



ISSN (Online): xxxx-xxxx

Volume 1 Nomor 1 Desember 2023

DOI:

Page : 25-32

Received: August 2023

Revised: November 2023

Published: Desember 2023

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) dengan Metode DPPH

✉Niken Ayu Oktaviana, Nurul Hidayatul Mar`ah, R.F.X Premihadi Putra
Program Studi Farmasi, STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, Indonesia

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mampu mencegah stres oksidatif yang berperan utama dalam pengembangan penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, arthritis dan kardiovaskular. Untuk meningkatkan kandungan zat aktif flavonoid, saponin, tanin pada daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan maka diperlukan proses purifikasi dan dilakukan uji antioksidan. Proses purifikasi adalah metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni bebas dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) dengan menggunakan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm yang dilakukan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol terpurifikasi daun jeruk lemon memiliki nilai aktivitas antioksidan kuat. Berdasarkan Uji Independent Sample T-Test. Daya absorbansi ekstrak daun jeruk lemon menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan. Menurut uji independent sample T-Test pada taraf $p < 0,05$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol terpurifikasi daun jeruk lemon memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan diperoleh nilai IC50 54,55 ppm.

Kata Kunci: Antioksidan, Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon, IC50.

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can protect cells from damage caused by free radicals. Antioxidants are able to prevent oxidative stress which plays a major role in the development of chronic and degenerative diseases such as cancer, arthritis and cardiovascular. To increase the content of active substances flavonoids, saponins, tannins in lemon leaves (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) which has activity as an antioxidant, a purification process is needed and antioxidant test. The purification process is a method of obtaining pure natural components free from other chemical components that are not needed. The aim of this study was determined antioxidant activity of purified ethanol extract of lemon leaves (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) using concentrations of 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm and 125 ppm by DPPH method. The results showed purified ethanol extract of lemon leaves has a strong antioxidant activity value. Based on the Independent Sample T-Test. The absorbance power of lemon leaf extract shows a significant difference. According to the Independent Sample T-Test at the level of $p < 0.05$. The conclusion of this study is that purified ethanol extract of lemon leaves has strong antioxidant activity with an IC50 value of 54.55 ppm.

Keywords: Antioxidant Activity, Purified Ethanol Extract of Lemon Leaves, IC50.

✉Corresponding Author:

Email : nikenayuoktaviana@gmail.com

Address : Jl. Taman Praja No.25, Mojorejo,

Kec. Taman, Kota Madiun, Jawa Timur 63139

This Journal is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



PENDAHULUAN

Tumbuhan memiliki peran yang sangat penting bagi kehidupan manusia, maka pengetahuan mengenai aktivitas biologis yang ditimbulkan oleh senyawa yang terkandung dalam tumbuhan sangat dibutuhkan untuk menemukan sumber obat terbaru dari suatu penyakit. Salah satu tumbuhan yang diyakini berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat adalah jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.). Tubuh manusia membutuhkan substansi yang penting berupa antioksidan dalam jumlah yang cukup supaya dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. Antioksidan secara natural diproduksi oleh tubuh manusia, baik berupa enzim-enzim maupun senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan (Paat dkk., 2022).

Antioksidan mampu mencegah stres oksidatif yang berperan utama dalam pengembangan penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, arthritis, penuaan penyakit autoimun, kardiovaskular dan penyakit neurodegeneratif. Saat ini banyak Tumbuhan obat dikembangkan pada industri farmasi menjadi obat tradisional. Salah satu tanaman yang potensial dimanfaatkan untuk obat tradisional adalah jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.).

Pada Buah Jeruk Lemon dikategorikan sebagai sumber penting senyawa fenol dan glikosida. Senyawa pada tanaman ini mengandung asam fenolik, bioaktif yang bertanggung jawab untuk antioksidan. selain itu, didalam Daun jeruk lemon terdapat senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan meliputi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid (Harahap dkk., 2021). Untuk meningkatkan kandungan zat aktif flavonoid, saponin, tanin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan maka diperlukan proses purifikasi. Proses purifikasi adalah metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni bebas dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan. Untuk tingkatan kemurnian (purity) suatu struktur senyawa tertentu, kemurnian bahan harus 95-100% (Nugroho dkk., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Verdiana dkk. (2018) diperoleh nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah lemon termasuk tinggi atau sangat kuat. Pada

konsentrasi 15 ppm (12,76), 25 ppm (22,21), 35 ppm (33,15), 45 ppm (41,39), 55 ppm (53,12). Berdasarkan uraian di atas dapat diketahui bahwa daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) mempunyai senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan dan pada daun jeruk lemon belum di uji antioksidan sehingga pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) dengan metode uji antioksidan yang digunakan adalah metode peredaman radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) berdasarkan nilai IC_{50} . Pengujian antioksidan daun jeruk lemon menggunakan metode DPPH karena metode ini memiliki kelebihan diantaranya yaitu sederhana, mudah dilakukan dan sensitif terhadap sampel.

METODE

Alat dan Bahan

Timbangan analitik, beaker glass, corong, sendok, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, waterbath, oven, blender, ayakan mesh, kertas saring, batang pengaduk, cawan porselen, aluminium foil, corong pisah, pipet tetes. Bahan yang digunakan adalah Daun jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.), etanol 96%, asam asetat (CH_3COOH), serbuk Mg, asam sulfat (H_2SO_4), HCL pekat pereaksi Mayer, larutan Dragendroff, $FeCl_3$, asam asetat anhidrat, kloroform, aquadest, larutan DPPH, vitamin C.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan serbuk tanaman daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) sebanyak 1 kg serbuk. Pertama dilakukan dengan cara 5 kg daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir, kemudian ditiriskan dari sisa cucian dan selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu $50^{\circ}C$. Setelah kering simplisia dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang pada saat pencucian kemudian dihaluskan dengan mesin grider dan diayak dengan ayakan 50 mesh. Simpan serbuk simplisia dalam wadah yang rapat dan tertutup rapat. Serbuk simplisia daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) ditimbang kemudian dimasukkan

dalam botol gelap. Ditambah dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 ditutup dengan rapat. Diaduk sesekali dan direndam selama 3 hari, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Selanjutnya dipekatkan menggunakan alat vacuum rotary evaporator pada suhu 30-40°C hingga didapat ekstrak kental (Hindun dkk., 2017).

Purifikasi Ekstrak

Ekstrak yang diperoleh dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*; selanjutnya dipurifikasi dengan menambahkan pelarut n-heksana sebanyak 100 mL setelah itu digojog selama 15 menit dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan n-heksana dipisahkan, dan dilakukan pengulangan purifikasi ekstrak sampai fase n-heksana berwarna bening. Fase etanol yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan waterbath (Jabbar dkk., 2018).

Identifikasi Senyawa Alkaloid

Sampel uji ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloida, diambil 3 tabung reaksi, lalu kedalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda, antara lain ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Mayasari & Laoli, 2018).

Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 0,5 g sampel uji ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, kedalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoida positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Identifikasi Senyawa Saponin

Sampel uji ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil

dan tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi Senyawa Tanin

Sampel uji ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dilarutkan dengan 10 ml aqudest, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl₃ 1 %. Jika Terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukan adanya tanin (Hasibuan & Edrianto, 2021).

Identifikasi Steroid/Terpenoid

Sampel uji ditimbang sebanyak 1 gram lalu ditambahkan 20 ml kloroform dan diletakkan didalam tabung reaksi yang kering, kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Reaksi positif akan ditunjukkan dengan adanya cincin berwarna jingga/ungu untuk triterpenoid dan steroid dengan warna hijau kebiruan (Hasibuan & Edrianto, 2021).

Uji Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas ekstrak daun jeruk lemon yaitu 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm. Antioksidan alami yang menyebabkan warna berwarna ungu DPPH akan berubah menjadi warna kuning. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin muda dan akan membentuk warna kuning (Purwaningsih, 2012). Konsentrasi larutan uji yang telah disiapkan dari ekstrak tersebut diuji dengan DPPH untuk mengetahui peredaman radikal bebas dan persentase aktivitas antioksidannya (Khumaira Sari & Ayati, 2018). Larutan baku DPPH dibuat dengan konsentrasi 600 ppm dengan menimbang 24 mg DPPH yang dilarutkan dengan pelarut 40 ml. penentuan panjang gelombang maksimum yaitu pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

Larutan uji adalah ekstrak terpurifikasi yang dibuat pada konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm dengan dipipet 250 µl, 500 µl, 750 µl, 1000 µl, 1250 µl dan pada masing-masing konsentrasi ditambahkan

2 ml DPPH 600 ppm lalu divortex selama 5 detik dan sampel diinkubasi selama 30 menit. Standar yang digunakan adalah vitamin C dengan konsentrasi 1000 ppm yang dibuat kurva baku pada konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm. Selanjutnya di pipet 250 μ l, 500 μ l, 750 μ l, 1000 μ l dan 1250 μ l. Setiap konsentrasi di tambahkan 2 ml larutan DPPH 600 ppm dan etanol PA ad 10 ml. Larutan dihomogenkan lalu divortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 30 menit. Sampel di uji pada spektrofotometer UV-Vis.

Uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = bx + a$ dengan persamaan regresi linier konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen antioksidan sebagai sumbu y, digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (inhibitor concentration 50 %) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh dari IC_{50} . Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50 % (Rahmayani dkk., 2013).

Analisis Data

Melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak purifikasi dengan metode DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} , kemudian di uji analisa Independent Sample T-test menggunakan SPSS 26 dengan cara membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak terpurifikasi dan vitamin C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi simplisia. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Tabel 1. Rendemen ekstrak Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.)

| Sampel | Berat basah (g) | Berat ekstrak (g) | Rendemen % |
|--------------------|-----------------|-------------------|------------|
| Ekstrak daun lemon | 600 | 69,63 | 11,605 |

Sumber: Data Diolah

Rendemen merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi simplisia. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen ekstrak yang diperoleh adalah sebesar 11,605%. Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa rendemen dari ekstrak daun jeruk lemon dapat memenuhi syarat yang telah ditetapkan. Tingginya rendemen yang diperoleh dari suatu tumbuhan yang diekstrak tergantung dengan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang kepolaranya sesuai dengan senyawa kimia akan mempunyai daya larut yang tinggi terhadap zat dan menghasilkan rendemen yang tinggi. (Mindawarnis & Artika, 2021).

Identifikasi Kandungan Senyawa

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia ekstrak

| Senyawa | Hasil | Keterangan |
|-----------|-----------------|------------|
| Alkaloid | Endapan coklat | + |
| Flavonoid | Jingga | + |
| Steroid | Hijau tua | + |
| Saponin | Terbentuk busa | + |
| tanin | Hijau kehitaman | + |

Keterangan. (+) Terdapat metabolit sekunder

Sumber: Data Diolah

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.). Identifikasi kandungan kimia meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Adanya senyawa alkaloid jika terjadi endapan atau kekeruhan pada sampel (Mayasari & Laoli, 2018). Pada hasil identifikasi ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon menunjukkan hasil yang sama yaitu adanya senyawa alkaloid yang ditandai dengan terjadinya endapan atau kekeruhan. Endapan dihasilkan karena terjadi pembentukan kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang akan berikatan dengan ion K^+ dalam pereaksi alkaloid (Oktavia & Sutoyo, 2021). Flavonoid adalah metabolit

sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif. Adanya senyawa flavonoid jika terjadi warna kuning jingga maupun merah pada lapisan amil alkohol (Oktaviani dkk., 2019). Pada hasil identifikasi ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon menunjukkan hasil yang sama yaitu adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. Dihasilkan perubahan warna larutan menjadi berwarna jingga dikarenakan senyawa kompleks dari ion fenoksi pada senyawa flavonoid. Reduksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak dengan Mg^{2+} dan HCl pekat akan membentuk kompleks yang berwarna jingga (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Adanya senyawa saponin apabila terdapat pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit (Agustina dkk., 2017). Pada hasil identifikasi ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon mendapatkan hasil yang sama yaitu menunjukkan adanya senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuk busa yang stabil setinggi 1-10 cm. Timbul buih yang stabil disebabkan karena glikosida memiliki kemampuan memperoleh buih pada air lalu mengalami hidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya (Oktavia & Sutoyo, 2021). Adanya senyawa tanin apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukan adanya tanin (Hasibuan & Edrianto, 2021). Pada hasil identifikasi ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon mendapatkan hasil yang sama dengan menunjukkan adanya senyawa tanin yang ditandai dengan terbentuk warna biru atau hijau kehitaman. Tanin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air dan pelarut polar. Tujuan penambahan $FeCl_3$ untuk menentukan apakah daun jeruk lemon mengandung gugus fenol yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna biru atau hijau kehitaman. Selanjutnya adanya senyawa steroid jika terbentuknya warna hijau, biru tua maupun hijau kebiruan (Hasibuan & Edrianto, 2021). Pada hasil identifikasi ekstrak

etanol dan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon mendapatkan hasil yang sama dengan menunjukkan adanya senyawa steroid yang ditandai dengan terbentuk warna warna hijau, biru atau hijau kebiruan. Perubahan warna ini terjadi karena golongan steroid mengalami oksidasi yang akan membentuk ikatan rangkap terkonjugasi (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Proses purifikasi adalah metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni bebas dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan. Purifikasi ekstrak dilakukan untuk menghilangkan adanya zat ballast yang tidak dapat menghasilkan efek terapi (Nugroho dkk., 2013). Kemudian proses purifikasi adalah metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni bebas dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan. Purifikasi ekstrak dilakukan untuk menghilangkan adanya zat ballast seperti lipid (Nugroho dkk., 2013). Penggunaan ekstrak terpurifikasi adalah alternatif untuk meminimalkan massa suatu ekstrak dalam tujuan praktis pembuatan sediaan secara farmasetis karena beberapa komponen yang terkandung dapat direduksi dengan proses tersebut. Hal ini juga untuk menjaga beberapa kandungan kimia ekstrak yang berefek sinergisme sehingga dapat memaksimalkan proses pengobatan. Hasil dari perhitungan rendemen ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) yaitu 48, 472 %. Sehingga telah memenuhi syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Hasil dari perhitungan rendemen ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) diperoleh sebagai berikut (Tabel 3).

Tabel 3. Rendemen Ekstrak Terpurifikasi

| Berat ekstrak (g) | Berat Ekstrak Terpurifikasi (g) | Rendemen % |
|-------------------|---------------------------------|------------|
| 50 | 24,24 | 48,47 |

Sumber: Data Diolah

Hasil skrining fitokimia ekstrak terpurifikasi yaitu dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Skrining Fitokimia Ekstrak Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.)

| Senyawa | Hasil | Keterangan |
|-----------|-----------------|------------|
| Alkaloid | Endapan coklat | + |
| Flavonoid | Jingga | + |
| Steroid | Hijau tua | + |
| Saponin | Terbentuk busa | + |
| Tanin | Hijau kehitaman | + |

Keterangan : (+) Terdapat metabolit sekunder
Sumber: Data Diolah

Uji bebas etanol menggunakan metode yaitu ekstrak terpurifikasi ditambah 1 ml asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan dengan api bunsen. Jika pada hasil uji tersebut tidak tercium bau ester, maka ekstrak positif bebas etanol (Klau dkk., 2021). pada hasil uji tersebut tidak tercium bau ester, maka ekstrak positif bebas etanol.

Hasil Uji antioksidan ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi termasuk dalam antioksidan yang kuat dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.)

| Sampel | Rata-rata IC ₅₀ | Keterangan |
|-----------------------|----------------------------|-------------|
| Vitamin C | 4,44 ppm | Sangat kuat |
| Ekstrak Terpurifikasi | 53,79 ppm | kuat |

Sumber: Data Diolah

Ekstrak etanol terpurifikasi Daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC₅₀ yaitu 53,796 ppm. Sedangkan vitamin c .) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat dengan nilai IC₅₀ yaitu 4,441 ppm.

Metode pengujian aktivitas pengkapan radikal bebas dapat dilakukan secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Uji kuantitatif dapat dilakukan dengan penambahan DPPH sebagai pereaksi. Pada metode DPPH, antioksidan bereaksi dengan larutan DPPH sehingga dihasilkan DPPH tereduksi yang ditandai dengan perubahan warna. Nilai antioksidan

ditentukan dengan menggunakan IC₅₀ (inhibitor concentration 50 %) dengan cara pengukuran absorbansi blanko, sampel dan standart pembanding. Pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh adalah 516 nm dan absorbansi blanko yang diperoleh 0,598. Panjang gelombang maksimum DPPH yang akan digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan dan absorbansi blanko ditentukan untuk perhitungan IC₅₀. DPPH dapat memberikan serapan maksimum pada gelombang 515-520. Metode uji menggunakan DPPH ini didasarkan pada penurunan absorbansi akibat perubahan warna larutan DPPH, dimana DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk DPPH-Hidrazin yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Molyneux, 2004). Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin muda dan akan membentuk warna kuning (Purwaningsih, 2012).

Pada penelitian ini menggunakan sampel ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon dengan konsentrasi 25,50,75,100 dan 125 ppm yang diperoleh hasil IC₅₀ 53,796 ppm. Sedangkan untuk standart pembanding vitamin C dengan konsentrasi 2,3,4,5 dan 6 ppm diperoleh hasil 4,441 ppm. Vitamin C sebagai standart pembanding yang memiliki aktivitas antioksidan karena secara efektif dapat menangkap radikal bebas terutama ROS atau senyawa oksigen reaktif. Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif karena radikal bebas dapat merusak makromolekul lipid membran sel, DNA, dan protein (Kusbandari, 2017). Dalam penelitian ini aktivitas antioksidan pada ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon termasuk dalam golongan kuat karena IC₅₀ memiliki nilai diantara 50-100 ppm (Rumagit dkk., 2015). Sedangkan pada vitamin C sebagai pembanding atau kontrol positif termasuk dalam golongan sangat kuat karena memiliki nilai kurang dari 50 ppm. Uji Independent sample T-test adalah metode statistik yang digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan mean atau rerata antara dua kelompok bebas atau dua kelompok

yang tidak berpasangan dan tidak berhubungan dengan maksud bahwa kedua kelompok data berasal dari subjek yang berbeda.

Hasil yang diperoleh dari uji normalitas bertujuan untuk dapat mengetahui apakah data tersebut berdistribusi normal atau tidak. Untuk menguji normalitas data dapat menggunakan uji *Kolmogorov-Sminov* dan uji *Shapiro Wilk* dengan ketentuan $\text{sig} > 0,005$. Pada penelitian ini data yang dihasilkan adalah $\text{sig} 0,114$ untuk ekstrak terpurifikasi dan $\text{sig} 0,073$ untuk Vitamin C yang menunjukkan data berdistribusi normal karena semua sampel telah memnuhi signifikasinya yaitu $\text{sig} > 0,05$. Kemudian dilakukam uji homogenitas untuk menguji apakah data tersebut homogen atau tidak dengan ketentuan $\text{sig} > 0,005$. Data yang dihasilkan yaitu $\text{sig} 0,302$ maka data tersebut homogen. Sehingga dilanjutkan uji independent sample T-test dengan hasil pada ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon menunjukkan nilai $\text{sig} 0,000$ yaitu menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan karena nilai signifikasi $< 0,05$.

SIMPULAN

Pada penelitian mengenai Uji Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak terpurifikasi daun jeruk lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) dengan proses terpurifikasi menggunakan pelarut cair – cair, yaitu etanol dan N- Heksana dan mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid yang berpotensi sebagai antioksidan. Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus x limon* (L.) Osbeck.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} yaitu 53,796 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, S., Yusran, M., Trisakti, A., Ibrahim, N., Khumaidi, A., & Sulaiman Zubair, M. (2013). Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Kayu Sanrego (Lunasia Amara Blanco). *Online Jurnal Of Natural Science*, 2(3), 1–8.
- Djoko, W., Taurhesia, S., Djamil, R., & Simanjuntak, P. Dkk. (2020). Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella Asiatica*). *Sainstech Farma*, 13(2), 118–123.
- Harahap, I. S., Halimatussakdiah, H., & Amna, U. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Lemon (*Citrus Limon L.*) Dari Kota Langsa, Aceh. *Quimica: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 3(1), 19–23. <https://doi.org/10.33059/jq.v3i1.3492>.
- Hasibuan, A. S., & Edrianto, V. (2021). Sosialiasi Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium Cepa L.*). *Jurnal Pengmas Kestra (Jpk)*, 1(1), 80–84. <https://doi.org/10.35451/jpk.v1i1.732>.
- Hindun, S., Rusdiana, T., Abdasah, M., & Hindritiani, R. (2017). Potensi Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Auronfolia*) Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology*, 4(2), 64-72. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.12642>.
- Jabbar, A., Yusuf, M. I., Irman, I., & Yuli, A. (2018). Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Purifikasi Daun Galing (*Cayratia Trifolia L. Domin*) Terhadap Jamur *Candida Albicans*. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 6–8. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4619>.
- Khumaira Sari, A., & Ayati, R. (2018). Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C*) Dengan Metode Dpph(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) (Antioxidant Activity Determination Of Ethanol Extract Of Kaffir Lime Leaves (*Citrus Hystrix D.C*) With Dpph Method (1,1-). *Journal Of Current Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 69–74.

- Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal (Cmj)*, 9(1), 102–111. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4942>.
- Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Daun Jeruk Lemon (*Citrus Limon* (L.) Burm.F.). *Klorofil*, 2(1), 7–13.
- Mindawarnis, & Artika, L. (2021). Perbandingan Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale* L.) Dengan Kepolaran Pelarut Yang Berbeda. *Jurnal Kesehatan Pharmasi (Jkpharm)*, 3(1), 63–69.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2017). Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 241–245. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.268>
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella Doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141–150. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30904>.
- Paat, S. F. A., Fatmawati & Antasionasti, I. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Lemon Suanggi (*Citrus Lemon* L.) Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl, *11*), 1315–1320.
- Permata, A. N., Kurniawati, A., & Lukiati, B. (2018). Screening Fitokimia, Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Pada Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon*) Dan Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 64–76.
- Rahmaniati M, A., Ulfah, M., & Mulangsari, D. A. K. (2018). Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella Asiatica* L.) Di Dua Tempat Tumbuh. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2128>.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., & Djunaedi, A. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium Telescopium*) Dengan Pelarut Yang Berbeda Terhadap Metode Dpph (Diphenyl Picril Hidrazil) Ulfah Rahmayani*). *Journal Of Marine Research*, 2(4), 36–45.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal Of Pharmaceutical And Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus Limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>.