

IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT JERUK KEPROK (*Citrus reticulata*)

Theodorus M. Da Cunha, Suwari, Mafriz Romli Liunokas

*Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Jln. Adi Sucipto,
Penfui –Kupang, NTT, 85001, Indonesia
E-mail: romliliumokas193@gmail.com*

Abstrak

Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut kloroform dan air selama tiga hari pada suhu kamar. Hasil maserasi kemudian dilakukan penyaringan, selanjutnya dievaporasi menggunakan Rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental kemudian dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder. Pengujian senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform adalah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid, sedangkan dalam ekstrak air adalah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH). Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak kloroform dan air memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing 69,94 dan 77,76 ppm.

Kata Kunci: Jeruk keprok, meserasi, metabolit sekunder, antioksidan, metode DPPH

Abstract

Research has been carried out with the aim of knowing the content of secondary metabolites and antioxidant activity of chloroform extract and water of tangerine peel (*Citrus reticulata*). Extraction was carried out by maceration method using chloroform and water for three days at room temperature. The maceration results were then filtered, then evaporated using a rotary evaporator to obtain a thick extract. The results of the thick extract were then carried out with a phytochemical test to determine the secondary metabolite compounds. Testing of secondary metabolites contained in the chloroform extract contained alkaloids, flavonoids, saponins and steroids while the aqueous extract contained alkaloids, flavonoids and terpenoids. Antioxidant activity testing was carried out by the method 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH). Based on the results of the antioxidant activity test using the DPPH method, chloroform extract water have antioxidant activity which is classified as strong with an IC_{50} value of each 69,94 and 77,76 ppm.

Keywords: Tangerine, maceration, secondary metabolites, antioxidant, DPPH method.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom-atom molekul yang tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron bebas. Radikal bebas menimbulkan banyak masalah kesehatan [1]. Dalam bidang medis diketahui bahwa radikal bebas adalah biang keladi berbagai keadaan patologis seperti penyakit liver, jantung coroner, kanker, diabetes, katarak, penyakit hati dan berbagai proses penuaan dini [2].

Di dalam tubuh manusia terdapat senyawa yang dapat menahan radikal bebas yang disebut antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan memutuskan rantai dalam radikal bebas. Antioksidan banyak ditemukan dalam makanan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan [3].

Antioksidan berasal dari sumber tanaman berupa metabolit sekunder. Salah satunya yaitu senyawa fenolik yang berupa golongan flavonoid dengan fungsinya untuk meredam radikal bebas dan anti radikal bebas. Hal ini, menyebabkan banyak penelitian untuk menemukan obat herbal dari tanaman. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid adalah kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*).

Penelitian yang dilakukan Khotimah *et al.*, (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa saponin, fenol, tannin, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

bakteri[4]. Menurut Arora dan Kaur (2013) menyatakan bahwa hasil analisis fitokimia ekstrak metanol kulit jeruk keprok mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, tannin dan terpenoid[5].

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian adalah seperangkat alat-alat gelas, blender, steel head, kondensor, timbangan analitik, *grinder*, alat *rotary evaporator Buchii*, inkubator (Memert Jerman), *shaker* inkubator (Memert Jerman), filler, pipet ukur dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sampel (kulit jeruk keprok), Na₂SO₄ anhidrat (Meck), kloroform, aquades, alkohol 70%, asam klorida, asam klorida pekat, eter, asetat anhidrida, asam sulfat pekat, pereaksi FeCl₃, serbuk Mg, pereaksi mayer, kertas saring, tisu, NaCl steril 0,9%, *wrapping*, kapas, kain kassa, aluminium foil, pereaksi DPPH.

Prosedur kerja

Preparasi sampel kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yang diambil dari Kabupaten Timor Tengah Selatan (TTS), Kecamatan Mollo Selatan Desa Kesetnana. Proses pengambilan sampel kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yaitu diambil buahnya dari tumbuhan pohon jeruk keprok yang sudah matang, kemudian dikupas kulit jeruk keprok lalu dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran atau debu yang menempel. Selanjutnya dipotong menjadi ukuran kecil tujuannya untuk mempermudah proses pengeringan. Proses pengeringan kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dilakukan dengan cara dikering anginkan selama 14 hari, tujuannya untuk mencegah kerusakan senyawa metabolit sekunder. Pengeringan selama 14 hari, sampel mengalami perubahan fisik, yaitu perubahan warna dari orange menjadi keabu-abuan akibat proses foto-oksidasi dan mengerut akibat pengurangan kadar air.

Pembuatan ekstrak kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*)

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi atau dengan cara direndam pada suhu ruang untuk mengoptimalkan proses ekstraksi. Serbuk kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) ditimbang masing-masing sebanyak 200 gram direndam dengan 1 liter kloroform dan 1 liter air selama 3x24 jam. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam, bertujuan agar terjadi pemecahan dinding dan membran sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada di sitoplasma dapat terlarut [6]. Setelah 3x24 jam, proses maserasi dihentikan dan dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dan diperoleh maserat kloroform dan air kulit jeruk keprok. Maserat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 50°C yang diatur di bawah suhu pelarut agar terhindar dari kerusakan senyawa aktif pada sampel [7]. Tujuan evaporasi adalah untuk memekatkan konsentrasi larutan ekstrak kental.

Identifikasi metabolit sekunder

Identifikasi kandungan metabolit sekunder pada ekstrak yang memiliki aktivitas yang dilakukan dengan uji warna sebagai berikut [8].

Uji Alkaloid

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan jenis reagen/pereaksi yaitu pereaksi mayer dimana hasil positif yang dihasilkan yaitu endapan putih. Langkah awal dalam pengujian alkaloid yaitu masing-masing ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) diambil 2 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pada masing-masing ekstrak 3 tetes larutan asam klorida pekat, dimana fungsi larutan ini untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida dan akan membentuk garam yang mudah larut dalam air selain itu tujuan penambahan asam klorida adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Uji Flavonoid

Pengujian senyawa flavonoid pada ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yaitu diambil masing-masing 2 mL ekstrak kemudian dilakukan pemanasan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas. Selanjutnya ditambahkan 0,1 gram

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

logam magnesium pada masing-masing ekstrak kemudian ditambahkan tetes demi tetes larutan asam klorida pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid.

Uji Saponin

Pengujian senyawa saponin pada ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yaitu diambil masing-masing 2 mL ekstrak kemudian dilarutkan dalam aquades pada tabung reaksi dan dipanaskan dalam penangas air 50°C selama 5 menit dikocok selama 15 menit. Jika terbentuk busa dan tetap stabil selama 15 menit menunjukkan adanya senyawa saponin.

Uji Terpenoid

Pengujian senyawa terpenoid pada ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yaitu diambil masing-masing 2 mL ekstrak kemudian masing-masing ekstrak ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid.

Uji Steroid

Pengujian senyawa steroid pada ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yaitu diambil masing-masing 2 mL ekstrak kemudian masing-masing ekstrak ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH meliputi, penyiapan Larutan sampel, penyiapan larutan vitamin C, penyiapan larutan DPPH, optimasi panjang gelombang DPPH dan penetapan IC₅₀ pada masing-masing sampel.

Penyiapan Larutan 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)

Ditimbang serbuk DPPH 1,9716 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas, ditutup dengan aluminium foil dan dijaga agar terlindung dari cahaya serta harus dalam temperatur rendah.

Penyiapan Larutan Induk Ekstrak Kloroform dan Air

Ditimbang masing-masing ekstrak kloroform dan air sebanyak 5 mg lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian diencerkan dengan etanol sampai tanda batas. Larutan yang diperoleh adalah larutan induk ekstrak kloroform dan air dengan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan induk 100 ppm tersebut kemudian diencerkan lagi menjadi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm.

Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Larutan asam askorbat murni dibuat dengan menimbang 5 mg serbuk asam askorbat kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol dalam labu 100 mL kemudian dibuat variasi konsentrasi 1,25 ppm, 2,5 ppm, 3,75 ppm dan 5 ppm yang dibuat dengan labu 100 mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)

Dipipet 2 mL larutan DPPH kedalam kuvet, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spectrometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan melihat nilai absorbansi yang paling tinggi pada panjang gelombang 400-800 nm).

Pengukuran Absorbansi Larutan Pembanding Asam Askorbat

Dipipet 2 mL dari masing-masing konsentrasi, yaitu 1,25 ppm, 2,5 ppm, 3,75 ppm dan 5 ppm ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL DPPH 100 ppm dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, selanjutnya dipipet ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada instrument dengan panjang gelombang maksimum.

Pengukuran Absorbansi Larutan Ekstrak Kloroform Dan Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Dipipet 2 mL dari masing-masing konsentrasi, yaitu 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL DPPH 100 ppm dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, selanjutnya dipipet ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada instrument dengan panjang gelombang maksimum.

Analisis data

Dari data absorbansi yang diperoleh dapat dihitung kapasitas anti radikal bebasnya dengan menggunakan rumus:

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

$$\text{inhibisi (\%)} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} (100\%) \quad (1)$$

Dari % inhibisi yang diperoleh, kemudian ditentukan nilai IC₅₀ yang menyatakan besarnya konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%. Nilai IC₅₀ dihitung dari kurva regresi linier antara % inhibisi dengan konsentrasi.

Setelah didapatkan % inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaannya adalah $y = ax + b$, ditentukan dengan perhitungan regresi linier dimana x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah % inhibisi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50% (IC₅₀)* yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah menggantikan y dengan 50.

Data antioksidan pada radikal DPPH (% penghambatan) ekstrak kloroform dan akuades kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dianalisis dan dihitung nilai IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Pada penelitian ini nilai IC₅₀ dianalisis dan dihitung menggunakan persamaan regresi linear.

$$y = ax + b \quad (2)$$

Keterangan :

y = Persentase aktivitas antioksidan

x = Konsentrasi larutan uji

a = Tetapan slope

b = Tetapan intersep

Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak sebagai absis (sumbu x) dan nilai persentase peredaman (aktivitas antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y). Hasil analisis regresi linear berupa nilai x, dimasukkan ke dalam rumus $IC_{50} = \text{antilog } x$ dan ditentukan tingkat kekuatan antioksidan (Hidajat, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kloroform dan Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental yaitu untuk ekstrak kloroform sebanyak 2,86 gram dan ekstrak air sebanyak 5,28 gram. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Persen (%) rendemen ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*)

Berat Sampel (gram)	Irutan pengestrak	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstraksi Setelah di Evaporasi (gram)	Rendemen (%)
200	Kloroform	1000	2,86	1,43
200	Air	1000	5,28	2,64

Perbedaan jenis pelarut mempengaruhi jumlah rendemen. Hasil perhitungan rendemen ekstrak kulit jeruk keprok tertinggi diperoleh menggunakan pelarut air yaitu 2,64% sedangkan rendemen terendah terdapat pada pelarut kloroform yaitu 1,43%. Pelarut air memiliki rendemen yang tinggi karena bersifat polar sehingga mampu membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa polar yang terdapat pada sampel. Sedangkan pelarut kloroform memiliki rendemen rendah karena bersifat non polar sehingga dapat membentuk ikatan dipol-dipol dengan senyawa polar yang terdapat pada sampel.

Pengujian Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

Tabel 2. Hasil pengujian metabolit sekunder ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*)

Metabolit Sekunder	Metode Pengujian	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Air
Alkaloid	Sam klorida pekat, Reagen Mayer	Positif (+)	Positif (+)
Flavonoid	Logam Mg, HCl pekat	Positif (+)	Positif (+)
Saponin	Aquades	Positif (+)	Negatif (-)

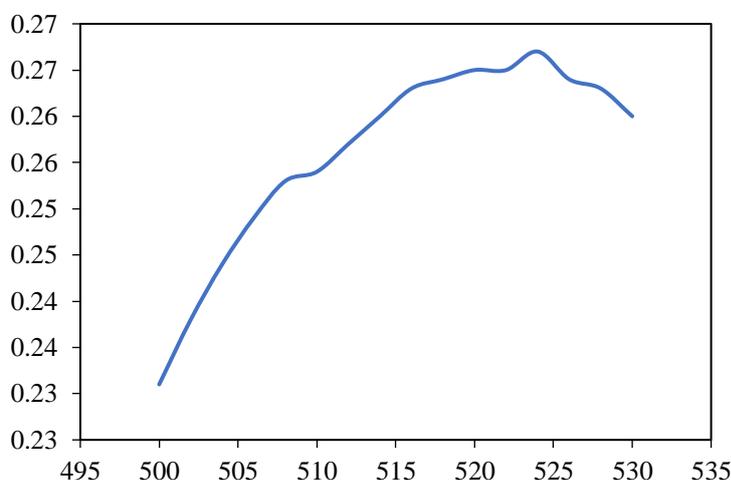
**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

Terpenoid	HCl pekat, H ₂ SO ₄ pekat	Negatif (-)	Positif (+)
Steroid	HCl pekat, H ₂ SO ₄ pekat	Positif (+)	Negatif (-)

Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji dilaporkan sebagai IC₅₀. IC₅₀ digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC₅₀ dinyatakan sebagai konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan mendonorkan atom hidrogenya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi yang ditandai dengan kehilangan warna ungu menjadi kuning pucat disertai dengan penurunan nilai absorbansi.

Tahapan awal yang dilakukan adalah pembuatan larutan induk DPPH 0,1 mM yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan pembanding asam askorbat. Pembuatan larutan ekstrak dan pembanding asam askorbat dibuat dengan empat konsentrasi yang meningkat dengan didasarkan pada penggunaan metode regresi dalam pembuatan persamaan garis yang didasarkan pada nilai absorbansi dan konsentrasi yang meningkat agar dapat memberikan serapan linear. Berdasarkan hasil pengamatan visual, tampak bahwa ekstrak dan pembanding yang direaksikan dengan DPPH mengalami perubahan yang berarti, yaitu dari ungu menjadi kuning pucat seiring bertambahnya konsentrasi setelah di inkubasi selama 30 menit. Perubahan warna menyebabkan penurunan nilai absorbansi radikal bebas DPPH, sehingga semakin rendah nilai absorbansi semakin tinggi antioksidannya. DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan akan menghasilkan DPPH tereduksi dan radikal antioksidan [10]. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan. Untuk mempertegas hasil pengamatan secara visual, maka diperlukan suatu parameter, yakni penentuan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) dengan menganalisis besarnya absorbansi ekstrak dan pembanding yang telah diinkubasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penentuan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,1 mM. Berikutnya adalah grafik panjang gelombang maksimum:



Grafik 1. Serapan Maksimum DPPH Pada Panjang Gelombang Cahaya Tampak

Tabel 3. Keterangan Serapan Maksimum DPPH Pada Panjang Gelombang Cahaya Tampak

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,231	516	0,263
502	0,238	518	0,264
504	0,244	520	0,265
506	0,249	522	0,265
508	0,253	524	0,267
510	0,254	526	0,264

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022

512	0,257	528	0,263
514	0,260	530	0,260

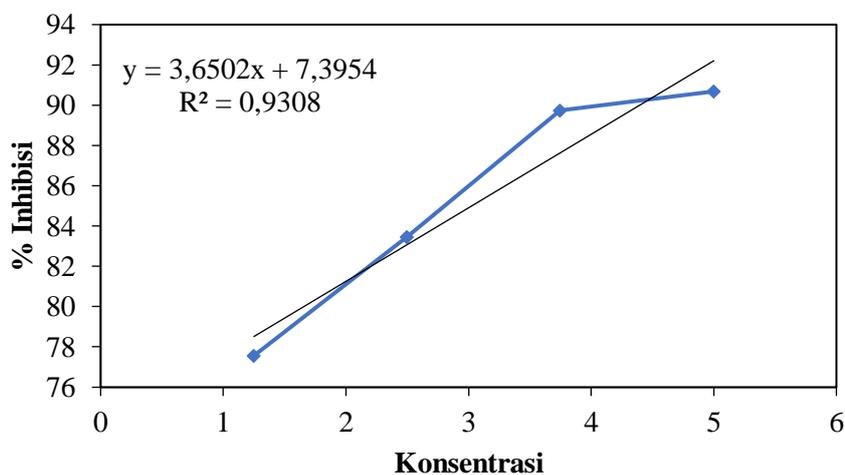
Berdasarkan tabel dan grafik di atas larutan DPPH 0,1 mM memiliki absorbansi maksimum 0,267 dipanjang gelombang 524 nm, dan berada pada daerah *visible*. Penentuan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk menentukan panjang gelombang pada saat senyawa yang ingin diukur memberikan absorbansi yang optimum. *1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil* (DPPH) umumnya memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 nm sampai 520 nm [11]

Absorbansi Larutan Pembanding Asam Askorbat

Pengukuran absorbansi larutan pembanding asam askorbat dilakukan untuk mengetahui besar peredaman yang diberikan oleh asam askorbat sebagai antioksidan murni pada DPPH yang adalah senyawa radikal bebas. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder, yaitu menangkap radikan bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya sangat tinggi, mudah diperoleh, lebih polar dari vitamin yang lain dan mempunyai gugus hidroksil yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas [12]. Berikutnya adalah data-data hasil pengukuran asam askorbat.

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran dan Perhitungan Absorbansi Asam Askorbat

Jenis Larutan	Konsentrasi (ppm) X	Max (nm)	Absorbansi		% Inhibisi (Y)	Persamaan Regresi Linear	IC ₅₀
			Blanko	Sampel			
Asam Askorbat	1,25	524	0,526	0,118	77,5665	Y=3,6502x+7,3954 R ² = 0,9308	11,67
	2,5		0,526	0,087	83,4600		
	3,75		0,526	0,054	89,7338		
	5		0,526	0,049	90,6844		



Grafik 2. Kurva Konsentrasi dan % Inhibisi Larutan Asam Askorbat

Dengan melakukan analisis data diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 11,67 ppm. Ini menunjukkan bahwa asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Menurut Melyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 mg/L, kuat apabila nilai IC₅₀ 50-100 mg/L, sedang apabila nilai IC₅₀ 100-150 mg/L, lemah apabila nilai IC₅₀ 150-200 mg/L dan sangat lemah apabila nilai IC₅₀ lebih dari 200 mg/L. Berdasarkan data-data di atas menunjukkan bahwa dengan adanya peningkatan konsentrasi larutan asam askorbat menyebabkan nilai absorbansi yang dihasilkan pun menurun. Hal itu disebabkan oleh semakin besar konsentrasi larutan

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

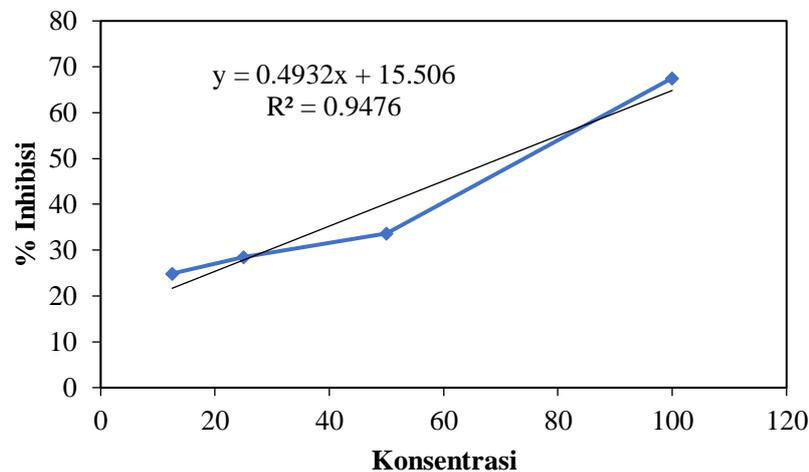
asam askorbat, maka akan semakin banyak elektron yang didonor kepada radikal DPPH sehingga berdampak pada penurunan nilai absorbansi karena warna DPPH yang memudar. Peningkatan konsentrasi juga memberikan dampak peningkatan % inhibisi.

Absorbansi Ekstrak Kloroform dan Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

a) Data-data hasil pengukuran dan perhitungan absorbansi ekstrak kloroform dapat dilihat bawah ini.

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran dan Perhitungan Absorbansi Ekstrak Kloroform Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Jenis Larutan	Konsentrasi (ppm) X	Max (nm)	Absorbansi		Inhibisi (Y)	Persamaan Regresi Linear	IC ₅₀
			Blanko	Sampel			
Ekstrak Kloroform Kulit Jeruk Keprok	12,5	524	0,422	0,317	24,8815	Y=0,4932x+15,506 R ² =0,9476	69,94
	25		0,422	0,302	28,4360		
	50		0,422	0,280	33,6492		
	100		0,422	0,237	67,5355		

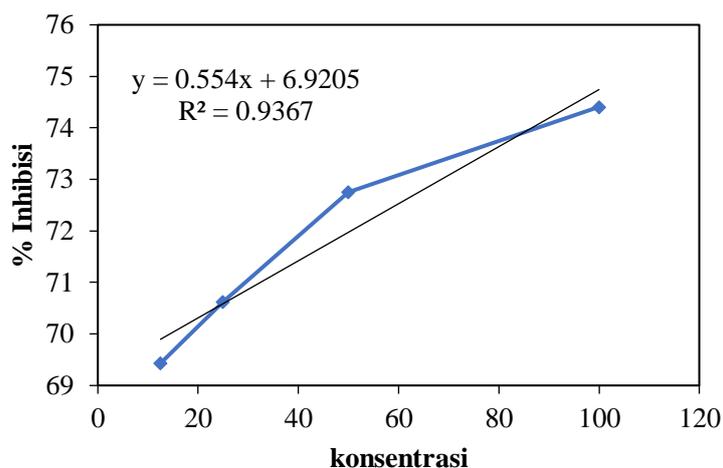


Grafik 3. Kurva Konsentrasi dan % Inhibisi Larutan Ekstrak Kloroform Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

b) Data-data hasil pengukuran dan perhitungan absorbansi ekstrak air dapat dilihat bawah ini.

Tabel 6. Data Hasil Pengukuran dan Perhitungan Absorbansi Ekstrak Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Jenis Larutan	Konsentrasi (ppm) X	Max (nm)	Absorbansi		% Inhibisi (Y)	Persamaan Regresi Linear	IC ₅₀
			Blanko	Sampel			
Ekstrak Air Kulit Jeruk Keprok	12,5	524	0,422	0,129	69,4312	Y=0,554x+6,9205 R ² =0,9367	77,76
	25		0,422	0,124	70,6161		
	50		0,422	0,115	72,7488		
	100		0,422	0,108	74,4075		



Grafik 4. Kurva Konsentrasi dan % Inhibisi Larutan Ekstrak Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Dari data-data ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*), menunjukkan bahwa masing-masing larutan uji mempunyai kemampuan untuk menangkal radikal bebas. Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan regresi linear diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak kloroform kulit jeruk keprok sebesar 69,94 ppm dan untuk ekstrak air kulit jeruk keprok diperoleh nilai IC_{50} sebesar 77,76 ppm. Masing-masing ekstrak menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat, karena masing-masing sampel memiliki nilai IC_{50} berkisar antara 50 ppm sampai 100 ppm. Kemampuan masing-masing ekstrak mereduksi DPPH seiring dengan peningkatan konsentrasi dapat diperkirakan bahwa dalam masing-masing ekstrak terdapat senyawa antioksidan. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin banyak senyawa antioksidan yang menyumbangkan elektron kepada radikal DPPH sehingga berdampak pada penurunan absorbansi, peningkatan nilai % inhibisi dan perubahan warna yang semakin memudar. DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan akan menghasilkan DPPH tereduksi dan radikal antioksidan [10].

Hasil Penentuan Nilai *Inhibition Concentration* (IC_{50}) Asam Askorbat dan Ekstrak Kloroform dan Air Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen penghambat 50% [13]. Berdasarkan penentuan nilai IC_{50} pada asam askorbat dan ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok dengan menggunakan persamaan regresi linear menunjukkan bahwa nilai IC_{50} asam askorbat lebih kecil, yaitu 11,67 ppm sedangkan ekstrak kloroform sebesar 69,94 ppm dan ekstrak air sebesar 77,76 ppm sehingga asam askorbat dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat dan masing-masing ekstraknya tergolong kuat. Asam askorbat dikatakan sangat kuat karena memiliki gugus hidroksil yang mampu menyumbangkan satu proton kepada radikal DPPH. Sedangkan pada masing-masing ekstrak dikatakan sebagai antioksidan kuat namun, belum diketahui secara spesifik dari golongan metabolit sekunder apa saja yang memberikan aktivitas antioksidan dalam masing-masing ekstrak. Beberapa senyawa turunan metabolit sekunder memiliki aktivitas antioksidan. Salah satu yang paling banyak adalah flavonoid. Flavonoid aktif dalam menangkal radikal bebas ditentukan dari adanya gugus fungsi hidroksi [14]. Senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan diantaranya katekin, flavon, flavanon, flavanol, kalkon dan isoflavon [15]. Hal tersebut disebabkan oleh adanya gugus fungsi hidroksil (-OH) bebas dan ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat pada flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan [16]. Selain itu senyawa fenolik juga mampu mendonorkan radikal hidrogen untuk menetralkan radikal bebas dan radikal fenolik yang terbentuk akan terstabilkan oleh resonansi [17].

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) adalah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid, sedangkan dalam ekstrak air adalah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak kloroform dan air kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC₅₀ masing-masing 69,94 dan 77,76 ppm.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan meneliti kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dengan menggunakan beberapa pelarut dan peranannya untuk obat tradisional. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan beberapa metode yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Mukarromah, Baitul. 2010. Dampak Radikal Bebas dan Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh, (Online). <http://blog.unnes.ac.id/sitibaitul/archives/33.com> (Diakses 03 Januari 2012).
- [2] Sinly. 2008. Antioksidan Alami Di Sekitar Kita (Online) http://www.chemistry.org/artikel_kimia/kimia_pangan/antioksidan-alami-di-sekitar-kita.com (Diakses tanggal 08 Oktober 20120).
- [3] Yuliarti, Nurheti. 2008. Racun di Sekitar Kita. Penerbit ANDI, Yogyakarta.
- [4] Khotimah K, Rahmawati, Mukarlina. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Saim Terhadap *Phytophthora sp.* Im₅ Dari Pangkal Batang Tanaman Jeruk Saim. (*Citrus nobilis var. Microcorpa*). Jurnal Protobiont. 2017; 6(3):190.
- [5] Arora, M dan Kaur, P. 2013. Phytochemical Screening of Orange Peel and Pulp, *IJRT*. 12(2): 517-522.
- [6] Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Daun *Ficus Elastic Nois Ex Lume Terhadap Artemia Salina Leach Profil Kromotografi Lapis Tipis*. Skripsi: Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [7] Fatmawati, Andy. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton Sp. Terhadap Staphylococcus Aureus*. Akademi Analisis Kesehatan Muhammadiyah Makassar.
- [8] Harborne, J.B. 1987. *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan*. Edisi II, ITB, Bandung.
- [9] Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak. Artikel Kimia*. Fakultas Kedokteran Airlangga. Surabaya.
- [10] Sulandi, A. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratya trifoliai*). Dengan Metode DPPH. *Naskah Publikasi*. Pontianak Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- [11] Molyneux, P. 2004. The Used Of The Stable Free Radical *Diphenylpicryl-Hidrazil* (DPPH) for Estimating Antioxidan Activity. *Songklanakarinn Journal of science and Tecnology*. 26(2): 211-219.
- [12] Isnindar, Wahyuono, S. (2011). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros Kaki Thumb*) Dengan Metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*). *Majalah Obat Tradisional* 16(3) 157-164.
- [13] Suratmo. 2009. Potensi Ekstrak Daun Siri Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antioksidan. *BSS*. 205(1): 1-5.
- [14] Djatmiko., Suhardjono., dan Nungroho, A.E. 1998. Uji Fraklinik Efek Farmakologi dan Kisaran Dosis Jamu Tensigard Sebagai Obat Antihipertensis. *Majalah Farmasi Indonesia* 12(1): 38-49.
- [15] Markham, K. R., 1988, *Techniques of Flavonoids Identification*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- [16] Parwata, I. Rita, W.S. dan Yoga, R. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*, 3: 7-13.
- [17] Prabawati, S.Y., Setiwan, A.F. dan Agustina, A.F. 2012. Sintesis Senyawa 1,4-Bis[(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Formaldehid-Fenil)-Metil] Piperazin Dari Bahan Dasar Fanilin dan Uji Aktivitasnya Sebagai Zat Antioksidan. *Jurnal Kimia*, 8: 30-43.