



Antioxidant activity of citrus leaf ethanol extract (*Citrus nobilis* L.) using the DPPH method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)

Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)

Nurul Hasanah¹, Rafita Yuniarti^{1*}, Haris Munandar Nasution¹, Yayuk Putri Rahayu¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*e-mail author: rapitayuniarti@gmail.com

ABSTRACT

When the body is excessively exposed to free radicals, the need for antioxidants increases as the body lacks sufficient protection. Some secondary metabolites in plants that can act as antioxidants include flavonoids, alkaloids, and tannins. This research aims to identify secondary metabolite compounds present in the raw material and extract of *Citrus nobilis* L. (kuok orange) leaves and evaluate antioxidant activity by determining IC₅₀ values. This study employs several methods, including analyzing crude characteristics, phytochemical screening, and antioxidant activity testing using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with spectrophotometry UV-Visible. The characterization results of the natural material indicate a water content of 6.66%, a water-soluble compound content of 19.64%, an ethanol-soluble compound content of 24.67%, a total ash content of 4.44%, and an acid-insoluble ash content of 0.66%. These findings align with values documented in the existing literature on MMI. Phytochemical screening results reveal that the crude material and ethanol extract of *Citrus nobilis* L. (kuok orange) leaves contain various chemical compounds, including alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, glycosides, and steroids. The IC₅₀ value for the ethanol extract of *Citrus nobilis* L. leaves is approximately 40.4587 g/mL, categorizing it as very strong. This indicates that the ethanol extract of Kuok orange leaves possesses secondary metabolite compounds with a highly potent antioxidant capability.

Keywords: Antioxidants; DPPH; Kuok lime leaves; UV-Vis Spectrophotometry; IC value₅₀.

ABSTRAK

Ketika tubuh mengalami paparan berlebihan terhadap radikal bebas, kebutuhan akan antioksidan meningkat karena tubuh tidak memiliki perlindungan yang memadai. beberapa jenis senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang dapat berperan sebagai antioksidan meliputi flavonoid, alkaloid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam bahan mentah dan ekstrak dari daun jeruk kuok, serta untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan melalui penentuan nilai IC₅₀.

Penelitian ini menggunakan serangkaian metode, termasuk analisis karakteristik simplisia, skrining fitokimia, dan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil karakterisasi simplisia menunjukkan bahwa kadar air sebesar 6,66%, kandungan senyawa yang larut dalam air sebesar 19,64%, senyawa yang larut dalam etanol sebesar 24,67%, total kandungan abu sebesar 4,44%, dan kandungan abu yang tidak larut dalam asam sebesar 0,66%. Hasil ini sesuai dengan nilai-nilai yang tercatat dalam literatur yang ada di MMI. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa baik simplisia maupun ekstrak etanol dari daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.) mengandung berbagai jenis senyawa kimia, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid. Nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol dari daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.) adalah sekitar 40.4587 µg/mL, yang masuk dalam kategori sangat kuat. Fakta ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol dari daun jeruk kuok memiliki senyawa metabolit sekunder yang memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: Antioksidan; DPPH; Daun Jeruk Kuok; Spektrofotometri UV-Vis; IC₅₀..

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu produk buah unggulan di Provinsi Riau bersama dengan pisang, durian, mangga dan rambutan. Desa Kuok merupakan salah satu desa penghasil jeruk terbesar dibandingkan dengan desa lainnya di wilayah Kuok, luas areal jeruk desa Kuok adalah 90,25 hektar. Oleh karena itu, dapat dikatakan budidaya jeruk siam di desa Kuok memiliki prospek yang sangat baik mengingat luasnya lahan dan produksi jeruk siam di desa Kuok (Hasudungan *et al.*, 2020).

Jeruk siam disebut juga jeruk kuok karena tumbuh di desa kuok. Jeruk merupakan tambahan yang paling penting untuk menu makanan harian keluarga karena jeruk memiliki kandungan vitamin C yang tinggi. Vitamin C memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia seperti menurunkan tekanan darah tinggi, menobati sariawan, mencegah penyakit kanker, memperbaiki kerusakan kulit, dll (Riastana *et al.*, 2019). Sebagai sumber vitamin C, buah jeruk bertindak sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas akibat dari oksidasi lemak, sehingga dapat membantu mencegah suatu penyakit. Jeruk mengandung senyawa senyawa fenolik antara lain flavonoid, flavanon glikosida dan asam hidroksisinamat serta karotenoid yang berperan sebagai antioksidan (Ramadhani *et al.*, 2020).

Penelitian terdahulu mengenai jeruk kuok pada penelitian sari yang menganalisis antioksidan, total asam, total padatan terlarut dan viskositas pada minuman sirup jeruk kuok, dimana hasil penelitian yang diperoleh dari uji

minuman sirup jeruk kuok adalah didapatkan kandungan antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 18.542 mg/L dengan kategori sangat kuat, total asam dari pengujian sebesar 0.54 % , total padatan terlarut yang dihasilkan sebesar 11.09°Brix serta viskositasnya 7.121 Cp (Sari *et al.*, 2023). Selain sebagai antioksidan jeruk siam juga berpotensi sebagai antibakteri, berdasarkan penelitian Wirawan *et al.*, (2018) minyak atsiri kulit jeruk siam diketahui memiliki efek penghambatan yang efektif terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 15 mm pada konsentrasi 75%.

Selain jeruk kuok, dikenal juga jeruk kasturi, menurut penelitian Meliyana & Ridwanto, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun jeruk kasturi yang diuji dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil), menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun jeruk kasturi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 131,29 µg/mL dalam kategori antioksidan sedang.

Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan diukur menggunakan teknik menghambat radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl). Metode ini memiliki keunggulan berupa penggunaan sampel yang minimal, prosedur yang sederhana, pelaksanaan yang mudah dan cepat, serta kemampuan sensitif dalam menguji efek antioksidan senyawa alami (Kaligis *et al.*, 2020). Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode DPPH.

Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti bermaksud untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanolik

daun Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* L.). Alasan pemilihan ekstrak etanol daun Jeruk Kuok karena belum ada yang menguji aktivitas antioksidan daun Jeruk Kuok sebelumnya hanya dilakukan pada kulit. Uji aktivitas antioksidan ini dilakukan pada ekstrak etanol daun Jeruk Kuok dengan menggunakan metode DPPH dan dengan alat spektrofotometer.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Januari 2023 hingga Mei 2023 di dilaboratorium Farmasi Terpadu UMN Al-Washliyah Medan.

Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya labu tentukur, tanur, oven, gelas ukur, kaca alroji, pipet ukur, pipet tetes, cawan penguap, pipet volume, bola hisap, batang pengaduk, *beaker glass*, corong, erlenmeyer, timbangan analitik, kuvet, spektrofotometer UV-Vis

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya daun jeruk kuok (kuok (*Citrus nobilis* L.), etanol 96%, *aquadest*, kloroform, HCl (P), logam magnesium, timbal (II) asetat, besi (III) klorida, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ (P), kloroform amoniak 0,05 N, metanol p.a, DPPH, Vitamin C.

Sample

Sampel daun jeruk kuok di ambil di Desa Kuok, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau.

Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Jeruk Kuok

Sebanyak 6 kg daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.), dicuci dengan air mengalir, kemudian ditimbang berat basahanya, kemudian dikeringkan di bawah lampu. Kemudian haluskan dengan blender dan simpan dalam wadah kering, jauhkan dari sinar matahari.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kuok

Ekstraksi dari serbuk simplisia daun jeruk kuok dilakukan melalui metode meserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pertama, masukkan 500 g (setara dengan 10 bagian) serbuk simplisia ke dalam wadah, lalu tuangkan 3750 ml (setara dengan 75 bagian) etanol. Tutup wadah tersebut dan biarkan selama 5 hari,

menjauhkannya dari paparan sinar matahari, sambil sesekali diaduk. Setelah periode 5 hari berlalu, campuran tersebut diaduk kembali dan kemudian disaring untuk memisahkan ampasnya. Ampas tersebut dicuci dengan etanol hingga diperoleh 5000 ml (setara dengan 100 bagian). Selanjutnya, larutan hasil pencucian dipindahkan ke dalam wadah kedap udara dan dibiarkan selama 2 hari di tempat yang sejuk dan gelap. Setelah itu, larutan tersebut disaring atau dienap untuk menghilangkan partikel-partikel kasar. Maserat yang dihasilkan kemudian dikonsentrasikan menggunakan alat rotary evaporator hingga tersisa bahan ekstrak yang lebih pekat. Akhirnya, bahan ekstrak tersebut ditimbang untuk mendapatkan jumlah yang tepat (Depkes RI, 1979).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jeruk kuok. Uji yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid/triterpenoid.

Karakteristik Simplisia

Pada sampel serbuk simplisia daun jeruk kuok, dilakukan analisis yang mencakup pengujian secara visual, pengamatan di bawah mikroskop, penentuan kadar air, kandungan zat yang larut dalam air, kandungan zat yang larut dalam etanol, jumlah abu secara keseluruhan, dan jumlah abu yang tidak larut dalam asam.

Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

Timbang DPPH seberat 25 mg, larutkan menggunakan metanol analisis, dan selanjutnya masukkan larutan ke dalam labu ukur berukuran 25 mL. Tambahkan metanol secara perlahan hingga mencapai batas tandanya (kini memiliki konsentrasi 1000 µg/mL). Setelah itu, pipet 5 mL larutan DPPH dan tuang ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian lengkapi volume dengan metanol hingga mencapai tanda batas (konsentrasi menjadi 200 µg/mL) (Molyneux, 2004).

Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

Timbang baku vitamin C sebanyak 50 mg, masukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian encerkan sedikit demi sedikit dengan metanol hingga larut dan tambahkan metanol sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Daun Jeruk Kuok

Timbang 25 mg ekstrak daun jeruk kuok, masukkan kedalam labu tentukur 25 mL dilarutkan dengan metanol lalu dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Blanko

Pipet 2 mL larutan DPPH (200 µg/mL), pindahkan kedalam labu ukur 10 mL, tambahkan metanol sampai tanda batas (konsentrasi 40 µg/mL)

Penetapan λMax DPPH

Ambil 2 mL dari larutan DPPH dengan konsentrasi 200 µg/mL menggunakan pipet, lalu alirkan ke dalam labu ukur berukuran 10 mL. Tambahkan metanol secara perlahan sampai labu terisi penuh (sekarang memiliki konsentrasi 40 µg/mL). Selanjutnya, lakukan pengukuran absorbansi pada rentang 400-800 nm untuk menemukan panjang gelombang maksimum dari DPPH.

Pengukuran Operating Time DPPH

Ambil 2 mL dari larutan DPPH dengan konsentrasi 200 µg/mL dan transfer ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Tambahkan metanol ke dalam labu hingga mencapai garis tanda batas, sehingga terbentuk larutan dengan konsentrasi 40 µg/mL. Setelah itu, gunakan alat spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Lakukan pengukuran absorbansi selama 60 menit, dimulai dari menit pertama hingga mencapai kondisi absorbansi yang stabil. Waktu pengukuran ini dianggap sebagai periode yang baik untuk menjalankan pengukuran, karena kondisi absorbansi yang stabil mencerminkan hasil yang akurat dan konsisten.

Pengukuran Absorbansi DPPH dan Vitamin C

Ambil 10 mL dari larutan vitamin C dan alirkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50 mL. Tambahkan metanol hingga mencapai garis tanda batas agar terbentuk larutan vitamin C dengan konsentrasi 200 µg/mL. Larutan ini akan digunakan untuk mengukur absorbansi. Untuk setiap labu, ambil masing-masing 0,05mL, 0,1mL, 0,15mL, 0,2mL, dan 0,25 mL dari larutan vitamin C yang telah disiapkan sebelumnya. Kemudian

transfer volume ini ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Tambahkan 2 mL dari larutan DPPH yang memiliki konsentrasi 200 µg/mL ke dalam setiap labu. Lengkapilah volume hingga mencapai garis tanda batas dengan metanol. Biarkan campuran reaksi mengendap selama beberapa menit, sesuai dengan waktu yang diperlukan untuk mencapai kondisi stabil. Setelah mencapai kondisi stabil, ukur nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang terdeteksi.

Pengukuran Absorbansi DPPH dan Ekstrak Daun Jeruk Kuok

Ambil masing-masing 0,1mL, 0,2mL, 0,3mL, 0,4mL, dan 0,5mL dari ekstrak etanol dan transfer ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Tambahkan 2 mL dari larutan DPPH yang memiliki konsentrasi 200 µg/mL ke dalam setiap labu ukur. Selanjutnya, lengkapi volume hingga mencapai garis tanda batas dengan metanol. Biarkan campuran reaksi mengendap selama beberapa menit, bergantung pada waktu yang diperlukan untuk mencapai kondisi stabil. Pada saat kondisi stabil tercapai, ukur nilai absorbansi pada panjang gelombang yang menghasilkan absorbansi maksimum. Ulangi langkah-langkah ini sebanyak 3 kali untuk mengumpulkan data absorbansi dari campuran DPPH dan ekstrak daun jeruk kuok daun dengan variasi konsentrasi yang berbeda.

Penentuan IC₅₀

Angka IC₅₀ mewakili nilai konsentrasi sampel uji yang dapat mengurangi aktivitas radikal bebas DPPH sekitar 50%. Jika aktivitas antioksidan mencapai 0%, ini menunjukkan bahwa sampel tidak memiliki kemampuan antioksidan, sementara aktivitas antioksidan sebesar 100% mengindikasikan kemampuan untuk sepenuhnya meredam radikal bebas, dan pada tahap berikutnya, larutan uji perlu diencerkan untuk menentukan ambang batas konsentrasi aktifnya. Hasil perhitungan ini dimasukkan ke dalam persamaan regresi, dengan konsentrasi perendaman (µg/ml) sebagai sumbu X dan persentase pengurangan sebagai sumbu Y.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil identifikasi yang dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara mengindikasikan bahwa tanaman

yang dianalisis dalam penelitian ini adalah varietas jeruk Kuok (*Citrus nobilis* L.) yang termasuk dalam keluarga Rutaceae. Proses identifikasi ini bertujuan untuk memastikan ketepatan penggunaan tanaman tersebut sebagai sampel uji dalam penelitian.

Pemeriksaan awal terhadap serbuk simplisia dan ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok menghasilkan hasil yang positif dalam mendeteksi sejumlah senyawa kimia, seperti yang dicatat dalam Tabel 1. Hasil uji alkaloid menunjukkan adanya endapan pada pengujian, adanya kelompok alkaloid diindikasikan jika dua atau lebih pereaksi positif membentuk endapan, yang dianggap mengandung alkaloid. Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif terbentuknya warna jingga dan merah pada lapisan amil alkohol. Pengujian glikosida menunjukkan reaksi positif dengan ditandai terbentuknya cincin ungu ketika dilakukan pengujian. Uji steroid/triterpenoid menunjukkan reaksi positif dengan warna hijau yang menandakan positif steroid. (Lubis *et al.*, 2023).

Hasil uji karakteristik dari serbuk simplisia daun jeruk kuok didapatkan hasil pemeriksaan karakteristik simplisia dengan semua parameter yang di hasilkan menunjukkan bahwa simplisia daun jeruk kuok memenuhi persyaratan MMI yang dapat terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2 memperlihatkan bahwa simplisia daun Jeruk Kuok memiliki kadar air 6,66% < 10%. Tujuan Penentuan kadar air untuk menghindari pertumbuhan jamur yang dapat menghasilkan senyawa alfatoksin yang berbahaya bagi kesehatan yang dapat menyebabkan keracunan. Penentuan kadar sari larut air sebesar 27,53% dan penentuan kadar sari larut etanol sebesar 13,4%, hasil penentuan kadar sari larut air lebih banyak dibandingkan dengan sari larut etanol, artinya bahwa simplisia yang digunakan banyak mengandung senyawa polar. Tujuan dari penetapan kandungan sari larut dalam air dan etanol adalah untuk memperoleh informasi mengenai jumlah sari yang dapat larut secara efisien baik dalam air maupun etanol (Depkes RI, 1995).

Selain itu, penentuan kadar abu total 6,44%, penentuan kadar abu total bertujuan untuk melihat besarnya kandungan senyawa anorganik yang ada dalam simplisia, misalnya magesium, kalium, kalsium, natrium. Selain itu, untuk penentuan kadar abu tak larut asam hasilnya 0,78%, pengujian ini dimaksudkan untuk melihat besarnya senyawa anorganik yang tidak dapat larut dalam asam seperti silika (World Health Organization, 1998)

Tabel 1. Hasil Skrining Simplisia Ekstrak Daun Jeruk Kuok

No	Parameter	Hasil Simplisia Daun Jeruk Kuok	Hasil Ekstrak Daun Jeruk Kuok
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Tanin	+	+
5	Glikosida Steroid	+	+
6	Steroid	+	+

Keterangan :

(+) Positif : Mengandung golongan senyawa

(-) Negatif : Tidak mengandung golongan senyawa

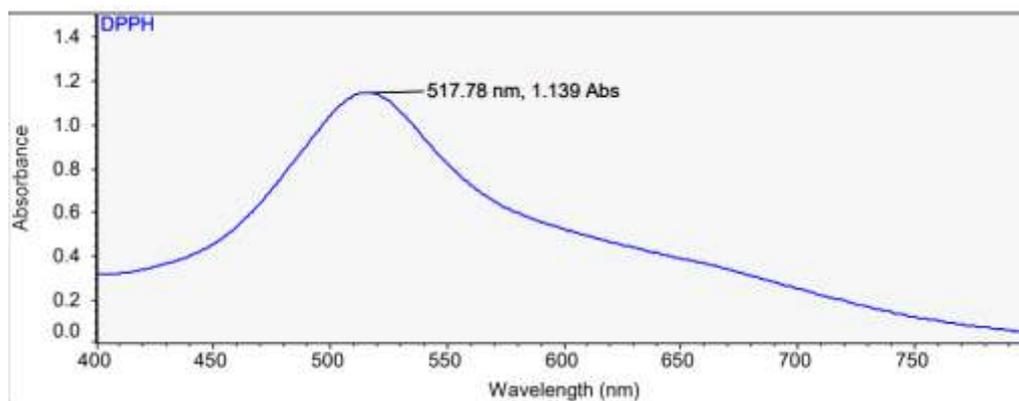
Tabel 2. Hasil Karakteristik Simplisia Daun Jeruk Kuok

No	Parameter	Hasil Karakteristik (%)	MMI Edisi 5
1	Kadar air	4,67 %	< 10%
2	Kadar sari larut air	27,53%	>5%
3	Kadar sari larut etanol	13,44%	>4%
4	Kadar abu total	6,44%	<9%
5	Kadar abu tidak larut dalam asam	0,78%	<1%

Keterangan :

< = Tidak lebih dari

> = Tidak kurang dari



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum DPPH 40 µg/mL

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu violet dengan absorbansi maksimum berkisar antara 515-520 nm dengan pelarut metanol (Rohmaniyah, 2016). Larutan DPPH 40 µg/mL yang diinkubasi di tempat gelap selama 43 menit pada suhu 37°C diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 517,78 nm. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Gambar 1.

Penentuan waktu kerja dimaksudkan untuk menentukan waktu yang tepat yang dibutuhkan radikal DPPH untuk mendapatkan waktu aktif dalam larutan stabil. Hasil penentuan waktu kerja yang stabil larutan DPPH 40 µg/mL dalam 60 menit stabil dari 43 sampai 46 menit. Oleh karena itu, menit-menit ini adalah waktu kerja yang baik untuk mengukur sampel pada konsentrasi yang berbeda.

Radikal bebas DPPH memiliki kapabilitas untuk merebut atom hidrogen dari komponen aktif dalam ekstrak campuran, lalu menjalani reaksi yang mengubahnya menjadi bentuk tereduksi.

Cara kerja mekanisme DPPH melibatkan senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas DPPH melalui reaksi penangkapan atom hidrogen. Reaksi ini melibatkan senyawa antioksidan yang menyerap atom hidrogen dari radikal bebas, menyebabkan terbentuknya pasangan elektron baru dan mengubah struktur radikal DPPH menjadi senyawa 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH-H). Interaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH melibatkan perpindahan elektron, yang mengakibatkan perubahan warna dari bentuk awal radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk DPPH yang bukan radikal dan berwarna kuning (Rosahdi, 2010).

Larutan DPPH mengalami perubahan warna setelah ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok dan Vitamin C ditambahkan, mengubah warna ungu menjadi nuansa ungu muda atau kuning muda. Perubahan warna ini mengindikasikan kemampuan untuk meredam aktivitas radikal DPPH serta mengurangi

absorbansi DPPH. Perubahan warna terjadi karena radikal elektron akseptor dari senyawa metabolit sekunder dalam sampel bergabung dengan DPPH, menghasilkan senyawa DPPH-H yang tidak memiliki karakter radikal. Fenomena ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin efektif kemampuan sampel uji dalam menangkap radikal bebas. Faktor ini terjadi karena jumlah atom hidrogen yang disumbangkan oleh sampel uji pada molekul DPPH meningkat (Rahayu, 2010). Hasil penentuan % peredaman dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel uji maka semakin tinggi persen peredaman yang dihasilkan. Persentase peredaman dari vitamin C lebih besar daripada persentase peredaman pada ekstrak etanol daun jeruk kuok. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena Vitamin C merupakan antioksidan yang baik, sehingga sering digunakan sebagai kontrol positif dalam uji coba antioksidan. Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air yang dibutuhkan oleh tubuh. Vitamin C berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah efek negatif radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya.

Indikator yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan adalah IC₅₀. IC₅₀ mewakili konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi aktivitas radikal DPPH sekitar 50%. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan melalui persamaan regresi linier mencerminkan korelasi antara konsentrasi ekstrak yang diuji (sumbu x) dengan tingkat pengurangan (sumbu y). Semakin rendah nilai IC₅₀, semakin efektif ekstrak dalam menetralkan radikal bebas DPPH. Dalam Tabel 4, hasil evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok dan vitamin C disajikan, serta perbandingan intensitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀.

Tabel 4 mengungkapkan bahwa vitamin C menunjukkan nilai antioksidan yang lebih tinggi daripada ekstrak. Ini sesuai dengan fakta bahwa vitamin C merupakan senyawa murni hasil isolasi dengan kekuatan antioksidan yang sangat kuat, sedangkan ekstrak terdiri dari campuran senyawa yang memiliki beragam manfaat. Meskipun demikian, ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok juga memperlihatkan kekuatan antioksidan yang termasuk dalam kategori sangat kuat

Tabel 3. Hasil Penentuan % Peredaman Berbagai Konsentrasi

Sampel	% Peredaman				
	10 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL
Ekstrak Etanol	20,37 %	Ekstrak Etanol	20,37 %	Ekstrak Etanol	20,37 %
Vitamin C	% Peredaman				
	1 µg/mL	2 µg/mL	1 µg/mL	4 µg/mL	1 µg/mL
Vitamin C	22,16 %	Vitamin C	22,16 %	Vitamin C	22,16 %

Tabel 4. Hasil Perbandingan Kekuatan Antioksidan yang didapat

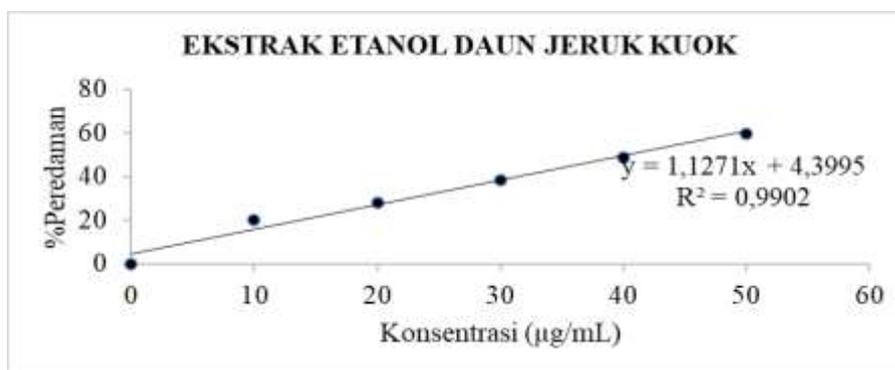
Sampel	IC ₅₀	Kategori Kekuatan Antioksidan
Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kuok	40,458 µg/mL	Sangat Kuat
Vitamin C	3,769 µg/mL	Sangat Kuat

Senyawa yang termasuk dalam kelompok antioksidan alami adalah senyawa fenolik yang

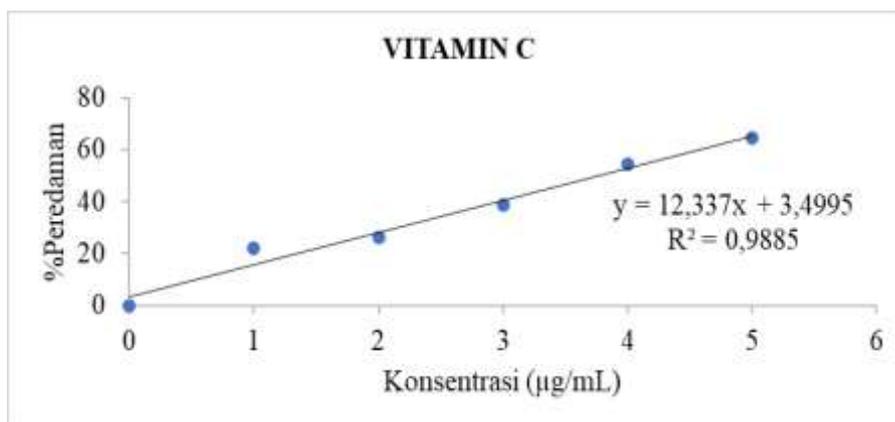
disebut flavonoid, yang meliputi berbagai jenis seperti flavanon, flavon, isoflavon, flavonol,

catekin, dan kalkon (Kumalaningsih, 2006). Salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang memiliki peran sebagai agen antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid merupakan jenis antioksidan eksternal yang mengandung gugus fenolik, dan telah terbukti efektif dalam mencegah kerusakan sel yang diakibatkan oleh stres oksidatif. Senyawa flavonoid ini berfungsi sebagai penangkap radikal bebas karena gugus hidroksil yang ada pada struktur flavonoid dapat memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa-senyawa ini memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dengan melepaskan pasangan elektronnya ke radikal bebas, sehingga

atom yang sebelumnya memiliki elektron yang tidak berpasangan menjadi stabil (Cut Erika Mauldyda *et al.*, 2023). Selain flavonoid, tanin juga memiliki efek antioksidan, pada senyawa tanin yang mengandung gugus OH dapat diberikan kepada radikal bebas dari atom hidrogennya, sehingga senyawa dari radikal tersebut berubah menjadi senyawa tidak radikal (DPPH-H). Alkaloid juga memiliki khasiat antioksidan karena strukturnya mengandung atom nitrogen, yang pasangan elektron bebasnya dapat meredam/mengurangi aktivitas radikal bebas dalam tubuh.



Gambar 2. Grafik % Peredaman Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* L.)



Gambar 3. Grafik % Peredaman Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Kontrol Positif

KESIMPULAN

Hasil pengujian ciri-ciri simplisia daun jeruk kuok (*Citrus nobilis* L.) mencakup komposisi berikut: kadar air sebesar 4,67%, kandungan sari larut dalam air mencapai 27,53%, sari larut dalam

etanol sekitar 13,44%, abu total mencapai 6,44%, dan abu yang tidak larut dalam asam sekitar 0,78%. Simplisia yang digunakan memenuhi standar kualitas yang ditetapkan oleh MMI. Pada uji penyaringan, baik simplisia maupun ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok menunjukkan adanya

kandungan positif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid. Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dari daun Jeruk Kuok menunjukkan nilai IC50 sebesar 40,458 µg/mL, yang menunjukkan bahwa ekstrak ini memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Sebagai perbandingan, vitamin C memiliki kekuatan antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC50 sekitar 3,769 µg/mL.

REFERENSI

- Cut Erika Maulydya, Rafita Yuniarti, Gabena Indrayani Dalimunthe, & Haris Munandar Nasution. (2023). Analisis Aktivitas Antioksidan Teh Daun Jamblang (*Syzygium Cumini* (L.) Skeels) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Farmasainkes: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 2(2), 189–200.
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi 3* (3rd ed.). Departemen Kesehatan RI.
- Hasudungan, A., Tety, E., & Eliza. (2020). Analisis Pemasaran Jeruk Siam (*Citrus nobillis* L) di Desa Kuok Kecamatan Kuok Kabupaten Kampar. *Indonesian Journal of Agricultural Economics (IJAE)*, 11(1). <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Kaligis, A. Y., Yudistira, A., & Rotinsulu, H. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Alga *Halimeda opuntia* Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). 9(1), 3.
- Kumalaningsih, S. (2006). *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber Manfaat, Cara Penyediaan, dan Pengolahan*. Trubus Agrisarana.
- Meliyana, & Ridwanto. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) Di Daerah Labuhanbatu, Sumatera Utara Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). 1, 100–109.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydroxyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Rahayu, D. S., K. Dewi, dan F.-E. (2010). Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catapya* L.) dengan metode 1,1 difenil 2 pikrilhidrazil (DPPH). Semarang. *Skripsi Universitas Diponegoro*.
- Ramadhani, N., Samudra, A. G., & Pratiwi, L. W. I. (2020). Analisis penetapan kadar flavonoid sari jeruk kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *Mandala Pharmacoon Indonesia*, 53–58.
- Riastana, I. K., Komang Alit Astiari, N., & Putu Anom Sulistiawati, N. (2019). Kualitas Buah Jeruk Siam (*Citrus nobillis* var *microcarva* L) Selama Penyimpanan pada Berbagai Tingkat Kematangan Buah. *Gema Agro*, 24(1), 22–28.
- Rohmaniyah, M. (2016). Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumput Bambu (*Lophatum gracile brongn*) Menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Kimia*.1(13).
- Rosahdi, T. D., Kusmiyati, M. W. (2010). Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH. *Jurnal ISTEK*, 7(1), 1979–8911.
- Sari, D., Zurmansyah, E., Hamdi, & Kristiandi, K. (2023). Analisis Antioksidan, Total Asam, Total Padatan Terlarut Dan Viskositas Pada Minuman Sirop Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Journal of Food Security and Agroindustry*, 1(1), 12–17. <https://doi.org/10.58184/jfsa.v1i1.15>
- World Health Organization. (1998). *Quality Control Methods for Medical Plant Materials*. Switzerland: WHO Press
- Wirawan, R., Wibowo, M. A., Mahyarudin, & Rahmayanti, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis Lour* . var . *macrocarpa*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN Program Studi Biologi, FMIPA UNTAN Department Mikrobiologi , P. *Jurnal Cerebellum*, 4 (2), 1025–1036.