%) rendemen ekstrak
Aktivitas antioksidan	Kemampuan untuk menghambat radikal bebas	Serapan larutan uji diukur pada panjang gelombang maksimum kemudian dilakukan persemaan regresi linier pada peredaman radikal bebas yang menghasilkan nilai IC_{50}	Spektro UV-Vis	Ordinal	Jika hasil yang didapat - $50\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat) - 50- - $100\mu\text{g/mL}$ (kuat) - 101- - $150\mu\text{g/mL}$ (sedang) - >$150\mu\text{g/mL}$ (lemah)

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

1) Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat ekstraksi soxhletasi, *ultrasonicator* (*Pulse 150*), *rotary evaporator* (*Heidolph*), spektrofotometer UV-VIS (*Shimadzu new UV-1900i*), kuvet, timbangan analitik (*Ohaus*), oven (*Memmert*), blender, *glassware*.

2) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diambil dari Kecamatan Srono Kabupaten Banyuwangi, etanol 96%, standar kuarsetin (p.a), etanol (p.a), DPPH (p.a).

4.7.2 Persiapan Sampel

1) Pengumpulan Sampel

Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diperoleh dari hasil budidaya petani pada bulan Februari 2023. Kriteria daun jeruk nipis yang diambil yaitu daun jeruk nipis muda dan diambil tiga sampai lima tingkatan teratas.

2) Determinasi Tanaman

Determinasi merupakan langkah awal yang dilakukan sebelum melaksanakan penelitian menggunakan tanaman. Hal ini

untuk mengetahui bahwa tanaman yang kita gunakan sudah sesuai. Determinasi dilakukan di Laboratorium Politeknik Negeri Jember.

3) Pembuatan Simplisia

Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah, dengan membersihkan daun jeruk nipis dari kotoran-kotoran yang menempel. Sampel ditiriskan untuk menghilangkan sisa air pencucian, setelah itu lakukan perajangan pada daun jeruk nipis dan lakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ sampai menjadi simplisia kering dan didapat kriteria simplisia daun mudah hancur ketika diremas (Nurjannah *et al.*, 2022).

4) Pembuatan Serbuk Simplisia

Simplisia daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang sudah kering diblender sampai halus sampai menjadi serbuk simplisia (Purwanto dkk, 2017).

4.7.3 Ekstraksi Sampel

1) Ekstraksi Soxhletasi

Proses ekstraksi soxhletasi ini, serbuk daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ditimbang sebanyak 150 gram, sampel dibungkus menggunakan kertas saring kemudian masukkan ke dalam alat soxhletasi. Sebagai pelarut yang digunakan etanol 96% diukur sebanyak 450 mL. Proses ekstraksi soxhletasi dilakukan pada

suhu 45°C sampai warna sampel berubah menjadi bening (Husnah dkk, 2019).

Selanjutnya dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental. (Susanty *et al.*, 2019).

2) Ekstraksi Sonikasi

Proses ekstraksi sonikasi ini, serbuk daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ditimbang sebanyak 150 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 450 mL dengan frekuensi 50 kHz selama 20 menit dengan suhu ruang. Setelah itu, sampel yang sudah disonikasi disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental (Yuliantari *et.al.*, 2017).

3) Perhitungan Rendemen Ekstrak

Ekstraksi Sonikasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan ekstraksi soxhletasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi, dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

4.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif

1) Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 4 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 mL dalam labu ukur (Yanuarty, 2021).

2) Optimasi Panjang Gelombang maksimum DPPH

Menentukan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, hal ini bertujuan untuk mengetahui besar panjang gelombang yang diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Larutan DPPH sebanyak 3 mL dilarutkan dalam 200 μ L etanol p.a ke dalam kuvet, homogenkan dan dibaca pada panjang gelombang 400-600 nm (Yanuary, 2021).

3) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Larutan uji ekstrak dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dilarutkan dengan pelarut etanol p.a dicukupkan hingga volumenya mencapai 10 mL sambil diaduk hingga homogen hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dilakukan dengan memipet larutan pada volume tertentu kemudian ditambahkan etanol p.a pada setiap seri konsentrasi (Yanuary, 2021).

4) Pembuatan Larutan Pembanding Kuarsetin

Larutan pembanding kuarsetin dibuat dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 1 mg kuarsetin dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 5 mL dihomogenkan dan dicukupkan hingga tanda batas. Larutan dibuat

dengan berbagai seri konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm (Yanuary, 2021).

5) Optimasi Waktu Inkubasi Kuarsetin

Optimasi waktu inkubasi dilakukan karena hal ini memiliki tujuan untuk menentukan waktu untuk sampel bereaksi secara maksimal. Optimasi waktu inkubasi dapat dilakukan dengan cara memipet 1 mL kuarsetin dengan seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm, selanjutnya ditambahkan larutan DPPH sebanyak 0,5 mL. Setelah itu dilakukan inkubasi di ruang gelap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dimulai dari menit ke-10 sampai dengan menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit pada panjang gelombang maksimum (Yanuary, 2021).

6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak

Etanol Daun Jeruk Nipis dan Larutan Kuarsetin

Pengukuran aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan memipet 1 ml larutan uji ekstrak dari masing-masing konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan larutan kuarsetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm, tambahkan sebanyak 0,5 mL larutan DPPH dan dihomogenkan, kemudian diinkubasi sesuai hasil optimasi dalam keadaan gelap pada suhu ruang. Diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Yanuary, 2021).

7) Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ (*Inhibitory cincentration*) adalah suatu gambaran konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Hasil perhitungan IC₅₀ dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan nilai presentase inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel yang digunakan ssebagai sumbu x. Semakin kecil nilai IC₅₀ aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Agustina *et.al.*, 2020).

Perhitungan IC₅₀ menggunakan persamaan :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}) \times 100\%}{(\text{Abs blanko})}$$

Dari persamaan regersi linier $y = bx + a$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus :

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan :

a : Intersep

b : Slope

4.8 Teknik Analisis Data

Pada penelitian ini teknik analisis data rendemen menggunakan uji *Independent Sample T-test* sedangkan analisis data pada nilai IC₅₀ menggunakan *One Way ANOVA* pada aplikasi SPSS. Pada uji *Independent Sample T-test* dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas, pada uji normalitas data dapat dikatakan terdistribusi normal apabila nilai *sig value* >0,05

dan data dikatakan homogen jika nilai *sig value* $>0,05$. Uji *Independent Sampel T-test* terdapat perbedaan secara signifikan jika nilai *sig value* $<0,05$ dan tidak terdapat perbedaan secara signifikan jika nilai *p* $>0,05$. Pada uji analisis *One Way ANOVA* uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, data dikatakan terdistribusi normal jika nilai *sig value* $>0,05$ sedangkan data dikatakan tidak terdistribusi normal apabila nilai *sig value* $<0,05$. Untuk uji homogenitas menggunakan *Lavene statistic*. Data dikatakan homogen jika nilai *sig value* $>0,05$ sedangkan data dikatakan tidak homogen jika nilai *sig value* $<0,05$, langkah berikutnya data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Post Hoc (LSD)* jika data yang dihasilkan *sig value* $<0,05$ maka terdapat perbedaan signifikan (Diana, 2022)

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan di UPA (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi tanaman menunjukkan bahwa daun jeruk nipis yang digunakan untuk penelitian merupakan spesies *Citrus aurantifolia* yang tergolong dalam famili *Rutaceae* dan genus *Citrus*. Hasil dari identifikasi tanaman terdapat pada (lampiran 1).

5.2 Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun jeruk nipis dilakukan dengan menggunakan 2 metode, yaitu soxhletasi dan sonikasi. Pada ekstraksi soxhletasi dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 150 gram dan pelarut yang digunakan sebanyak 450 ml, namun alat soxhlet yang digunakan pada saat penelitian hanya bisa menampung 50 gram dengan pelarut 150 ml. Ditimbang simpisia kering sebanyak 50 gram dan dibungkus dengan menggunakan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhletasi. Pelarut etanol 96% sebanyak 150 ml dimasukkan ke dalam labu soxhletasi, soxhletasi dihentikan sampai siklus hampir tidak berwarna hal ini membutuhkan waktu ± 7 jam. Ekstraksi soxhletasi ini diulang beberapa kali sampai 150 gram serbuk simplisia dalam 450 ml etanol 96% terekstraksi semua. Sampel yang sudah diekstraksi soxhletasi kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C.

Ekstraksi dengan metode sonikasi dilakukan dengan menimbang sebanyak 150 gram serbuk simplisia dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 450 ml

dan dimasukkan ke dalam alat sonikasi, dengan frekuensi 50 kHz selama 20 menit dengan suhu ruang. Sampel yang sudah di ekstraksi sonikasi kemudian disaring dan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Setelah mendapatkan ekstrak kental kemudian dihitung besar rendemen, hal ini bertujuan untuk mengetahui banyak atau besar ekstrak yang diperoleh dari dua metode ekstraksi. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada (lampiran 2) dan perhitungan besar rendemen dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Perhitungan Besar Rendemen

Metode Ekstraksi	Replikasi	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)	Rata-rata % Rendemen Ekstrak \pm SD%
Soxhletasi	1	150	31,25	20,83	21,34 \pm 0,47885
	2	150	32,12	21,41	
	3	150	32,68	21,78	
Sonikasi	1	150	30,12	20,08	19,49 \pm 0,86731
	2	150	27,76	18,50	
	3	150	29,87	19,91	

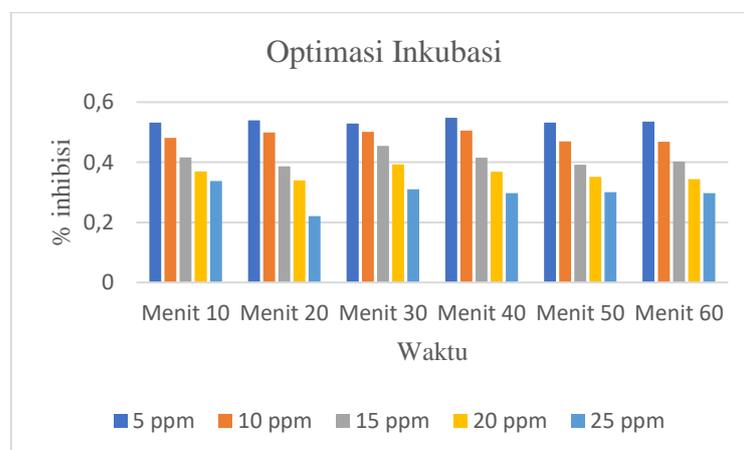
Hasil data nilai rendemen ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi dianalisa menggunakan *Independent Sample T-test* pada SPSS. Data lebih awal diuji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas. Data dikatakan terdistribusi normal jika *sig value* >0,05. Pada uji normalitas didapatkan *sig value* sebesar 0,758 untuk ekstraksi dengan metode soxhletasi dan nilai *sig value* sebesar 0,187 untuk ekstraksi dengan metode sonikasi. Dikatakan homogen jika nilai *sig value* >0,05. Pada uji homogenitas nilai *sig value* sebesar 0,215. Jika hasil data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *Independent Sample T-test*. Hasil dari analisa data dengan *Independent Sample T-test* didapatkan nilai *sig value* sebesar 0,032 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil rendemen ekstrak karena nilai *sig value* <0,05.

5.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan pada daerah panjang gelombang 400-600 nm dengan blanko yang digunakan adalah larutan DPPH 40 ppm. Penggunaan daerah panjang gelombang 400-600 nm dilakukan juga oleh (Yanuary, 2021). Hasil dari pengukuran panjang gelombang maksimum menunjukkan puncak panjang gelombang berada pada titik 515 nm dengan absorbansi 0,223. (lampiran 5).

5.4 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui waktu yang paling optimum suatu zat atau sampel bereaksi dengan maksimal. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah kuersetin dengan berbagai konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Optimasi waktu inkubasi kuersetin dilakukan pada menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Optimasi waktu inkubasi kuersetin

Dari nilai hasil absorbansi yang diperoleh kemudian data diolah menjadi % inhibisi dan diperoleh hasil regresi $y = bx + a$, nilai r^2 dan nilai IC_{50} dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit, data bisa dilihat pada tabel 5.2. Hasil inkubasi waktu optimum pada menit ke-60 dengan hasil persamaan regresi $y = 1,8666x + 8,359$, nilai $r^2 = 0,9975$.

Tabel 5.2 Persamaan nilai regresi linier menit ke-10 sampai menit ke-60

Menit	Persamaan regresi	Nilai r^2
10	$y = 1,552x + 10,245$	0,9934
20	$y = 1,723x + 2,472$	0,9818
30	$y = 1,6984x + 6,462$	0,9815
40	$y = 1,9098x + 4,569$	0,9938
50	$y = 1,8102x + 9,267$	0,9942
60	$y = 1,8666x + 8,359$	0,9975

5.5 Aktivitas Antioksidan

Pengujian ekstrak etanol daun jeruk nipis dan kuersetin yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm dan waktu inkubasi selama 60 menit sesuai dengan hasil optimasi yang telah dilakukan. Hasil dari pembacaan pada spektrofotometri UV-Vis didapatkan nilai absorbansi. Nilai absorbansi tersebut kemudian diolah menjadi data % inhibisi pada setiap replikasi, setelah data nilai % inhibisi diolah kemudian bisa diperoleh persamaan regresi linier $y = bx + a$ dan didapatkan nilai IC_{50} .

5.5.1 Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Tabel 5.3 Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Rep	Kons (ppm)	Abs	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	5	0,657	10,00	$y=3,2874x-10,193$ $r^2=0,9860$	18,31		
	10	0,589	19,31				
	15	0,481	34,10				
	20	0,287	60,68				
	25	0,208	70,50				
2	5	0,693	5,06	$y=2,5506x-10,567$ $r^2=0,9706$	23,74	21,83± 3,05474	Sangat Kuat
	10	0,674	7,67				
	15	0,507	30,54				
	20	0,401	45,06				
3	25	0,364	50,13	$y=2,2274x-2,239$ $r^2=0,9922$	23,45		
	5	0,649	11,09				
	10	0,595	18,49				
	15	0,524	28,21				
	20	0,405	44,10				
	25	0,336	53,97				
	blanko	0,730					

Dari tabel diatas didapatkan nilai rata-rata IC₅₀ kuersetin sebesar 23,83±3,0571 dengan kategori sangat kuat.

5.5.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan

Metode Soxhletasi

Tabel 5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Soxhletasi

Rep	Kons (ppm)	Abs	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	50	0,328	48,90	$y=0,17822x+37,123$ $r^2=0,9865$	72,25		
	100	0,311	51,55				
	150	0,235	63,39				
	200	0,177	72,42				
	250	0,109	83,02				
2	50	0,364	43,30	$y=0,2025x+33,111$ $r^2=0,9941$	83,40	81,30± 8,21259	Kuat
	100	0,310	51,71				
	150	0,228	64,79				
	200	0,156	75,70				
	250	0,116	81,93				
	50	0,374	41,74	$y=0,20282x+32,097$ $r^2=0,9891$	88,27		
	100	0,319	50,31				

3	150	0,217	66,19
	200	0,170	73,52
	250	0,123	80,84
	blanko	0,642	

Dari tabel diatas nilai IC₅₀ pada ekstraksi dengan menggunakan metode soxhletasi didapatkan nilai rata-rata sebesar 81,30±8,21259 dengan kategori kuat.

5.5.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Sonikasi

Tabel 5.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Sonikasi

Rep	Kons (ppm)	Abs	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	50	0,344	46,08	$y=0,1859x+34,587$ $r^2=0,9910$	82,91		
	100	0,315	50,62				
	150	0,248	61,12				
	200	0,170	73,35				
	250	0,120	81,19				
2	50	0,355	44,35	$y=0,1945x+34,897$ $r^2=0,9974$	77,63	78,76± 3,71617	Kuat
	100	0,297	53,44				
	150	0,218	65,83				
	200	0,165	74,13				
	250	0,114	82,64				
3	50	0,325	49,05	$y=0,17682x+36,607$ $r^2=0,9773$	75,74		
	100	0,313	50,94				
	150	0,254	60,18				
	200	0,169	73,51				
	250	0,115	81,97				
	blanko	0,638					

Dari tabel diatas nilai rata-rata IC₅₀ yang diperoleh dari ekstraksi dengan metode sonikasi yaitu 78,76±3,71617 dengan kategori kuat.

5.6 Hasil Analisis Data

Hasil data nilai IC_{50} kuersetin dan ekstrak etanol daun jeruk nipis menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi diolah menggunakan SPSS. Pada uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*, data dikatakan terdistribusi normal jika nilai *sig value* $>0,05$. Pada hasil uji normalitas kuersetin menunjukkan hasil yaitu 0,091, ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi 0,575 dan ekstrak etanol daun jeruk nipis menggunakan metode ekstraksi sonikasi 0,491. Pada uji homogenitas didapatkan nilai 0,184 data dikatakan homogen jika nilai *sig value* $>0,05$.

Tabel 5.6 Hasil Analisis Data

Kelompok konsentrasi	P Value
Kuersetin Sonikasi	0,00
Kuersetin Soxhletasi	0,00
Sonikasi Kuersetin	0,00
Sonikasi Soxhletasi	0,591
Soxhletasi Kuersetin	0,00
Soxhletasi Sonikasi	0,591

Data tabel diatas pada uji LSD (*Least Significant Difference*) didapatkan hasil yaitu 0,00 sehingga *sig value* $< 0,05$ hal ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kuersetin dengan sampel ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi dan sampel ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode sonikasi. Nilai *sig value* yang diperoleh dari ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi terhadap ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan

metode sonikasi yaitu 0,591, dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan. Hal ini dapat dilihat pada (lampiran 16).

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Daun jeruk nipis yang diperoleh dari Kecamatan Srono Kabupaten Banyuwangi diambil daun jeruk nipis muda dari tiga sampai lima tingkatan teratas. Daun jeruk nipis yang telah diperoleh kemudian dilakukan determinasi tanaman di UPA (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember, hal ini bertujuan untuk mendapatkan kebenaran identitas tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalah pengambilan tanaman (Anjaswati dkk, 2021).

Daun jeruk nipis yang sudah diperoleh dilakukan sortasi basah, hal ini bertujuan untuk memisahkan daun jeruk nipis dari kotoran-kotoran yang menempel, langkah selanjutnya daun jeruk nipis ditiriskan untuk menghilangkan sisa-sisa air, kemudian dilakukan perajangan dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, setelah itu daun jeruk nipis dihaluskan dengan cara diblender. Tujuan dari penghalusan simplisia adalah untuk memperluas permukaan partikel simplisia, sehingga semakin besar kontak permukaan partikel simplisia dengan pelarut dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam simplisia sehingga dapat menarik senyawa-senyawa dari simplisia lebih banyak (Husni dkk, 2018).

Ekstraksi daun jeruk nipis dilakukan dengan menggunakan dua metode ekstraksi, yaitu metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi. Ekstraksi soxhletasi dilakukan dengan menimbang 150 gram serbuk simplisia dan pelarut etanol 96% yang akan digunakan sebanyak 450 ml, namun alat soxhletasi yang akan digunakan

untuk ekstraksi hanya bisa menampung sebanyak 50 gram serbuk dan 150 ml pelarut etanol 96%, ditimbang 50 gram serbuk simplisia dan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhletasi, pelarut etanol 96% diukur sebanyak 150 ml dan dimasukkan ke dalam labu soxhlet, proses ekstraksi dilakukan pada suhu 45°C sampai ekstrak hampir tidak berwarna dengan 10-15 siklus (1 replikasi). Pada ekstraksi sonikasi dilakukan selama 20 menit pada suhu ruang dengan frekuensi 50 kHz. Penguapan ekstrak yang sudah diekstraksi dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Setelah dilakukan penguapan ekstrak didapatkan ekstrak kental dari metode soxhletasi dan sonikasi yang kemudian dapat dihitung besar rendemen.

Ekstrak kental daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi diperoleh bobot 31,25 gram pada replikasi 1, 32,12 gram pada replikasi 2 dan 32,68 gram pada replikasi 3. Hasil rendemen yang diperoleh dengan metode soxhletasi pada replikasi 1 (20,83%), replikasi 2 (21,41%) dan replikasi 3 (21,78%). Ekstrak kental daun jeruk nipis dengan metode sonikasi diperoleh bobot sebesar 30,12 gram pada replikasi 1, 27,76 gram pada replikasi 2 dan 29,87 gram pada replikasi 3. Pada ekstraksi sonikasi rendemen yang dihasilkan pada replikasi 1 (20,08%), replikasi 2 (18,50%) dan replikasi 3 (19,91%). Nilai rata-rata hasil rendemen dari ekstraksi soxhletasi yaitu sebesar 21,34% dan pada ekstraksi sonikasi sebesar 19,49%. Dari nilai rata-rata tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstraksi soxhletasi memiliki % rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi sonikasi.

Perbedaan hasil ekstrak yang diperoleh disebabkan karena proses pemanasan yang terjadi pada ekstraksi soxhletasi dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk melarutkan senyawa kimia yang tidak larut pada suhu kamar dan senyawa yang dilarutkan lebih maksimal sehingga dapat meningkatkan hasil rendemen. Semakin lama waktu yang dibutuhkan pada saat proses ekstraksi dapat mempengaruhi hasil rendemen karena pelarut dapat menyebabkan senyawa lebih banyak berdifusi keluar sel sehingga akan lebih banyak ekstrak yang diperoleh (Prasetyo *dkk*, 2022).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dwi Puspitasari *dkk* (2017) menggunakan dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan soxhletasi, hasil rendemen tertinggi dihasilkan oleh metode ekstraksi soxhletasi sebesar 28,96%. Hal ini dikarenakan metode ekstraksi soxhletasi memiliki kelebihan yaitu proses ekstraksi yang berulang dan sampel akan terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga dapat menghasilkan rendemen yang lebih banyak daripada metode ekstraksi secara dingin. Karena semakin tinggi suhu yang digunakan, perpindahan senyawa dari simplisia semakin banyak sehingga ekstrak yang dihasilkan lebih banyak (Nahor, 2020).

6.2 Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dengan sampel yang diuji yaitu ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi. Tujuan diujinya aktivitas antioksidan pada sampel tersebut untuk mengetahui besarnya aktivitas

antioksidan ekstrak yang diuji. Prinsip kerja dari DPPH yaitu DPPH yang bersifat radikal akan mengambil atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron, sehingga akan menghasilkan DPPH yang bersifat non radikal. DPPH yang bersifat non radikal akan kehilangan warna ungu atau terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning, pudarnya warna ini ditandai dengan adanya penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dapat diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yaitu nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*). Semakin kecil nilai IC_{50} yang dihasilkan maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi dan kuersetin sebagai pembanding dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi dengan menggunakan metode DPPH yang kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Aryanti *dkk*, 2021).

Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang sebelumnya sudah ditentukan panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum yang digunakan pada saat penelitian yaitu 515 nm dengan absorbansi 0,223 dapat dilihat pada (lampiran 5). Optimasi panjang gelombang maksimum berbeda-beda. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yanuarty (2021) panjang gelombang yang digunakan yaitu 516 nm. Panjang gelombang 517 nm digunakan pada penelitian (Damanis *dkk*, 2020). Perbedaan panjang gelombang yang digunakan berbeda-beda karena terdapat beberapa faktor yaitu konsentrasi

DPPH yang berbeda, pelarut, jenis kuvet dan jenis spektrofotometri yang digunakan (Latief *dkk*, 2013).

Pada penelitian ini dilakukan optimasi waktu inkubasi yang bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh senyawa DPPH dan senyawa uji untuk bereaksi secara optimum sehingga bisa menghasilkan serapan yang stabil (Tri *dkk*, 2019). Pengukuran optimasi waktu inkubasi dilakukan selama 60 menit dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu selama 10 menit pada panjang gelombang 515 nm. Hasil dari pengukuran optimasi waktu inkubasi didapatkan pada menit ke-60 dengan nilai r^2 yang mendekati 1 dan nilai IC50 terendah. Menurut Rizkayanti *dkk* (2017) nilai r^2 yang mendekati 1 atau sama dengan 1 dikatakan sangat baik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2021) menunjukkan hasil optimasi waktu inkubasi optimum pada menit ke-60.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis dan kuersetin sebagai pembanding terhadap senyawa radikal DPPH dilakukan dengan membuat sebanyak lima seri konsentrasi dengan tiga kali replikasi, dilakukan replikasi sebanyak tiga kali bertujuan untuk meminimalisir kesalahan dalam menganalisis sampel dan pengukuran aktivitas antioksidan (Kumalasari *dkk*, 2018). Pengukuran absorbansi larutan DPPH yang direaksikan dengan larutan uji sampel dan larutan uji pembanding dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang optimum yang telah ditentukan yaitu 515 nm dan waktu inkubasi 60 menit. Hasil dari nilai serapan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji dapat dihitung sebagai % peredaman radikal bebas. Hasil analisis % peredaman radikal bebas dapat dilihat pada tabel 5.4 dan tabel 5.5. Semakin besar

konsentrasi sampel yang digunakan (ppm) maka semakin kecil nilai absorbansi, semakin tinggi nilai % inhibisi dan semakin kecil nilai IC₅₀ (Damanis dkk, 2020). Konsentrasi yang digunakan yang digunakan pada kuersetin yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm, dan konsentrasi sampel ekstrak etanol daun jeruk nipis yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm, penggunaan konsentrasi pada penelitian ini sama dengan konsentrasi yang digunakan oleh Yanuarty (2021). Setelah didapatkan nilai % inhibisi data kemudian diolah dan didapatkan persamaan regresi linier sehingga bisa dihasilkan nilai IC₅₀.

Nilai IC₅₀ yang didapatkan berdasarkan persamaan regresi linier dengan konsentrasi larutan uji sebagai absis (sumbu x) dan nilai % inhibisi sebagai ordinat (sumbu y). Hasil dari aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 5.4 dan tabel 5.5. Berdasarkan tabel tersebut diperoleh nilai IC₅₀ dari pembanding kuersetin dengan rata-rata yaitu $21,8333 \pm 3,054574$, nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi dengan rata-rata yaitu $81,3067 \pm 8,21259$ dan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi sonikasi dengan rata-rata yaitu $78,7600 \pm 3,71617$. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi dan sonikasi memiliki aktivitas antioksidan kuat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yanuarty (2021) nilai IC₅₀ yang diperoleh dari sampel daun jeruk nipis menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi yaitu $98,28 \mu\text{g/ml}$ dengan kategori kuat sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Najooan dkk (2016) dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96% memperoleh

nilai IC_{50} sebesar 297,54 $\mu\text{g/ml}$ dengan kategori lemah. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan berbeda-beda hal ini disebabkan karena metode ekstraksi yang digunakan, konsentrasi sampel uji, konsentrasi DPPH yang digunakan dan pelarut, dan juga karena faktor lingkungan seperti pembudidayaan tanaman, pengaruh suhu, ketinggian, cuaca dan tanah tempat tanaman tumbuh (Puryono dkk 2020).

Dari hasil penelitian ini nilai rendemen ekstraksi soxhletasi diperoleh nilai paling baik dibandingkan dengan ekstraksi sonikasi dan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi soxhletasi diperoleh nilai lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode ekstraksi sonikasi, yang artinya nilai IC_{50} ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode sonikasi lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi. Hal ini dapat disebabkan karena pengaruh suhu, dengan suhu yang tinggi bisa menghasilkan rendemen lebih banyak tetapi karena suhu tinggi tersebut aktivitas penghambatan radikal bebas bisa berkurang karena adanya senyawa bioaktif yang rusak (Putu dkk, 2021).

Pada penelitian ini digunakan kuersetin sebagai pembanding, hal ini dikarenakan kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang termasuk dalam golongan flavonol yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Gayatri, 2021). Perbandingan nilai IC_{50} antara kuersetin dengan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi dan sonikasi menunjukkan bahwa kuersetin memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah sedangkan ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi dan sonikasi memiliki nilai IC_{50} lebih tinggi sehingga kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan

ekstrak etanol daun jeruk nipis, hal ini dikarenakan ekstrak kental masih terkandung berbagai kelompok senyawa lain sehingga ekstrak belum murni (Cahyono *dkk*, 2021).

Data hasil IC50 ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan metode soxhletasi dan sonikasi dianalisa menggunakan *One Way ANOVA* dengan nilai *sig value* 0,591 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai *sig value* >0,05 hal ini dikarenakan sampel ekstrak yang digunakan berasal dari tanaman yang sama, proses pengeringan menggunakan metode yang sama, pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi menarik senyawa yang sama yaitu flavonoid, alkaloid, steroid dan tannin (Reiza *dkk*, 2019).

BAB 7 KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi mempengaruhi besar rendemen.
2. Metode ekstraksi soxhletasi dan sonikasi tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan.

7.3 Saran

Perlu diteliti lebih lanjut uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menggunakan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk nipis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adlini, M. N. and Umaroh, H. K. 2021 'Karakterisasi Tanaman Jeruk (*Citrus* sp.) Di Kecamatan Nibung Hangu Kabupaten Batu Bara Sumatera Utara', *Klorofil: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 4(1), p. 48. doi: 10.30821.
- Agustina, E., Andiarna, F. and Hidayati, I. 2020 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (*Black Garlic*) Dengan Variasi Lama Pemanasan', *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 13(1), pp. 39–50. doi: 10.15408.
- Andarina, R. and Djauhari, T. 2017 'Antioksidan Dalam Dermatologi', *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), pp. 39–48.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D. and Nirwana, A. P. 2021 'Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi n- Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris* L.) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat Comparison of Yield of Ethanol Extract, n-Hexane Fraction, Ethyl Acetate, and Water Beet Leaf (*Beta vulgaris*)', *Jurnal Farmasi*, 2(1), pp. 21–37.
- Arman, R. *et al.* 2020 'Jurnal Sains dan Kesehatan', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(1), pp. 242–247.
- Aryanti, R., Perdana, F. and Syamsudin, R. A. M. R. 2021 'Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)', *Jurnal Surya Medika*, 7(1), pp. 15–24. doi: 10.33084.
- Atun, S. 2014 'Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam', *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*, 8(2), pp. 53–61. doi: 10.33374.
- Cahyono, B. *et al.* 2021 'Penentuan Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin dan Ekstrak Lengkuas Menggunakan HPLC dan UV-Vis', *Alchemy*, 8(2), pp. 24–32. doi: 10.18860.
- Damanis, F. V. M., Wewengkang, D. S. and Antasionasti, I. 2020 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)', *Pharmakon*, 9(3), p. 464. doi: 10.35799.
- Diana, A. N. 2022 'Antioksidan Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Skripsi Antioksidan Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)'.
- Dwi Puspitasari, A. and Proyogo, L. S. 2017 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*)', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 1–8.
- Elliwati, H. 2015 'Pengenalan Spektrofotometri Pada Mahasiswa Yang Melakukan Penelitian Di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU', *Karya tulis ilmiah Universitas Sumatera Utara*, pp. 1–17.
- Febryanto, M. A. 2017 'Studi Ekstraksi dengan Metode Soxhletasi Pada Bahan Organik Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Sebagai Inhibitor Organik', *Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, pp. 1–210.

- Fitriana, W. D. *et al.* 2016 'Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Extracts', *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 16(3), pp. 297–301. doi: 10.1007.
- Gayatri, W. N. 2021 'Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dan Ekstrak Menggunakan Metode DPPH Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dan Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia macr*', *Universitas Islam Indonesia*, p. 17.
- Hakim, A. R. and Saputri, R. 2020 'Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik', *Jurnal Surya Medika*, 6(1), pp. 177–180. doi: 10.33084.
- Hanafi, P. 2020 'Karakterisasi Morfologi Organ Generatif Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L.) di Dua Sentra Lokasi yang Berbeda', *UIN Suska Riau*, pp. 1–49.
- Hani, R. C. and Milanda, T. 2016 'Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia', *Farmaka*, 14(1), pp. 184–190.
- Husni, E., Suharti, N. and Atma, A. P. T. 2018 'Characterization of crude drugs and henna leaves extract (*Lawsonia inermis* Linn) and determination of total phenolic content and antioxidant activity test', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(1), pp. 12–16.
- Istiqomah 2017 *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soklektasi Terhadap Kadar Piprin Buah Cabe Jawa*, *UIN Syarif Hidayatullah*.
- Julizan, N. 2019 'Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode Dpph', *Kandaga– Media Publikasi Ilmiah Jabatan Fungsional Tenaga Kependidikan*, 1(1). doi: 10.24198.
- Khafidhoh, Z., Dewi, S. S. and Iswara, A. 2015 'Efektivitas Infusa Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Penyebab Sariawan Secara in vitro', *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(2), pp. 31–37. doi: 10.21157/j.med.vet..v7i2.2951.
- Kusbandari, A. and Susanti, H. 2017 'Beta Carotene Content And Free Radical Scavenging Activity Of Cantaloupe (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L.) Extract Against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Using UV-Visible', *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 14(1), pp. 37–42.
- Latief, M., Tafzi, F. and Saputra, A. 2013 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Bagian Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum Burmani*) Asal Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi', *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, pp. 233–236.

- Lung, J. K. S. and Destiani, D. P. 2018 'Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH', *Farmaka*, 15(1), pp. 53–62.
- Mohan, M., Khanam, S. and Shivananda, B. G. 2013 'Optimization of Microwave Assisted Extraction of Andrographolide from *Andrographis paniculata* and its Comparison with Refluxation Extraction Method', *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), pp. 342–348.
- Mukhriani, T. 2016 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan, 7 (2): 361-367.', *Jurnal Agripet*, 16(2), p. 76. doi: 10.17969/agripet.v16i2.4142.
- Nahor, E, M., Rumagit, B, I. Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fucosa* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. Prosiding Seminar Nasional, 40-44.
- Najoan, J. J., Runtuwene, M. J. R. and Wewengkang, D. S. 2016 'Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus Cobbe* L.)', *Pharmacon*, 5(1), pp. 266–274.
- Nurjannah, I. *et al.* 2022 'Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri', *Spin*, 4(1), pp. 23–36. doi: 10.20414/spin.v4i1.4801.
- Pallavi, M., Ramesh, C.K., Krishna, V., Parveen, S., and Nanjunda Swamy, L. 2017. Quantitative Phytochemical Analysis and Antioxidant Activities of Some Citrus Fruits of South India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(12): 198–205
- Prasetyo, A. B. *et al.* 2022 'Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L)', 8(2), pp. 317–321.
- Pratiwi, P.Y., Atikah, N., Nurhaeni, F., and Salamah, U.N. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) HBK) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). In *Prosiding University Colloquium* (pp.447-454)
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan berbagai pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 24-32.
- Puryono, R. I., Puspitasari, E. and Ningsih, I. Y. 2020 'Uji Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Varietas Ekstrak Buah Salak (*Salacca* (Antioxidant Assay of Some *Salacca zalacca* (Gaertn .) Voss Varieties using DPPH', *Farmasi Universitas Jember*, p. 1.
- Reiza, I. A., Rijai, L., & Mahmudah, F. (2019, October). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 10, pp. 104-108).

- Rhamadanti, A. N. and Harlina 2021 'Manfaat Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Candida Albicans (Literatur Review)', *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 3(April), pp. 49–58.
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M. and Jura, M. R. 2017 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM)', *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), p. 125. doi: 10.22487/j24775185.2017.v6.i2.9244.
- Saepudin, S. R., Yuliawati, K. M. and Alhakimi, T. A. 2020 'Pengaruh perbedaan karakteristik ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose) yang diperoleh dari metode ekstraksi maserasi dan digesti', *Prosiding Farmasi*, 6(2), pp. 885–889.
- Sari, A. N. 2016 'Berbagai Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami', *Elkawnie*, 2(2), p. 203. doi: 10.22373/ekw.v2i2.2695.
- Sholihah, M., Ahmad, U. and Budiastara, I. W. 2017 'Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis', *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 7(2), pp. 107–15.
- Suhartati, T. 2017 'Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Speltrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik', 4(1), pp. 88–100.
- Susanty *et al.* 2019 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Zat Tambahan Pembuatan Moisturizer', *Seminar Nasional Sains dan Teknologi 2019 1 Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 16 Oktober 2019, pp. 1–7.
- Tri, S. H. *et al.* 2019 'Kadar Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumpun Laut Coklat (*Padina australis*)', *Progress in Retinal and Eye Research*, 561(3), pp. S2–S3.
- Tuasamu, Y. 2018 'Karakterisasi Morfologi Daun dan Anatomi Stomata pada Beberapa Species Tanaman Jeruk (*Citrus* sp)', *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 11(2), p. 85. doi: 10.29239/j.agrikan.11.2.85-90.
- Turangan, A. T. M., Wewengkang, D. S. and Yudistira, A. 2019 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) Menggunakan Metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*)', *Pharmacon*, 8(3), p. 548. doi: 10.35799/pha.8.2019.29329.
- Utami, N. H., Achamad, S. and Sitorus, P. 2018 'Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Herba Poguntano (*Picria Fel-Terrae* Lour.) Secara In Vitro', *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(1), pp. 218–223. doi: 10.32734/tm.v1i1.77.
- Widayati, E. 2022 'Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant', *Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 50(128), pp. 26–32.

- Widyasari, E. M. *et al.* 2019 'Karakteristik Fisikokimia Senyawa Bertanda ^{99m}Tc -Kuersetin', *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, 20(1), p. 9. doi: 10.17146/jstni.2019.1.1.4108.
- Wulansari, A. N. 2018 'Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review', *Farmaka*, 16(2), pp. 419–429.
- Yanuary, R. 2021 'Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis', *Jurnal FARMASINDO Politeknik Indonusa Surakarta*, Vol. 5, pp. 53–56.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R. and Permana, I. D. G. M. 2017 'Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik The Influence of Time and Temperature on Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Sirsak Leaf (*Annona mur*', *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), pp. 35–42.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



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: 47/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1036/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 : Dinda Azzah Aulia
NIM : 19040030
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 aurantifolia, Swingle.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

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

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP.-197106212001121001



Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

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>

Lampiran : 1 Berkas
Perihal : Identifikasi Kalsifikasi dan Morfologi Tanaman Jeruk Nipis sebagai Kajian Skripsi
Nama Peneliti : Dinda Azzah Aulia (Universitas dr. Soebandi)
Judul Skripsi: Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Soxhletasi dan Sonikasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*).
Pengidentifikasi : Ujang Tri Cahyono, S.P.,M.M

Hasil Identifikasi Klasifikasi dan Morfologi Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) merupakan tanaman perdu, tegak yang banyak memiliki dahan dan ranting dengan tinggi berkisar 1,5-3,5 meter. Batangnya berduri tempel dan sering ditumbuhi tunas-tunas air pada batangnya. Tanaman jeruk nipis dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian berkisar 200-1.300 m dpl sedangkan di dataran rendah 100-400 m dpl. Tanaman jeruk nipis membutuhkan suhu berkisar 25-30 °C, dengan kelembaban udara rata-rata berkisar 50-80%. Tanaman jeruk nipis membutuhkan cahaya penyinaran matahari penuh sepanjang hari. Tanah yang sesuai untuk tanaman jeruk nipis adalah tanah bertekstur dan drainase yang baik, gembur, cukup bahan organik dengan curah hujan optimal 1.500 mm/tahun, derajat keasaman tanah (pH) tidak terlalu asam berkisar 6-7.

Klasifikasi Tanaman Jeruk Nipis :

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

f. Kunci Determinasi Tanaman Jeruk Nipis

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> , 1b, 3b, spesies: <i>Citrus aurantifolia</i> , Swingle .	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 sebageian 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 transparant karena bintik kelenjar minyak.....62. Rutaceae	

	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>
	1b	Tangkai kebanyakan bersayap sempit sampai bertepi sedikit, lebar 0,1-1 cm.....3
	3b	Ranting tidak berduri. Tangkai daun lebar 1-1,5 mm. Bunga berkelamin 1..... <i>Citrus aurantifolia</i> Pohon yang bercabang banyak; 1,5-3,5 m. Duri 0,3-1,2 cm panjangnya. Tangkai daun kearah ujung kadang-kadang bersayap sedikit, sayap beringgit melekuk ke dalam, panjang 0,5-2,5 cm. Helaian daun bulat telur elliptis atau bulat telur memanjang, dengan pangkal bulat dan ujung tumpul, melekuk ke dalam sedikit; tepi beringgit; panjang 2,5-9 cm. Bunga 1,5-2,5 cm diameternya. Daun mahkota dari luar putih kuning. Buah bentuk bola, kuning, diameter 3,5-5 cm; kulit 0,2-0,5 cm tebalnya; daging buah kuning kehijauan. 1-1.000 m. Jeruk nipis, Ind, Jeruk Pecel, J..... <i>Citrus aurantifolia</i> , Swingle .

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*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.

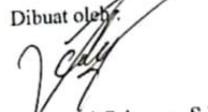
Mengetahui,
Ka. UPA: Pengembangan Pertanian Terpadu



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

Jember, 10 Maret 2023

Dibuat oleh:



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

Lampiran 2. Dokumentasi Proses Pembuatan Ekstrak

<p>Pencucian Daun Jeruk</p> 	<p>Sortasi Basah</p> 	<p>Pengeringan</p> 
<p>Penghalusan</p> 	<p>Penimbangan Serbuk</p> 	<p>Ekstraksi Soxhletasi</p> 
<p>Ekstraksi Sonikasi</p> 	<p>Penguapan Ekstrak</p> 	<p>Hasil Ekstrak</p> 

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Esktrak

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

1. Metode Sonikasi

Replikasi 1 :

$$\text{Rendemen} = \frac{30,12 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 20,08\%$$

Replikasi 2 :

$$\text{Rendemen} = \frac{27,76 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 18,50\%$$

Replikasi 3

$$\text{Rendemen} = \frac{29,87 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 19,91\%$$

SD	0,86731
Rata-rata	19,4967

2. Metode Sokletasi

Replikasi 1 :

$$\text{Rendemen} = \frac{31,25 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 20,83\%$$

Replikasi 2 :

$$\text{Rendemen} = \frac{32,12 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 21,41\%$$

Replikasi 3 :

$$\text{Rendemen} = \frac{32,68 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% = 21,78\%$$

SD	0,47885
Rata-rata	21,3400

Lampiran 4. Perhitungan Larutan Induk DPPH dan Kuersetin

a. Perhitungan Pembuatan Larutan Induk DPPH

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{v \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{100 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$\text{massa} = \frac{40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 100 \text{ mL}$$

$$= 4 \text{ mg}$$

b. Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{massa} &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ mg} \end{aligned}$$

Dilakukan pengenceran untuk kuersetin

$$\begin{aligned} 5 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 5 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,5 \text{ mL} \\ &= 500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 10 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 10 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ mL} \\ &= 1000 \mu\text{L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 15 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 15 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 1,5 \text{ mL} \\ &= 1500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 20 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL} = 2000 \mu\text{L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 25 \text{ ppm} : \quad M_1.V_1 &= M_2.V_2 \\
 100 \text{ ppm. } V_1 &= 25 \text{ ppm.} 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2,5 \text{ mL} \\
 &= 2500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

c. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Larutan Induk

$$\begin{aligned}
 \text{ppm} &= \frac{\text{massa (mg)}}{100 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm} \\
 1000 \text{ ppm} &= \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm} \\
 \text{massa} &= \frac{1000 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 10 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Dilakukan pengenceran untuk larutan uji ekstrak

$$\begin{aligned}
 50 \text{ ppm} : \quad M_1.V_1 &= M_2.V_2 \\
 1000 \text{ ppm. } V_1 &= 50 \text{ ppm.} 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 0,5 \text{ mL} \\
 &= 500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} : \quad M_1.V_1 &= M_2.V_2 \\
 1000 \text{ ppm. } V_1 &= 100 \text{ ppm.} 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mL} \\
 &= 1000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 150 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 150 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 1,5 \text{ mL} \\ &= 1500 \mu\text{L} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} 200 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 200 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL} \\ &= 2000 \mu\text{L} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} 250 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 250 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 2,5 \text{ mL} \\ &= 2500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

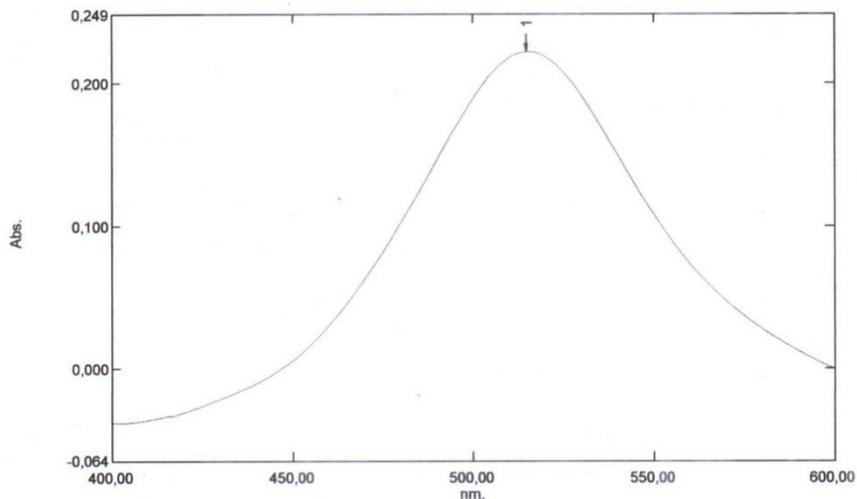
Lampiran 5. *Spectrum Peak Report*

Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Spectrum Peak Pick Report

23/05/2023 12:01:10

Data Set: Panjang Gelombang - RawData



[Measurement Properties]
 Wavelength Range (nm.): 400.00 to 600.00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 1,0
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	515.00	0.223	

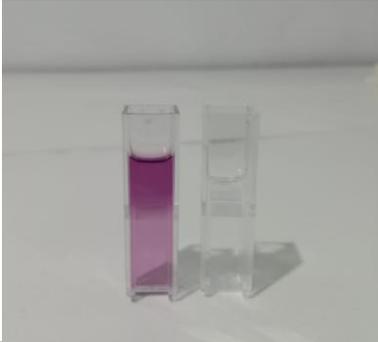
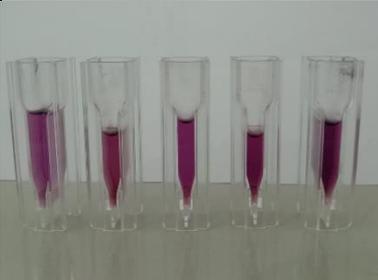
[Instrument Properties]
 Instrument Type: UV-1900 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1,0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340,8 nm
 S/R Exchange: Normal

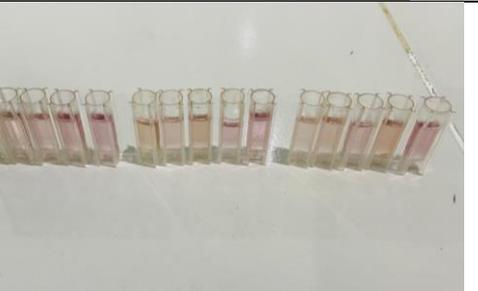
[Attachment Properties]
 Attachment: None

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

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

Lampiran 6. Dokumentasi Uji Aktivitas Antioksidan

Dokumentasi	Keterangan
	Spektro fotometer UV-Vis Shimadzu new 1900
	Larutan ekstrak etanol daun jeruk nipis
	Larutan Blanko DPPH
	DPPH sebelum diberi kuersetin
	DPPH Setelah diberi kuersetin

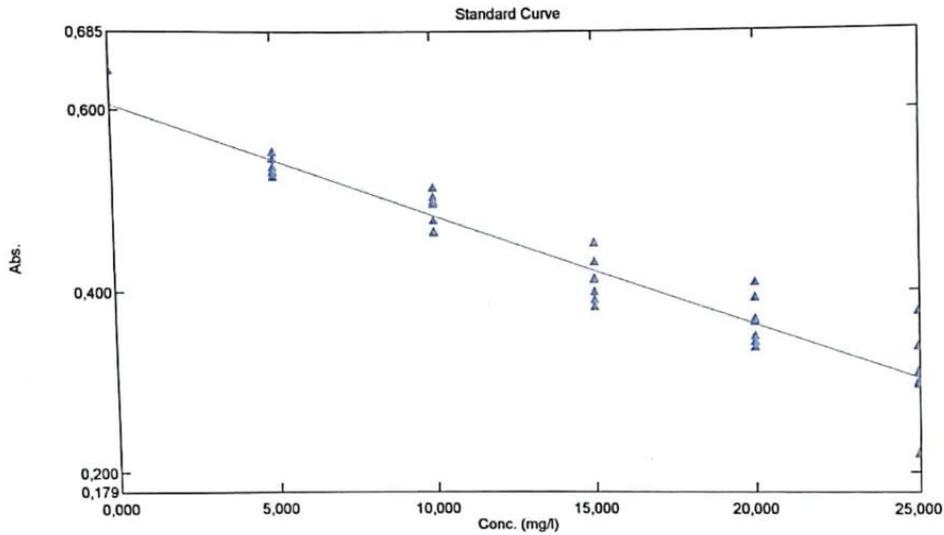
	<p>DPPH setelah diberi sampel uji ekstraksi daun jeruk dengan metode ekstraksi soxhletasi</p>
	<p>DPPH setelah diberi sampel uji ekstraksi daun jeruk dengan metode ekstraksi sonikasi</p>

Lampiran 7. Standart Table Report Optimasi Waktu Inkubasi

Standard Table Report

22/05/2023 12:20:27

File Name: C:\Users\VACER\Documents\dinda azzah inkubasi\optimasi4.pho



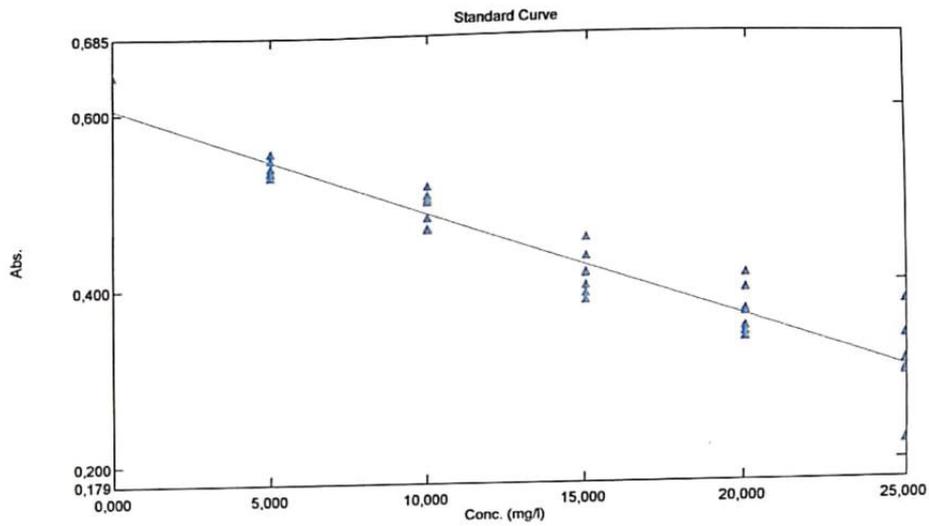
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.643	1.000	
2	kuer1mnt0	Standard		5.000	0.555	1.000	
3	kuer2mnt0	Standard		10.000	0.516	1.000	
4	kuer3mnt	Standard		15.000	0.434	1.000	
5	kuer4mnt	Standard		20.000	0.411	1.000	
6	kuer5mnt0	Standard		25.000	0.377	1.000	
7	kuer1mnt10	Standard		5.000	0.532	1.000	
8	kuer2mnt10	Standard		10.000	0.481	1.000	
9	kuer3mnt10	Standard		15.000	0.416	1.000	
10	kuer4mnt10	Standard		20.000	0.370	1.000	
11	kuer5mnt10	Standard		25.000	0.338	1.000	
12	kuer1mnt20	Standard		5.000	0.539	1.000	
13	kuer2mnt20	Standard		10.000	0.499	1.000	
14	kuer3mnt20	Standard		15.000	0.386	1.000	
15	kuer4mnt20	Standard		20.000	0.340	1.000	
16	kuer5mnt20	Standard		25.000	0.221	1.000	
17	kuer1mnt30	Standard		5.000	0.529	1.000	
18	kuer2mnt30	Standard		10.000	0.501	1.000	

Standard Table Report

22/05/2023 12:20:28

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah inkubasi\optimasi4.pho



Standard Table							
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
19	kuer3mnt30	Standard		15.000	0.455	1.000	
20	kuer4mnt30	Standard		20.000	0.393	1.000	
21	kuer5mnt30	Standard		25.000	0.310	1.000	
22	kuer1mnt40	Standard		5.000	0.548	1.000	
23	kuer2mnt40	Standard		10.000	0.506	1.000	
24	kuer3mnt40	Standard		15.000	0.415	1.000	
25	kuer4mnt40	Standard		20.000	0.368	1.000	
26	kuer5mnt40	Standard		25.000	0.297	1.000	
27	kuer1mnt50	Standard		5.000	0.532	1.000	
28	kuer2mnt50	Standard		10.000	0.469	1.000	
29	kuer3mnt50	Standard		15.000	0.392	1.000	
30	kuer4mnt50	Standard		20.000	0.351	1.000	
31	kuer5mnt50	Standard		25.000	0.300	1.000	
32	kuer1mnt60	Standard		5.000	0.535	1.000	
33	kuer2mnt60	Standard		10.000	0.468	1.000	
34	kuer3mnt60	Standard		15.000	0.402	1.000	
35	kuer4mnt60	Standard		20.000	0.344	1.000	
36	kuer5mnt60	Standard		25.000	0.297	1.000	

Lampiran 8. Perhitungan Nilai IC₅₀

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

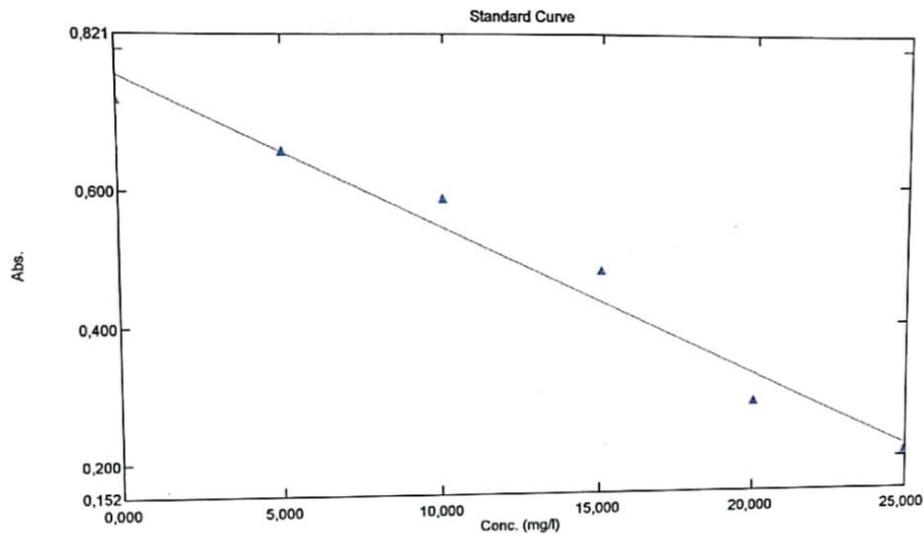
Menit	Konsentrasi	Absorbansi	% Hambatan	Persamaan Regresi	IC ₅₀
10	Blanko	0,643			25,63
	5	0,532	17,26	Y=1,552x+10,245 R ² =0,993	
	10	0,481	25,19		
	15	0,416	35,30		
	20	0,370	42,46		
	25	0,338	47,43		
20	5	0,539	16,17	Y=2,472x+1,723 R ² =0,981	27,58
	10	0,499	22,39		
	15	0,386	42,76		
	20	0,340	47,12		
	25	0,221	65,62		
30	5	0,529	17,72	Y=1,6984x+6,462 R ² =0,9815	25,63
	10	0,501	22,08		
	15	0,455	29,23		
	20	0,393	38,88		
	25	0,310	51,78		
40	5	0,548	14,77	Y=1,9098x+4,569 R ² =0,9938	23,78
	10	0,506	21,30		
	15	0,415	35,46		
	20	0,368	42,77		
	25	0,297	51,78		
50	5	0,532	17,26	Y=1,8102x+9,267 R ² =0,9942	22,50
	10	0,469	27,06		
	15	0,392	39,03		
	20	0,351	45,41		
	25	0,300	53,34		
60	5	0,535	16,79	Y=1,8666x+8,359 R ² =0,9975	22,31
	10	0,468	27,21		
	15	0,402	37,48		
	20	0,344	46,50		
	25	0,297	53,81		

Lampiran 9. Standart Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Standard Table Report

22/05/2023 12:58:55

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\kuersetin replikasi 1.pho



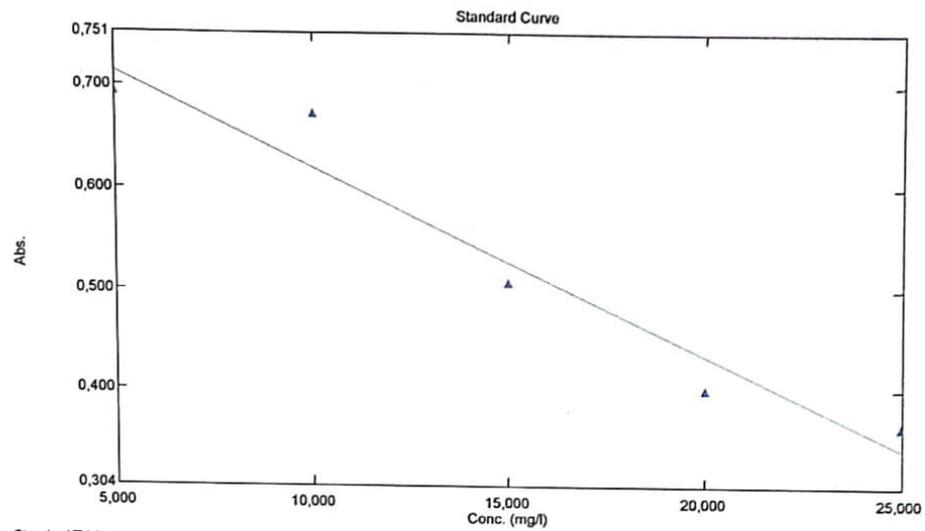
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.730	1.000	
2	kuer1rep1	Standard		5.000	0.657	1.000	
3	kuer2rep1	Standard		10.000	0.589	1.000	
4	kuer3rep1	Standard		15.000	0.481	1.000	
5	kuer4rep1	Standard		20.000	0.287	1.000	
6	kuer5rep1	Standard		25.000	0.208	1.000	
7							

Standard Table Report

22/05/2023 12:59:19

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\kuersetin replikasi 2.pho



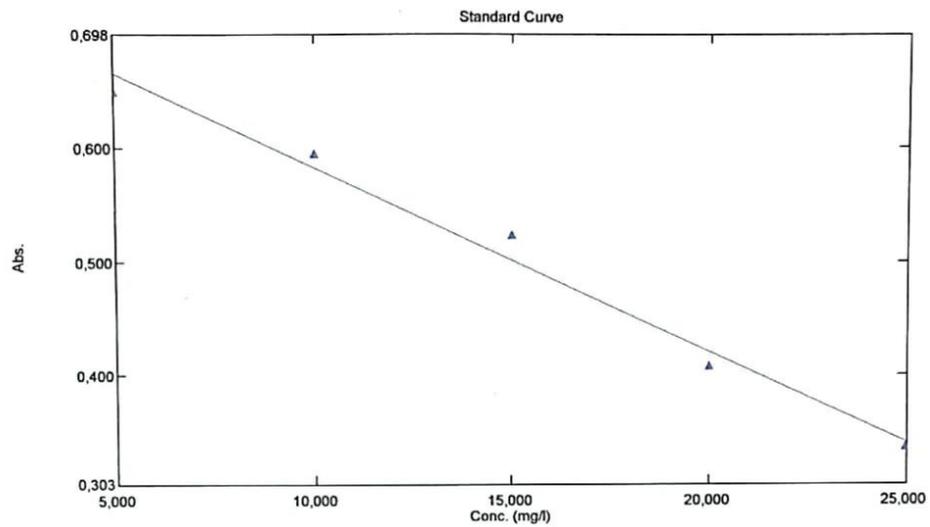
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	kuer1rep2	Standard		5.000	0.693	1.000	
2	kuer2rep2	Standard		10.000	0.674	1.000	
3	kuer3rep2	Standard		15.000	0.507	1.000	
4	kuer4rep2	Standard		20.000	0.401	1.000	
5	kuer5rep2	Standard		25.000	0.364	1.000	
6							

Standard Table Report

22/05/2023 12:59:50

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\kuersetin replikasi 3.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	kuer1rep3	Standard		5.000	0.649	1.000	
2	kuer2rep3	Standard		10.000	0.595	1.000	
3	kuer3rep3	Standard		15.000	0.524	1.000	
4	kuer4rep3	Standard		20.000	0.408	1.000	
5	kuer5rep3	Standard		25.000	0.336	1.000	
6							

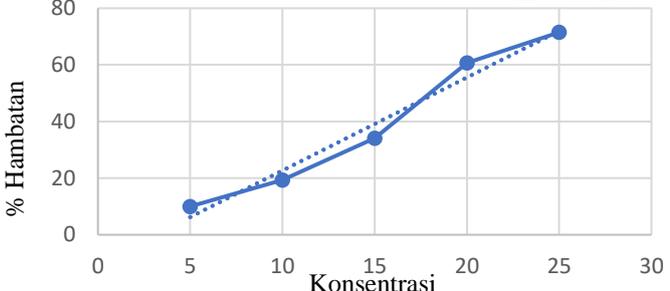
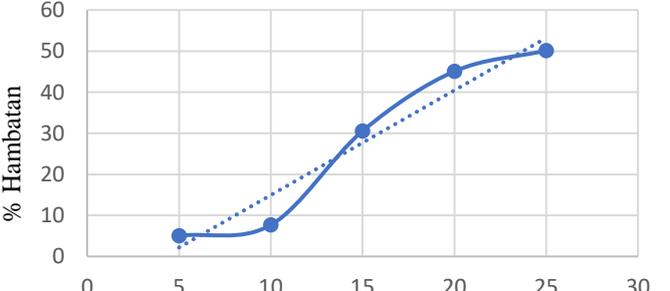
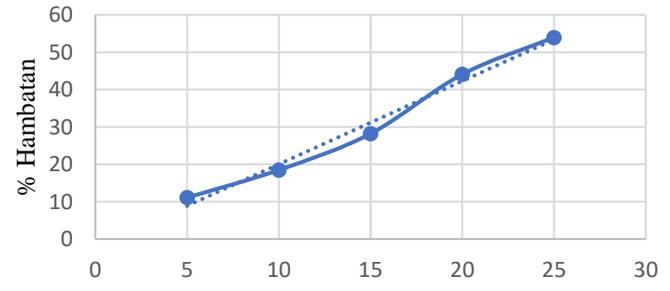
Lampiran 10. Perhitungan Nilai IC₅₀ Kuersetin

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Hambatan	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1	Blanko	0,730			18,31
	5	0,657	10	y=3,2874x-10,193 r ² =0,9860	
	10	0,589	19,31		
	15	0,481	34,10		
	20	0,287	60,68		
	25	0,208	70,50		
2	5	0,693	5,06	y=2,5506x-10,567 r ² =0,9706	23,74
	10	0,674	7,67		
	15	0,507	30,54		
	20	0,401	45,06		
	25	0,364	50,13		
3	5	0,649	11,09	y=2,2274x-2,239 r ² =0,9922	23,45
	10	0,595	18,49		
	15	0,524	28,21		
	20	0,405	44,10		
	25	0,336	53,97		

SD	3,05474
Rata-rata	21,8333

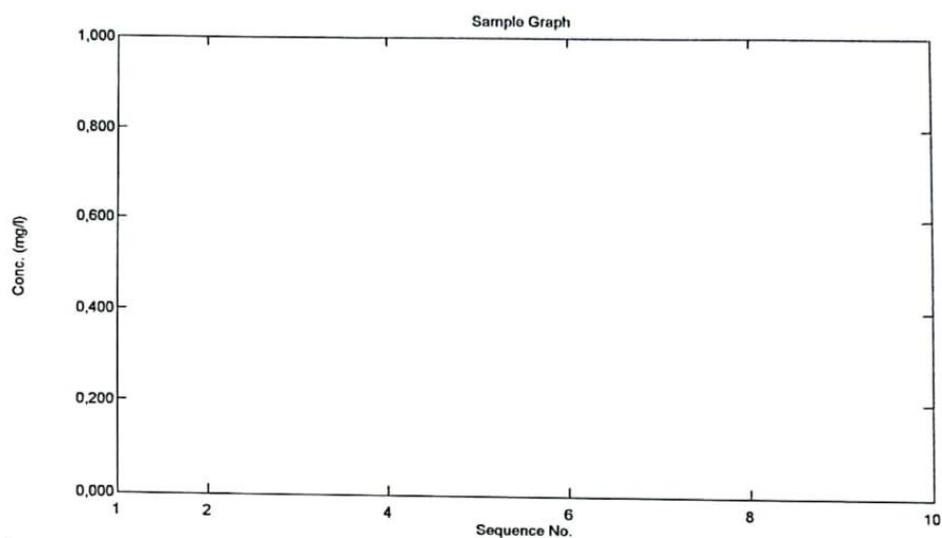
Kurva Linier	Perhitungan IC ₅₀
<p style="text-align: center;">Replikasi 1</p> <p style="text-align: right;">$y = 3.2874x - 10.193$ $R^2 = 0.9860$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{50 - (-10,193)}{3,2874}$ $IC_{50} = 18,31$
<p style="text-align: center;">Replikasi 2</p> <p style="text-align: right;">$y = 2.5506x - 10.567$ $R^2 = 0.9706$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{50 - (-10,567)}{2,5506}$ $IC_{50} = 23,74$
<p style="text-align: center;">Replikasi 3</p> <p style="text-align: right;">$y = 2.2274x - 2.239$ $R^2 = 0.9922$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{50 - (-2,239)}{2,2274}$ $IC_{50} = 23,45$

Lampiran 11. Standart Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dengan Metode Soxhletasi

Sample Table Report

23/05/2023 10:11:52

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\Sokletasi replikasi 1a.pho



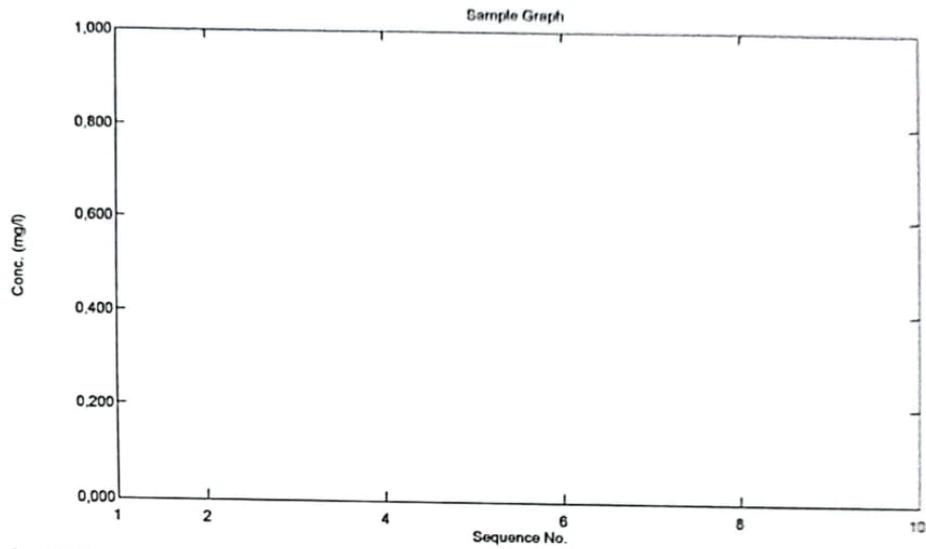
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.642	
2	kons1rep1	Unknown		*****	0.328	
3	kons2rep1	Unknown		*****	0.311	
4	kons3rep1	Unknown		*****	0.235	
5	kons4rep1	Unknown		*****	0.177	
6	kons5rep1	Unknown		*****	0.109	
7						

Sample Table Report

23/05/2023 10:12:16

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\sokletasi replikasi 2.pho



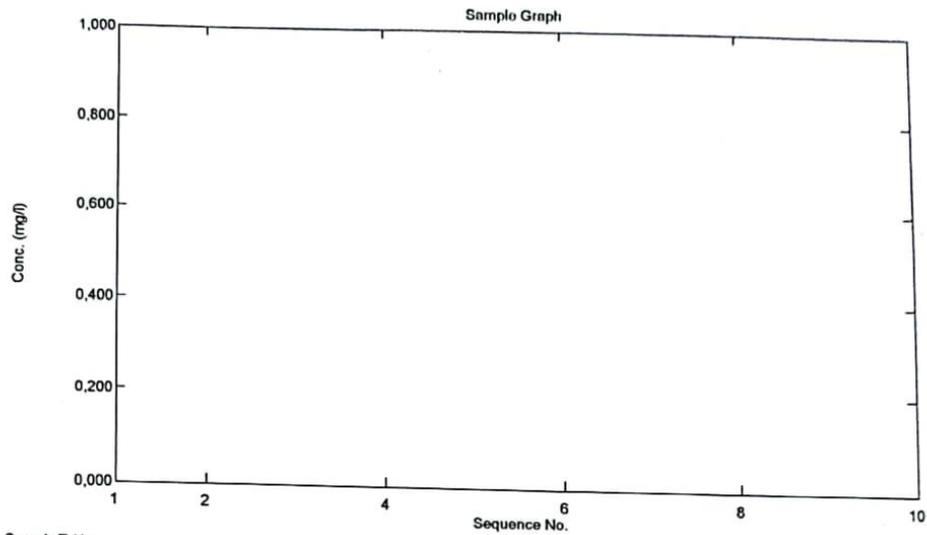
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	kons1rep2	Unknown		*****	0.364	
2	kons2rep2	Unknown		*****	0.310	
3	kons3rep2	Unknown		*****	0.228	
4	kons4rep2	Unknown		*****	0.156	
5	kons5rep2	Unknown		*****	0.116	
6						

Sample Table Report

23/05/2023 10:12:39

File Name: C:\Users\VACER\Documents\dinda azzah\sokletasi replikasi 3.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	kons1rep3	Unknown		*****	0.374	
2	kons2rep3	Unknown		*****	0.319	
3	kons3rep3	Unknown		*****	0.217	
4	kons4rep3	Unknown		*****	0.170	
5	kons5rep3	Unknown		*****	0.123	
6						

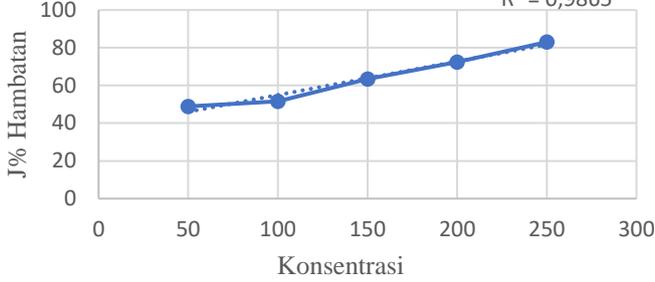
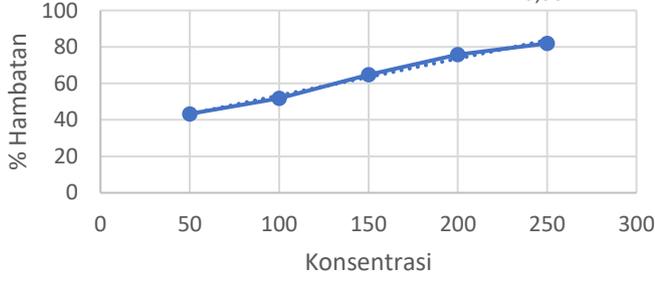
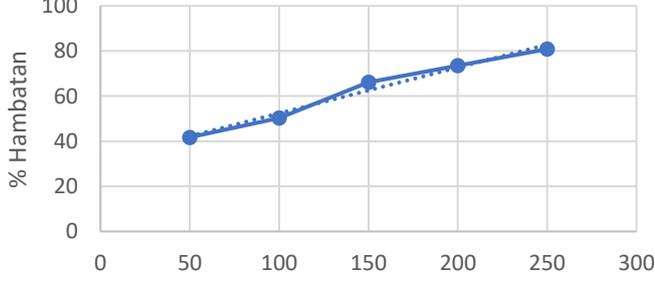
Lampiran 12. Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Esktraksi Soxhletasi

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Hambatan	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1	Blanko	0,642		y=0,17822x+37,123 r ² =0,9865	72,25
	50	0,328	48,90		
	100	0,311	51,55		
	150	0,235	63,39		
	200	0,177	72,42		
	250	0,109	83,02		
2	50	0,364	43,30	y=0,2025x+33,111 r ² =0,9941	83,40
	100	0,310	51,71		
	150	0,228	64,79		
	200	0,156	75,70		
	250	0,116	81,93		
	3	50	0,374		
100		0,319	50,31		
150		0,217	66,19		
200		0,170	73,52		
250		0,123	80,84		

SD	8,21259
Rata-rata	81,3067

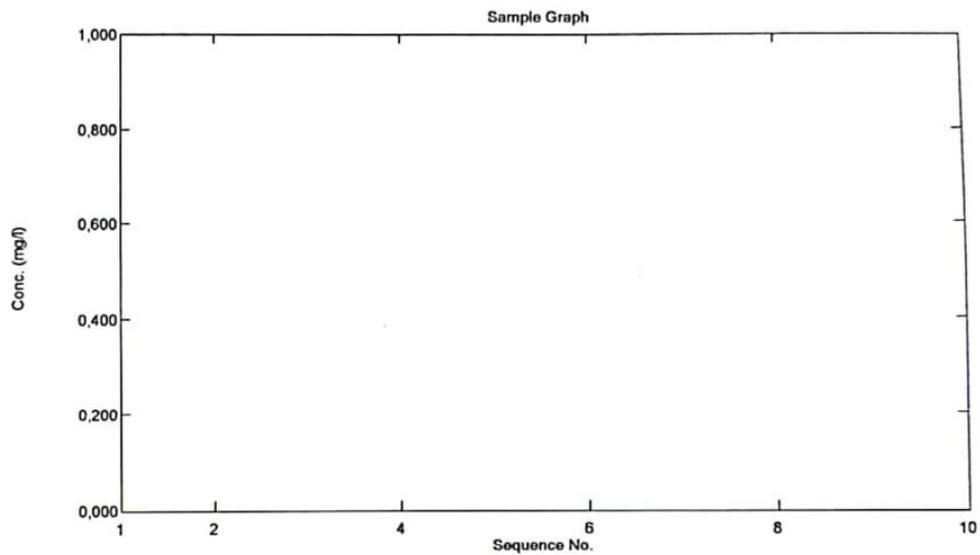
Kurva Linier	Perhitungan IC ₅₀
<p style="text-align: center;">Replikasi 1</p> <p style="text-align: right;">$y = 0,1782x + 37,123$ $R^2 = 0,9865$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 37,123)}{0,1782}$ $IC_{50} = 72,25$
<p style="text-align: center;">Replikasi 2</p> <p style="text-align: right;">$y = 0,2025x + 33,111$ $R^2 = 0,9941$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 33,111)}{0,2025}$ $IC_{50} = 83,40$
<p style="text-align: center;">Replikasi 3</p> <p style="text-align: right;">$y = 0,2028x + 32,097$ $R^2 = 0,9891$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 32,097)}{0,2028}$ $IC_{50} = 88,27$

Lampiran 13. Standart Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Ekstraksi Sonikasi

Sample Table Report

23/05/2023 10:55:53

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\UAE replikasi 1a.pho



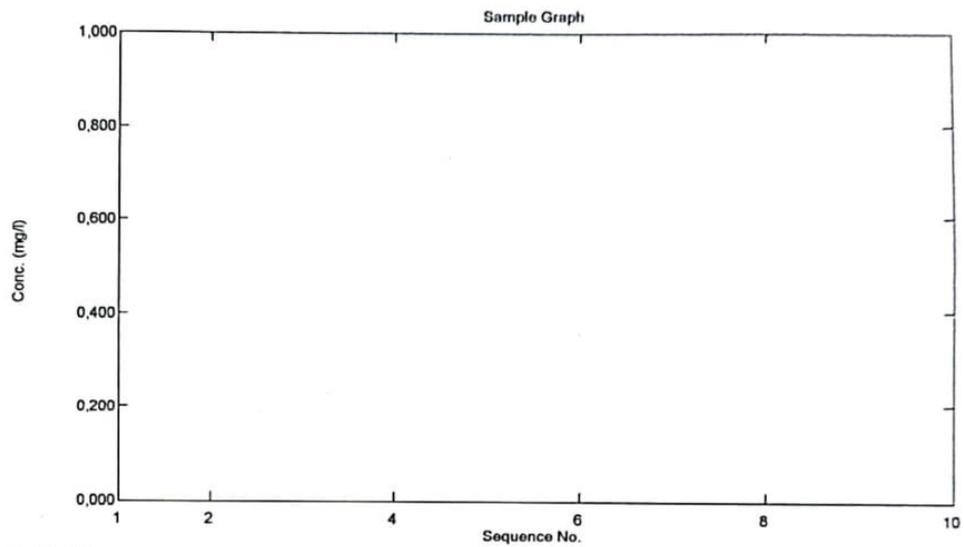
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.638	
2	konsentrasi1r	Unknown		*****	0.344	
3	konsentrasi2r	Unknown		*****	0.315	
4	konsentrasi3r	Unknown		*****	0.248	
5	konsentrasi4r	Unknown		*****	0.170	
6	konsentrasi5r	Unknown		*****	0.120	
7						

Sample Table Report

22/05/2023 13:05:46

File Name: C:\Users\ACER\Documents\dinda azzah\UAE 0.pho



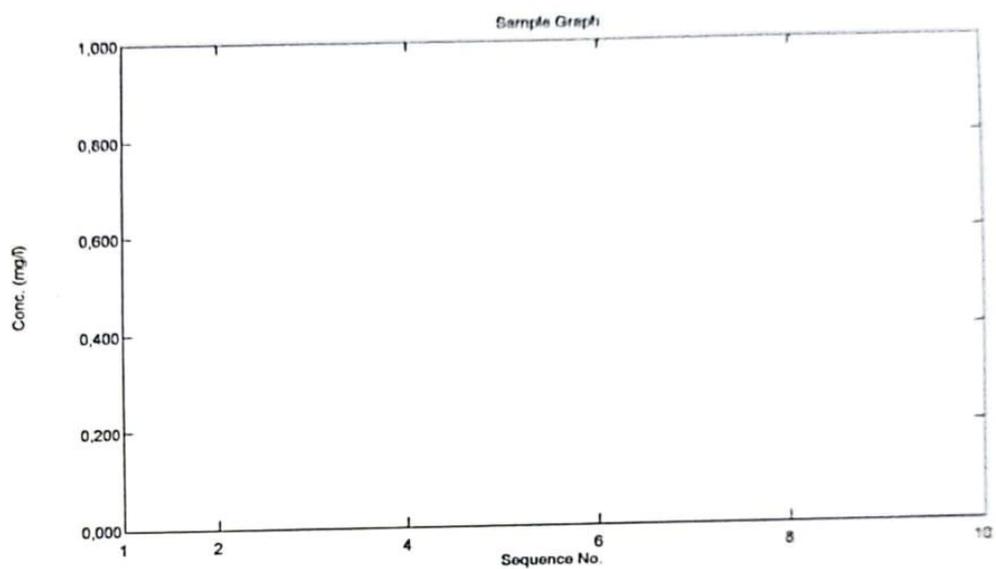
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	konsentrasi1r	Unknown		*****	0.355	
2	konsentrasi2r	Unknown		*****	0.297	
3	konsentrasi3r	Unknown		*****	0.218	
4	konsentrasi4r	Unknown		*****	0.165	
5	konsentrasi5r	Unknown		*****	0.114	
6						

Sample Table Report

2015/01/23 12:27:15

File Name: C:\Users\VACER\Documents\dinda azzah\UAE replikasi 3.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515.0	Comments
1	konsentrasi1r	Unknown		*****	0.325	
2	konsentrasi2re	Unknown		*****	0.313	
3	konsentrasi3r	Unknown		*****	0.254	
4	konsentrasi4r	Unknown		*****	0.169	
5	konsentrasi5r	Unknown		*****	0.115	
6						

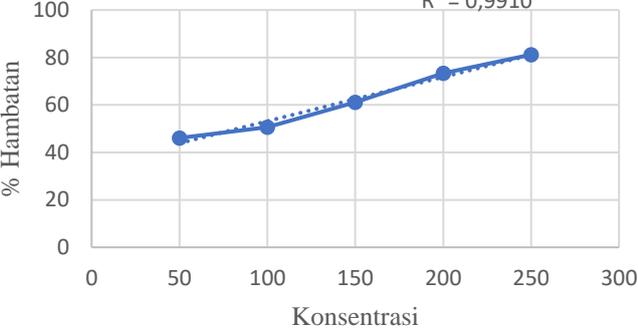
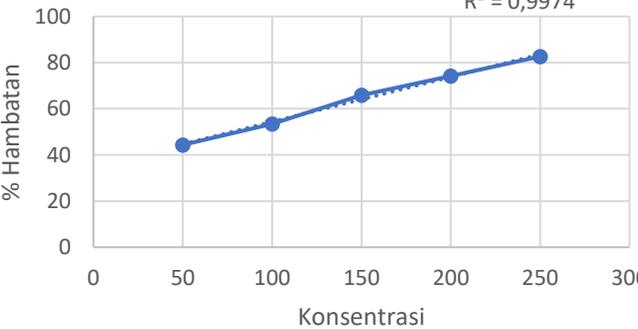
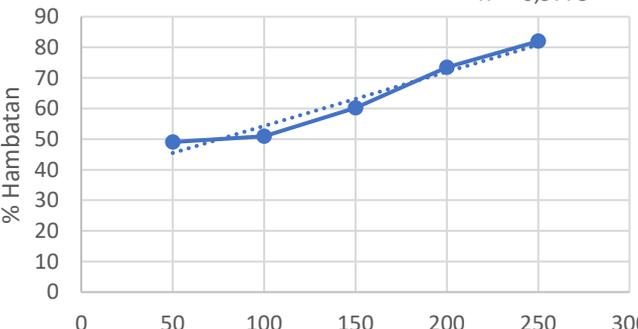
Lampiran 14. Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis dengan Metode Ekstraksi Sonikasi

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Hambatan	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1	Blanko	0,638		y=0,1859x+34,587 r ² =0,9910	82,91
	50	0,344	46,08		
	100	0,315	50,62		
	150	0,248	61,12		
	200	0,170	73,35		
	250	0,120	81,19		
2	50	0,355	44,35	y=0,19454x+34,897 r ² =0,9974	77,63
	100	0,297	53,44		
	150	0,218	65,83		
	200	0,165	74,13		
	250	0,114	82,64		
3	50	0,325	49,05	y=0,17682x+36,607 r ² =0,9773	75,74
	100	0,313	50,94		
	150	0,254	60,18		
	200	0,169	73,51		
	250	0,115	81,97		

SD	3,71617
Rata-rata	78,7600

Kurva Linier	Perhitungan IC ₅₀
<p style="text-align: center;">Replikasi 1 $y = 0,1859x + 34,587$ $R^2 = 0,9910$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 34,587)}{0,1859}$ $IC_{50} = 82,91$
<p style="text-align: center;">Replikasi 2 $y = 0,1945x + 34,897$ $R^2 = 0,9974$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 34,897)}{0,1945}$ $IC_{50} = 77,63$
<p style="text-align: center;">Replikasi 3 $y = 0,1768x + 36,607$ $R^2 = 0,9773$</p>  <p style="text-align: center;">% Hambatan</p> <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 36,607)}{0,1768}$ $IC_{50} = 75,74$

Lampiran 15. Hasil Analisa Data Rendemen Ekstrak

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	ekstraksi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rendemen	soxhletasi	,225	3	.	,984	3	,758
	sonikasi	,350	3	.	,830	3	,187

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

rendemen

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,164	1	4	,215

3. Uji *Independent Sample T-test*

Group Statistics

	ekstraksi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
rendemen	soxhletasi	3	21,3400	,47885	,27647
	sonikasi	3	19,4967	,86731	,50074

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
rendemen	Equal variances assumed	2,164	,215	3,223	4	,032	1,84333	,57199	,25522	3,43144
	Equal variances not assumed			3,223	3,116	,046	1,84333	,57199	,06062	3,62604

Lampiran 16. Hasil Analisa Data Aktivitas Antioksidan

1. Uji Normalitas

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	kuersetin	,368	3	.	,790	3	,091
	sonikasi	,286	3	.	,931	3	,491
	sokletasi	,267	3	.	,951	3	,575

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,274	2	6	,184

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6784,208	2	3392,104	112,336	,000
Within Groups	181,176	6	30,196		
Total	6965,384	8			

3. Uji LSD (Post Hoc Test)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kuersetin	sonikasi	-56,92667*	4,48672	,000	-67,9053	-45,9481
	sokletasi	-59,47333*	4,48672	,000	-70,4519	-48,4947
sonikasi	kuersetin	56,92667*	4,48672	,000	45,9481	67,9053
	sokletasi	-2,54667	4,48672	,591	-13,5253	8,4319
sokletasi	kuersetin	59,47333*	4,48672	,000	48,4947	70,4519
	sonikasi	2,54667	4,48672	,591	-8,4319	13,5253

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 17. COA DPPH

Tests			Results	Specifications
Appearance	Black powder		Black powder to crystal	
Purity(HPLC)	99.7 area%		min. 97.0 area%	

Chemical Name: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Free Radical
 Product Number: D4313
 CAS RN: 1898-65-4

Lot: WZ400

TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.
 4-10-1 Nihonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japan

11.21.2021(JST)

CI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only. The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

Customer Service:
 TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD
 -mail: globalbusiness@TCIchemicals.com


 Takuya Nishioka
 Quality Assurance Department Manager



Lampiran 18. COA Kuersetin

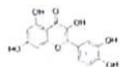


3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
QUERCETIN, = 95% (HPLC), SOLID

Product Number: **Q4951**
 Batch Number: **SLCK5305**
 Brand: **SIGMA**
 CAS Number: **117-39-5**
 Formula: **C15H10O7**
 Formula Weight: **302.24 g/mol**
 Quality Release Date: **10 JUN 2021**



Test	Specification	Result
Appearance (Color) Yellow	Conforms	Conforms
Appearance (Form)	Powder	Powder
¹ H NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Loss on Drying	< 4 %	1 %
Purity (HPLC)	> 95 %	99 %



Brian Dulle, Supervisor
 Quality Assurance
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



Version Number: 1

Page 1 of 1

