

**UJI ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI DARI
KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D. C)**

**Skripsi
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Nur Maulida Fitriyana

33101700045

PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2022

SKRIPSI
UJI ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI DARI
KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D. C)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Nur Maulida Fitriyana

33101700045

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 12 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

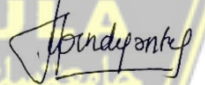
Anggota Tim Penguji


Apt. Fadzil Latifah, M.Farm.


Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm.

Pembimbing II


Apt. Hudan Taufiq, M.Sc.


Windi Susmayanti, M.Sc.

Semarang, 12 Agustus 2022
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,




Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang Bertanda Tangan di bawah Ini:

Nama : Nur Maulida Fitriyana

NIM : 33101700045

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“UJI ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI DARI
KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D. C)”**

Adalah benar karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil sebagian atau seluruh hasil karya tulis ilmiah orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari saya terbukti melakukan tindakan plagiat tersebut maka saya siap menerima sanksi apapun termasuk pencabutan gelar sarjana yang telah diberikan.

Semarang, 8 Agustus 2022

Yang Menyatakan,



Nur Maulida Fitriyana

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Maulida Fitriyana

NIM : 33101700045

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat : Desa Bakalan Rt 02 / Rw 01, Kecamatan Kalinyamatan,
Kabupaten Jepara Jawa Tengah.

No Hp/Email : 085201430757/ nurmaulida.fitri@gmail.com

Dengan ini menyatakan karya ilmiah skripsi yang berjudul:

**“UJI ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI DARI
KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D. C)”**

Menyetujuinya menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta memberikan hak bebas royalti non-eksklusif untuk disimpan, dialihmediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap menyantumkan nama penulis sebagai hak cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 8 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Nur Maulida Fitriyana

PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan judul **“UJI ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI DARI KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D. C)”** untuk memenuhi syarat menempuh Program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sholawat dan salam tetap turunkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya.

Dalam penyusunan skripsi ini tentunya dapat terlaksana sampai selesai tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc., selaku Kepala Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu Apt. Fadzil Latifah, M.Farm., selaku dosen pembimbing I dan Bapak Apt. Hudan Taufiq, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang telah sabar membimbing, memberikan motivasi, semangat dan arahan dalam proses jalannya skripsi ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

4. Ibu Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm., dan Ibu Windi Susmayanti, M.Sc., selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik serta saran agar skripsi ini menjadi lebih baik.
5. Kedua orang tua saya tercinta, Alm. Bapak Syafiq dan Ibu Siti Nur Nihayah yang selalu memberikan dukungan, mendoakan dan melakukan yang terbaik bagi penulis.
6. Muhammad Fariz Amna, Elhana Fikriya dan Muhammad Khirza Aufar sebagai kakak dan adek yang selalu mendoakan, memberikan semangat, dukungan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.
7. Bagian Laboratorium Farmasi FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia Yogyakarta, dan CEOS Universitas Islam Indonesia Yogyakarta yang tulus ikhlas mendukung dan membantu penulis selama penyusunan skripsi ini.
8. Naila Zulfa Nur, Dwi Yuli Indriani dan Inneke Candra Nila Dewi, Fatika Anindita Putri sebagai sahabat penulis yang tulus ikhlas berjuang bersama, mendukung dan membantu penulis dengan sabar dalam menyelesaikan skripsi.
9. Nurita Indriani, Lina Anindita Putri Priyambodo, Galih Setio Prayogo sebagai teman satu proyek yang sudah mendukung, berjuang bersama dan membantu penulis dengan sabar dalam menyelesaikan skripsi.

10. Asisten Teknologi Farmasi Angkatan 2017 yang tulus ikhlas membantu, mendukung, mendoakan dan memberikan semangat dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
11. Keluarga Besar “Sedativa 2017” yang sudah mendukung, berjuang bersama dan membantu dalam menyelesaikan skripsi.
12. Serta pihak – pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuannya dalam penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 19 Mei 2022

Penulis



Nur Maulida Fitriyana

DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

°	: Derajat
°C	: Derajat Celcius
µm	: Mikrometer
ABTS	: <i>2,2'-Azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt</i>
atm	: Atmosfer
BHA	: <i>Butyl Hidroksi Anisol</i>
BHT	: <i>Butyl Hidroksi Toluen</i>
CI	: <i>Chemical ionization</i>
cm/sec	: <i>Centimeter per second</i> atau sentimeter per detik
Covid 19	: <i>Corona Virus Disease-2019</i>
CUPRAC	: <i>Cupric ion reducing antioxidant capacity</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-Pikrilhidrazil</i>
EI	: <i>Electron impact ionization</i>
FRAP	: <i>ferric reducing antioxidant power</i>
g	: gram
g/ml	: gram per mililiter
GCMS	: <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
H	: Hidrogen

HCl	: <i>Hydrogen Chloride</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration Of 50%</i>
kg	: kilogram
KOH	: Kalium hidroksida
kPa	: Kilopascal
Kv	: Kilo volt
M	: Molaritas
mg	: milligram
MH	: Monoterpen hidrokarbon
ml	: mililiter
ml/min	: mililiter per menit
mm	: milimeter
MO	: Monoterpene Oksigenasi
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
N	: Normalitas
nm	: nanometer
PG	: Propil Galat
pH	: <i>Potential hydrogen</i>
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
RI	: Republik Indonesia
Sec	: <i>Second</i> atau detik
SNI	: Standar Nasional Indonesia

TAT : Titik Akhir Titrasi

USD : *United Stated Dollar*

UV-Vis : *Ultra Violet Visibel*

Vern. Name : *Vernacular Name* atau nama daerah

WIB : Waktu Indonesia Barat



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL.....	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
INTISARI.....	xix
BAB I 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	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C)	6
2.1.1. Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2. Morfologi Jeruk Purut.....	7
2.1.3. Kandungan Kimia Jeruk Purut.....	7
2.1.4. Manfaat Jeruk Purut.....	8
2.2. Minyak Atsiri.....	9
2.3. Penyulingan dengan air dan uap (<i>water and steam distillation</i>).....	9
2.4. Karakterisasi	11
2.4.1. Persen Rendemen dan Total Minyak	12
2.4.2. Kecerahan Atau Warna Minyak Atsiri.....	12
2.4.3. Berat Jenis	12
2.4.4. Indeks Bias.....	13
2.4.5. Rotasi Optik	13
2.4.6. Bilangan Asam.....	13
2.4.7. Kelarutan Alkohol.....	13
2.4.8. Bilangan ester.....	14
2.5. Karakterisasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	14
2.6. Analisis Komponen Minyak Atsiri	15
2.7. Radikal Bebas	18
2.8. Antioksidan.....	20
2.9. Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC	22

2.10. Hubungan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C) dengan Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan.....	24
2.11. Kerangka Teori	26
2.12. Kerangka Konsep.....	27
2.13. Hipotesis	27
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	28
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	28
3.2.1. Variabel.....	28
3.2.2. Definisi Operasional	28
3.3. Populasi dan Sampel.....	32
3.3.1. Populasi.....	32
3.3.2. Sampel.....	32
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	33
3.4.1. Instrumen.....	33
3.4.2. Bahan	33
3.5. Cara Penelitian.....	34
3.5.1. Determinasi Tanaman	34
3.5.2. Preparasi Sampel.....	34
3.5.3. Kadar Air Kulit Jeruk Purut Segar	34
3.5.4. Pembuatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	35
3.5.5. Uji Antioksidan dengan Metode CUPRAC	36

3.5.6. Karakterisasi.....	40
3.5.7. Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	45
3.6. Alur Penelitian	47
3.7. Tempat dan Waktu.....	48
3.7.1. Tempat	48
3.7.2. Waktu	48
3.8. Analisis Hasil	48
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	50
4.1. Hasil Penelitian.....	50
4.1.1. Determinasi Tanaman Jeruk Purut.....	50
4.1.2. Kadar Air Kulit Jeruk Purut.....	51
4.1.3. Hasil Uji Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut Metode CUPRAC.....	51
4.1.1. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Antioksidan.....	52
4.1.2. Hasil Persen Rendemen dan Organoleptis Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	53
4.1.3. Hasil Uji Berat Jenis	53
4.1.4. Hasil Uji Indeks Bias	54
4.1.5. Hasil Uji Rotasi Optik.....	54
4.1.6. Hasil Penentuan Bilangan Asam.....	54
4.1.7. Hasil Uji Kelarutan dalam Alkohol	54
4.1.8. Hasil Penentuan Bilangan Ester	55

4.1.9. Analisis Hasil Karakteristik Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut ...	55
4.1.10. Hasil Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut dengan GCMS.....	56
4.2. Pembahasan	60
4.2.1. Determinasi Tanaman Jeruk Purut.....	60
4.2.2. Penyulingan Minyak Atsiri dan Uji Kadar Air Simplisia.....	61
4.2.3. Hasil Uji Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut Metode CUPRAC.....	63
4.2.4. Karakterisasi.....	66
4.2.5. Hasil Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut dengan GCMS.....	74
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	76
5.1. Kesimpulan	76
5.2. Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN.....	84

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan Kimia Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	8
Tabel 2.2. Acuan Kualitas Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	15
Tabel 2.3. Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	18
Tabel 3.1. GC-MS tipe Shimadzu QP2010 SE	46
Tabel 3.2. Tempat Penelitian	48
Tabel 4.1. Waktu Inkubasi	52
Tabel 4.2. Hasil uji normalitas aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) dan trolox (<i>Shapiro-Wilk</i>)	52
Tabel 4.3. Hasil uji homogenitas aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C) dan trolox (<i>Levene Test</i>).....	52
Tabel 4.4. Uji non parametrik <i>Mann Withney</i>	53
Tabel 4.5. Hasil Persen Rendemen dan Organoleptis Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	53
Tabel 4.6. Berat Jenis Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	54
Tabel 4.7. Indeks Bias Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	54
Tabel 4.8. Analisis Hasil Karakteristik Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus</i> <i>hystrix</i> D. C)	55
Tabel 4.9. Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C).....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Buah dan Ranting Jeruk Purut	6
Gambar 2.2. Alat penyulingan dengan Air dan Uap	11
Gambar 2.3. Reaksi antara bis (neokuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron	23
Gambar 2.4. Kerangka Teori.....	26
Gambar 2.5. Kerangka Konsep	27
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	47
Gambar 4.1. Spektrum GCMS Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	57
Gambar 4.2. Struktur Tiga Senyawa Tertinggi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	58
Gambar 4.3. Spektrum Puncak Senyawa No. 4 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	58
Gambar 4.4. Database <i>Wiley</i> Senyawa Sabinene	58
Gambar 4.5. Spektrum Puncak Senyawa No. 5 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	59
Gambar 4.6. Database <i>Wiley</i> Senyawa β -pinene.....	59
Gambar 4.7. Spektrum Puncak Senyawa No. 10 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	60
Gambar 4.8. Database <i>Wiley</i> Senyawa Limonene	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	84
Lampiran 2. Hasil Kadar Air Kulit Jeruk Purut	85
Lampiran 3. Uji Antioksidan CUPRAC	86
Lampiran 4. Hasil Statistik Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut dan Trolox.....	94
Lampiran 5. Perhitungan Persen Rendemen dan Total Minyak	97
Lampiran 6. Perhitungan Uji Berat Jenis	98
Lampiran 7. Hasil Uji Indeks Bias dan Rotasi Optik.....	100
Lampiran 8. Perhitungan Penetapan Bilangan Asam.....	101
Lampiran 9. Kelarutan Dalam Alkohol.....	102
Lampiran 10. Perhitungan Penetapan Bilangan Ester.....	103
Lampiran 11. Hasil Analisis Komponen dengan GCMS.....	104

INTISARI

Minyak atsiri banyak digunakan sebagai bahan baku kosmetik, seperti minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai antioksidan. Berkembangnya pasar minyak atsiri menjadi faktor pendorong pemalsuan. Pemalsuan terjadi karena hasil produksi rendah, kesulitan dalam pengadaan bahan baku, dan tidak adanya standar kualitas minyak atsiri yang diproduksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dan karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai acuan standar kualitas.

Penelitian ini menggunakan rancangan observasional dengan desain *cross sectional*, menggunakan sampel minyak atsiri dari kulit buah jeruk purut yang disuling selama 7 jam dengan suhu $100^{\circ}C$. Aktivitas antioksidan sampel minyak atsiri kulit jeruk purut dan kontrol positif diuji menggunakan metode CUPRAC, dibuat dalam konsentrasi 10; 20; 30; 40; dan 50 ppm. Karakteristik sampel juga diuji, diantaranya persen rendemen, total minyak, kecerahan, berat jenis, indeks bias, rotasi optik, bilangan asam, kelarutan dalam alkohol, bilangan ester, dan analisis senyawa dengan GCMS. Data aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode *Mann Whitney*, dan data karakteristik menggunakan metode deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dan trolox terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$), dengan nilai IC_{50} 23,4182 ppm dan 53,8605 ppm. Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki persen rendemen 1,86045%, tidak berwarna, berat jenis 0,84028 g/ml pada suhu $25^{\circ}C$, nilai indeks bias 1,4710, rotasi optik +12,70, bilangan asam 0,8415, larut dalam 1:6 bagian alkohol 90%, serta bilangan ester 19,635. Minyak atsiri kulit jeruk purut mengandung 25 senyawa dengan tiga senyawa tertinggi β -pinene, limonene, sabinene.

Kesimpulan aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut tergolong sangat kuat dan karakteristik sesuai standar.

Kata Kunci: Minyak atsiri kulit jeruk purut, Karakteristik, Aktivitas antioksidan IC_{50} , CUPRAC.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan minyak kaffir lime (jeruk purut) banyak digunakan untuk perlengkapan mandi seperti pasta gigi, perawatan kulit dan rambut sebanyak 25% seperti *hair conditioning*, *shampoo*, disusul oleh parfum dan produk kecantikan sebesar 15% dan 10% (Kedutaan Besar RI di Bern Switzerland Swiss, 2020). Minyak atsiri kulit jeruk juga digunakan oleh industri kimia parfum, sebagai penambah aroma atau perasa jeruk pada minuman dan makanan, dan pada bidang kesehatan sebagai antioksidan dan antikanker (Muhtadin *et al.*, 2013). Minyak atsiri kulit jeruk di Indonesia digunakan sebagai insektisida berupa repelan yang tidak disukai nyamuk (Handayani *et al.*, 2021). Ada beberapa trend pasar minyak atsiri di Swiss dan Eropa, diantaranya unsur kesehatan dan natural. Konsumen di Swiss dan Eropa beranggapan bahwa unsur natural lebih sehat dibandingkan bahan sintetis, maka banyak produk kesehatan yang mengganti bahan aktifnya dengan bahan yang natural. Trend yang kedua adalah *traceability* atau sumber produksi yang dapat dilacak. Aspek ini penting karena salah satu tuntutan konsumen yang harus dibuktikan dengan sertifikasi untuk menghindari terjadinya pemalsuan minyak atsiri (Kedutaan Besar RI di Bern Switzerland Swiss 2020). Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) belum memiliki Standar Negara Indonesia (SNI) sebagai acuan kualitas minyak atsiri yang

diproduksi, sehingga mudah terjadinya pemalsuan (Badan Standardisasi Nasional, 2019).

Seiring dengan perkembangan pasar minyak atsiri yang pesat, menjadikan salah satu faktor pendorong terjadinya pemalsuan minyak atsiri. Para produsen minyak atsiri mengambil keuntungan dengan memalsukan minyak atsiri untuk menekan biaya bahan baku dengan cara menambahkan minyak atsiri atau konstituen minyak atsiri yang lebih murah (KE *et al.*, 2015). Pemalsuan terjadi jika zat murni secara sengaja diubah dengan menambahkan zat atau bahan asing, atau terjadi pencemaran oleh lingkungan yang menyebabkan perubahan pada zat murni tersebut Beale *et al.* (2017), maka perlu dilakukan karakterisasi minyak atsiri yang belum memiliki standar kualitas, sehingga dilakukan penelitian ini sebagai dasar acuan penelitian selanjutnya tentang kualitas minyak atsiri kulit jeruk purut.

Hal yang mendasari terjadinya pemalsuan diantaranya hasil produksi yang rendah dibandingkan dengan biaya produksi minyak berkualitas tinggi, pengadaan bahan baku yang kurang baik, tidak terdapatnya standar kualitas minyak atsiri yang diproduksi, yang ditandai dengan tantangan yang sulit dalam mengidentifikasi produk jadi yang dipalsukan (Beale *et al.*, 2017). Berdasarkan data Kedutaan Besar RI di Bern Switzerland Swiss (2020), pasar minyak atsiri di Eropa berkembang pesat, diperkirakan nilai perdagangannya pada tahun 2024 akan mencapai USD 2,7 milyar dengan kenaikan sebesar 9,5% per tahun. Pada tahun 2019, Indonesia menjadi eksportir terbesar kedua setelah Perancis, dengan

nilai ekspor lebih dari 12 juta. Pada bulan Maret tahun 2020 di masa pandemic Covid 19, nilai ekspor minyak atsiri Indonesia ke Swiss naik lebih dari 300%. Jenis minyak atsiri Indonesia yang masuk pasar Swiss antara lain Vetiver (akar wangi), Patchouli (nilam), Agarwood (Gaharu), Rose (mawar), Cajeput (kayu putih), Jasmine (melati), dan Kaffir lime (Jeruk purut).

Berdasarkan penelitian Warsito *et al.* (2017), minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, yang dibuktikan dengan hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 6,43 ppm. Menurut Warsito *et al.* (2018), aktivitas antioksidan dalam minyak atsiri kulit jeruk purut berkaitan dengan senyawa antioksidan yang berasal dari golongan monoterpene hidrokarbon (MH). Menurut Yamunadevi *et al.* (2011), secara fisika golongan terpenoid bersifat larut dalam lemak atau non polar dan terdapat didalam sitoplasma sel tumbuhan. Minyak atsiri terdiri dari senyawa volatile yang berasal dari terpenoid dan non terpenoid (Agouillal *et al.*, 2017), Minyak atsiri berupa cairan hidrofobik yang mudah menguap (Kementerian Perdagangan RI, 2011).

Menurut Karadag *et al.* (2009), metode DPPH memiliki kekurangan yaitu hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik, terutama alkohol, dan terbatas dalam media air, untuk itu metode DPPH dapat digunakan dalam uji antioksidan senyawa polar dan semipolar. Selain metode DPPH terdapat metode CUPRAC yang juga dapat digunakan untuk uji aktivitas antioksidan senyawa yang bersifat hidrofilik dan lipofilik secara bersamaan, dan dapat bekerja dalam keadaan ph

fisiologis (Özyürek *et al.*, 2011). Selain itu metode CUPRAC memiliki beberapa keuntungan diantaranya reagen CUPRAC cukup cepat mengoksidasi antioksidan tipe tiol, reagen lebih stabil dan mudah diterapkan di laboratorium, metode ini dapat mengukur antioksidan hidrofilik dan lipofilik secara bersamaan, untuk itu peneliti menggunakan metode CUPRAC (Karadag *et al.*, 2009).

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan dan penelusuran peneliti menggunakan google scholar hingga tanggal 16 April 2022, sejauh yang diketahui peneliti belum ditemukan adanya penelitian terkait uji antioksidan menggunakan metode CUPRAC dan karakterisasi minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C), maka peneliti bermaksud melakukan penelitian uji antioksidan menggunakan metode CUPRAC dan karakterisasi minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut “Bagaimana aktivitas antioksidan dan karakteristik minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan karakteristik minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

1.3.2. Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui nilai IC_{50} menggunakan metode CUPRAC
2. Untuk mengetahui persen rendemen, total minyak, kecerahan atau warna minyak, berat jenis, indeks bias, rotasi optik, bilangan asam, kelarutan dalam alkohol dan bilangan ester minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai sumber informasi pengembangan ilmu pengetahuan mengenai aktivitas antioksidan dan karakteristik minyak atsiri dari jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C).

1.4.2. Manfaat Praktis

Sebagai bahan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) dalam pembuatan minyak atsiri sebagai antioksidan dan memberikan alternatif sumber antioksidan alami, sehingga meminimalkan penggunaan antioksidan sintetik yang memiliki efek samping lebih tinggi dibandingkan antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Gambar buah dan ranting jeruk purut dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Buah dan Ranting Jeruk Purut (Agouillal *et al.*, 2017)

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman jeruk purut menurut Rukmana (2003), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatopyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Rutales

Familia : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Species : *Citrus hystrix* Aug D.C

2.1.2. Morfologi Jeruk Purut

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) umumnya berpohon kecil dengan tinggi 3-6 m dan lebar 2,5-3 m. Batang jeruk purut berbentuk bengkok dengan cabang berduri dan memiliki daun unifoliate, berbentuk bulat telur sampai lonjong, panjangnya 7,5-10 cm, berwarna hijau tua pada bagian atas dan lebih terang di bagian bawah, serta berbau sangat harum. Setiap daun terdiri dari dua bagian, tampak seperti daun ganda, berbunga kecil dan harum, berwarna putih dengan pinggiran berwarna ungu, benang sari berjumlah 24-30. Buah jeruk purut berdiameter 5-7 cm, berkulit atau bergelombang, kulit buah tebal, daging buah agak kekuningan, sangat asam dan pahit (Agouillal *et al.*, 2017).

2.1.3. Kandungan Kimia Jeruk Purut

Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C) mengandung beberapa senyawa kimia yang tersaji dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1. Kandungan Kimia Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Bagian	Kandungan
Daun	Minyak atsiri (1-1,5%) Steroid triterpen dan tanin (1,8%)
Kulit Jeruk	Minyak atsiri Sitrat (2-2,5%), Saponin Tanin (1%), Steroid triterpenoid Flavonoid
Buah dan Daun	Minyak atsiri Vitamin C Asam folat Kalium Kumarin, pectin, serat Flavonoid dan senyawa fenolik tinggi (potensi sebagai sumber antioksidan alami)

(Kurniawati, 2010; Agouillal *et al.*, 2017)

Minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) secara umum mengandung komponen campuran kompleks dari monoterpenoid hidrokarbon (MH), monoterpenoid yang mengandung oksigen (MO), dengan komponen utamanya sitronellal sebesar 46,85 – 80,4 % yang dihasilkan dari penyulingan daun, ranting dan kulit buah jeruk purut (Warsito *et al.*, 2017).

2.1.4. Manfaat Jeruk Purut

Jeruk purut selain dimanfaatkan sebagai bumbu masak, juga berkhasiat bagi kesehatan. Secara farmakologis jeruk purut mempunyai dua efek, yaitu antispasmodik dan antiseptik. Jeruk purut dapat digunakan untuk mengobati flu, meremajakan tubuh yang lelah, menghilangkan bau rambut dan kulit bersisik serta mengelupas. Minyak

kulit jeruk purut digunakan sebagai insektisida, sedangkan air jeruk purut digunakan sebagai pembersih pakaian dan rambut (Kurniawati, 2010). Berdasarkan penelitian Warsito *et al.* (2018) minyak atsiri kulit jeruk purut dapat digunakan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dalam minyak atsiri berkaitan dengan kandungan komponen monoterpen hidrokarbon (MH) yaitu sabinene, β -pinene, dan γ -pinene yang tinggi.

2.2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri atau biasa disebut minyak eteris (*aetheric oil*, *essential oil*, *volatile oil*), minyak aromatik dan minyak terbang merupakan campuran kompleks dari senyawa *volatile* atau mudah menguap dan senyawa semi *volatile*, biasanya memiliki bau yang menyengat khas aromatik, tidak berwarna, namun terdapat beberapa yang berwarna, larut dalam pelarut organik, tidak larut dalam air. Minyak atsiri terdiri dari senyawa *volatile* yang berasal dari terpenoid dan non terpenoid, yang disintesis melalui jalur biosintesis yang berbeda dengan metabolit primer (Agouillal *et al.*, 2017). Secara umum minyak atsiri dapat diperoleh melalui beberapa teknik ekstraksi seperti ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*), pengempaan (*pressing*), dan penyulingan (*distillation*) (Hidayati, 2012).

2.3. Penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*)

Penyulingan (*distillation*) merupakan teknik ekstraksi atau proses pengambilan komponen dari suatu bahan baku yang didasarkan pada perbedaan

titik didih atau kemudahan menguap atau volatilitas bahan (Hidayati, 2012). Penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*) merupakan teknik penyulingan dimana bahan ditempatkan pada wadah yang konstruksinya hampir sama dengan alat pengukus, sehingga teknik ini disebut juga dengan pengukusan. Bahan baku ditempatkan di atas air dengan penahan (angsan) dan diatur agar antar bahan baku tidak longgar. Bagian bawah diisi dengan air, kemudian dididihkan, sehingga minyak atsiri akan ikut menguap bersama uap air, dan mengalir ke kondensor. Suhu steam harus dikontrol sehingga bahan baku tidak terbakar, tetapi hanya memaksa bahan baku mengeluarkan minyak atsiri. Tekanan yang digunakan >1 atm dan suhunya $>100^{\circ}\text{C}$, sehingga proses penyulingan berlangsung cepat dan mengurangi kemungkinan rusaknya minyak atsiri. Teknik ini menghasilkan minyak atsiri yang berkualitas tinggi (Anto, 2020).

Pada penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*) minyak atsiri dan uap air tidak menguap bersamaan, tetapi uap air akan menguap setelah dilakukan pemanasan, setelah mencapai keseimbangan tekanan tertentu uap air akan masuk ke jaringan bahan dan mendesak minyak atsiri ke permukaan, kemudian minyak atsiri akan menguap bersama uap air menuju kondensor (Yuliarto *et al.*, 2012). Pada bagian kondensor atau kondensator terjadi proses kondensasi yaitu proses pengubahan gas (uap) dari kondisi *superheat* menjadi cair (Pukoliwutang *et al.*, 2017). Metode penyulingan ini memiliki beberapa keuntungan seperti uap dapat menyebar merata ke dalam jaringan bahan,

rendemen lebih besar, dan mutu minyak lebih baik dibandingkan hasil penyulingan dengan air Ariyani *et al.* (2008), karena Yuliarto *et al.* (2012), menyebutkan bahwa penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*) menggunakan suhu dan tekanan proses yang relatif tinggi, sehingga sedikit atau bahkan tidak ada minyak atsiri yang bercampur dengan air dan senyawa yang terekstrak lebih lengkap. Gambar alat penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*) dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Alat penyulingan dengan Air dan Uap (Ma'mun, 2014)

2.4. Karakterisasi

Karakterisasi adalah proses pencarian ciri khusus atau kualitas yang dimiliki individu, digunakan untuk membedakan diantara jenis dan individu satu dengan lainnya (Miswarti *et al.*, 2014). Karakterisasi minyak atsiri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas minyak atsiri yang dihasilkan (Wibowo *et al.*, 2015). Terdapat beberapa parameter yang biasanya digunakan sebagai standar kualitas minyak atsiri, antara lain: persen rendemen, total minyak, kecerahan atau warna minyak atsiri (Anggraini *et al.* 2018). Berat jenis, indeks bias, rotasi optik, bilangan asam, kelarutan dalam alkohol (Kurniasari *et al.*

2008). Menurut Yanti *et al.* (2017), menyatakan bahwa bilangan ester dapat digunakan sebagai standar kualitas minyak atsiri.

2.4.1. Persen Rendemen dan Total Minyak

Rendemen adalah persentase perbandingan antara bahan yang dihasilkan dengan berat bahan baku utuh (Hafiluddin, 2012). Perhitungan persen rendemen dilakukan karena persen rendemen menunjukkan kadar dari minyak atsiri (Anggraini *et al.*, 2018). Total minyak dihitung agar mengetahui jumlah minyak atsiri yang dihasilkan.

2.4.2. Kecerahan Atau Warna Minyak Atsiri

Warna atau kecerahan minyak atsiri merupakan salah satu parameter kualitas dari minyak atsiri. Pengujian kecerahan atau warna minyak atsiri didasarkan menurut SNI 06-2388-2006 pengujian minyak nilam (Anggraini *et al.*, 2018).

2.4.3. Berat Jenis

Berat jenis adalah perbandingan antara massa jenis sebuah zat dengan massa jenis air (Kusuma *et al.*, 2017). Berat jenis merupakan parameter penting untuk menentukan kualitas dan kemurnian minyak atsiri. Tingkat kejenuhan dan berat molekul komponen minyak atsiri merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi berat jenis. Semakin berat molekul senyawa penyusun minyak atsiri dan ikatan rangkap, maka semakin bertambah berat jenisnya (Yanti *et al.*, 2017).

2.4.4. Indeks Bias

Pengukuran indeks bias bertujuan untuk mengetahui kemurnian minyak atsiri, karena setiap minyak atsiri memiliki indeks bias tertentu (Yanti *et al.*, 2017). Indeks bias merupakan nilai mutlak yang dimiliki setiap medium yang menyebabkan terjadinya pembiasan atau perbandingan antara kecepatan cahaya pada dua medium (Juliana, 2015).

2.4.5. Rotasi Optik

Rotasi optik merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri dalam memutar bidang polarisasi, yaitu ke kiri (*levorotary*) atau ke kanan (*dextrorotary*) (Wibowo and Komarayati, 2015).

2.4.6. Bilangan Asam

Bilangan asam merupakan bilangan yang menunjukkan jumlah milligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam bebas dalam 1 gram minyak (Suroso, 2013). Bilangan asam berguna dalam minyak atsiri untuk menunjukkan nilai asam bebas. Semakin besar nilai asam bebas maka dapat mempengaruhi kualitas minyak atsiri sehingga dapat merubah bau khas minyak atsiri (Wibowo *et al.*, 2015).

2.4.7. Kelarutan Alkohol

Kelarutan dalam alkohol merupakan uji yang dilakukan untuk memberikan ilustrasi apakah minyak atsiri larut atau tidak. Semakin

banyak senyawa polar dalam minyak atsiri, maka semakin mudah larut dalam alkohol (Khasanah *et al.*, 2015).

2.4.8. Bilangan ester

Bilangan ester dapat digunakan sebagai parameter kualitas minyak atsiri, karena terdapatnya ester dalam minyak atsiri berhubungan dengan aromanya. Bilangan ester merupakan bilangan yang menunjukkan jumlah milligram basa yang dibutuhkan untuk membuat ester berbasa dalam 1 gram minyak. Semakin tinggi kandungan ester dalam minyak atsiri, maka semakin kuat aromanya (Yanti *et al.*, 2017). Berikut reaksi kimianya:



2.5. Karakterisasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Karakterisasi dilakukan untuk menentukan atau mengetahui kualitas minyak atsiri yang dihasilkan (Wibowo *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Khasanah *et al.* (2015) telah dilakukan karakterisasi minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai perlakuan pendahuluan, diantaranya utuh segar, pemeraman, kering angin giling kasar dan kering angin giling halus, dengan uji karakteristik seperti berikut: berat jenis, viskositas, indeks bias, rotasi optik, kelarutan dalam alkohol. Selain itu digunakan juga parameter kualitas minyak atsiri dari kulit buah jeruk bali yang masih satu familia dengan jeruk purut yaitu rutaceae (Saputra *et al.*, 2017). Parameter kualitas yang digunakan sebagai acuan karakterisasi minyak atsiri kulit jeruk purut yang tersaji dalam tabel 2.2.

Tabel 2.2. Acuan Kualitas Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Parameter	Nilai	Asal Parameter	Referensi
Persen Rendemen	Minimal 1,42 %	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	(SNI 8028-1:2014, 2014)
Berat Jenis	0,837 – 0,845 g/ml	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	(Khasanah <i>et al.</i> , 2015)
Indeks Bias	Tiga senyawa tertinggi minyak atsiri kulit jeruk purut: - Sabinene: 1,465 – 1,475 β-pinene: 1,47 – 1,48 - Limonene: 1,471 – 1,474 Rata – rata: 1,4686 – 1,4763 suhu 20°C	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi	(Moellhausen, 2009; Roth, 2015; Essence, 2014)
Rotasi Optik	Tiga senyawa tertinggi minyak atsiri kulit jeruk purut: - Sabinene: (-72° sampai -62°) β-pinene: (-20° sampai -16°) - Limonene: (+96° sampai +104°) Rata – rata: (+9° sampai +17°)	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi	(Moellhausen, 2009; Moellhausen, 2008; Essence, 2014)
Kelarutan dalam Alkohol	Larut dalam 1:6 alkohol 90%	Parameter dari kelarutan kandungan senyawa tertinggi (β -pinene)	(Moellhausen, 2008)
Kecerahan atau Warna	Tidak berwarna atau berwarna bening	Parameter dari minyak atsiri kulit jeruk bali	(Saputra <i>et al.</i> , 2017)
Bilangan Asam	0,82 – 2,39	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	(Wijaya <i>et al.</i> , 2000)
Bilangan Ester	18,09 – 33,77	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	(Wijaya <i>et al.</i> , 2000)

2.6. Analisis Komponen Minyak Atsiri

Analisis komponen minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). GC-MS merupakan gabungan 2 metode analisis yaitu kromatografi gas dan spektroskopi massa.

Kromatografi gas adalah metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang dinamis, digunakan untuk memisahkan dan mendeteksi senyawa organik yang *volatile* atau mudah menguap dalam campuran. Prinsip kromatografi gas adalah pemisahan zat terlarut yang mudah menguap (stabil terhadap panas) melalui kolom yang berisi fase diam, dimana zat terlarut akan terelusi berdasarkan kenaikan titik didihnya. Fase gerak berupa gas akan mengelusi zat terlarut dari ujung kolom kemudian memindahkannya ke detektor dan hasil pemisahan dapat dilihat dalam bentuk kromatogram (Gandjar and Rohman, 2016). Kromatogram yang dihasilkan oleh GC kemudian di *scanning* menggunakan detektor MS untuk memperoleh data spectra massa, lalu dibandingkan dengan database pada library untuk analisis struktur kimia (Warsito *et al.*, 2017).

Spektrofotometri massa merupakan metode analisis dimana sampel yang dianalisis diubah menjadi ion gas. Massa ion tersebut dapat diukur berdasarkan hasil deteksi berupa spectrum massa. Pada GC-MS, spektrofotometri massa bertindak sebagai detektor, dimana mengidentifikasi senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas (Made *et al.*, 2015). Spektrofotometri massa digunakan untuk mengidentifikasi senyawa, penentu bobot molekul dan rumus molekul. Prinsip spektrofotometri massa yaitu pengionan senyawa untuk menghasilkan fragmen molekul atau molekul bermuatan dan mengukur rasio muatan (Darmapatni *et al.*, 2016).

Terdapat beberapa teknik ionisasi pada spektrofotometri massa yang terkait dengan GC diantaranya: *electron impact ionization* (EI) dan *chemical*

ionization (CI) (Made *et al.*, 2015). Teknik ionisasi *electron impact ionization* (EI) menghasilkan fragmentasi yang luas dengan informasi penting mengenai struktur senyawa kimia, sedangkan teknik ionisasi *chemical ionization* (CI) dengan reagen gas metana, ammonia hanya memberikan informasi berat molekul (Boes, 2014). Teknik ionisasi *electron impact ionization* (EI) yaitu ketika analitik keluar dari kolom, akan terionisasi oleh elektron dari filament tungsten yang dialiri tegangan listrik. Ionisasi terjadi karena terjadi interaksi antara medan elektron dengan molekul saling berdekatan, sehingga menyebabkan satu elektron lepas, dan terbentuk ion molekul M^+ yang punya berat molekul sama dengan molekul netral. *Mass to charge ratio* (M/Z) merupakan perbandingan massa fragmen dengan muatannya (Made *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian Warsito *et al.* (2018), komponen minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) yang dianalisis menggunakan GC-MS dihasilkan jumlah komponen monoterpen hidrokarbon (MH) 51,37% dan monoterpen oksigenasi (MO) 44,69%. Komponen minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) tersaji dalam tabel 2.3.

Tabel 2.3. Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Kelompok	Senyawa	Kadar (%)
Monoterpene Hidrokarbon (MH)	Phellandrene	0,10
	(α)-Pinene	1,26
	Sabinene	9,21
	(β)-Pinene	21,44
	(β)-Myrcene	1,98
	(γ)-Terpinene	1,23
	Limonene	12,59
	(α)-Terpinene	2,29
	(α)-Terpinolene	0,62
	Copaene	0,18
	Caryophyllene	0,24
	Cadinene	0,23
Jumlah		51,37
Monoterpene Oksigenasi (MO)	Linalool oxide	1,57
	Linalool	4,23
	Citronellal	20,91
	Terpien-4-ol	11,93
	(α)-Terpineol	5,16
	Rhodinol	0,46
	Genanyl acetate	0,43
Jumlah		44,69

2.7. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah produk metabolisme sel normal berupa atom atau molekul yang mengandung elektron bebas yang tidak berpasangan satu atau lebih. Jumlah elektron pada radikal bebas adalah ganjil, sehingga membuat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif menarik elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas. Dalam mencapai stabilitas, radikal bebas akan merusak integritas lipid, protein, dan DNA, sehingga menyebabkan potensi kerusakan biomolekul, yang berujung pada peningkatan stress oksidatif, seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes, penyakit kardiovaskular, penuaan dini bahkan kanker (Phaniendra *et al.*, 2015). Stress oxidative merupakan keadaan

dimana tidak terjadinya keseimbangan antara prooksidan atau radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh. Hal ini terjadi karena produksi radikal bebas oleh tubuh yang berlebihan atau kekurangan antioksidan dalam tubuh (Susantiningih, 2015).

Menurut Khan *et al.*, (2018), radikal bebas dapat bermanfaat bagi tubuh jika jumlahnya tidak berlebihan dalam tubuh. Berikut merupakan beberapa manfaat radikal bebas dalam tubuh:

1. Radikal bebas banyak berperan penting dalam tubuh seperti mengendalikan aliran dalam melalui arteri, untuk melawan infeksi, menjaga otak untuk tetap waspada dan fokus.
2. Sel fagosit yang terlibat dalam proses pertahanan tubuh, berfungsi memproduksi dan memobilisasi radikal bebas untuk menghancurkan bakteri dan sel lain yang berasal dari benda asing yang mereka telan.
3. Beberapa radikal bebas dalam jumlah rendah berperan sebagai molekul sinyal yaitu bertanggung jawab untuk menghidupkan dan mematikan gen.
4. Radikal bebas seperti oksida nitrat dan superoksida yang diproduksi dalam jumlah tinggi oleh sel-sel imun tubuh untuk meracuni virus dan bakteri.
5. Beberapa radikal bebas membunuh sel kanker. Bahkan obat kanker tertentu diproduksi bertujuan untuk meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh.

Radikal bebas dapat berasal dari sumber internal dan eksternal. Sumber eksternal radikal bebas adalah faktor di luar tubuh manusia yaitu merokok, polusi lingkungan, radiasi, zat kimia, sinar ultraviolet, ozon, beberapa jenis obat, pestisida dan obat bius, sedangkan sumber radikal bebas internal berupa faktor yang berawal dari proses metabolisme normal tubuh manusia yaitu fagosit, xantin oksidase, jalur arakidonat, peroksisom, inflamasi dan sebagainya (Mardhiani *et al.*, 2018). Wojtunik *et al.* (2014) menyebutkan bahwa penggunaan energi yang berlebihan mungkin bertanggung jawab atas inisiasi reaksi berantai radikal bebas dan perkembangan stress oksidatif. Radikal bebas setidaknya sebagian dikaitkan dengan perkembangan beberapa penyakit kronis seperti Alzheimer, arterosklerosis, kanker dan sebagainya.

2.8. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat, dan bersaing dengan substrat yang teroksidasi pada tingkat konsentrasi yang relatif rendah dan menghambat atau mencegah proses oksidasi substrat (Lung and Destiani, 2018). Antioksidan juga digunakan untuk menetralkan dengan menjadi donor elektron radikal bebas, mereduksi dan menghambat pembentukan radikal bebas baru dalam tubuh, sehingga elektron bebas dalam radikal bebas berpasangan dan kerusakan dapat dicegah di dalam tubuh (Arnanda and Nurwarda, 2019). Berdasarkan mekanismenya antioksidan digolongkan menjadi antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Wulansari, 2018).

1. Antioksidan primer bekerja dengan menangkal radikal bebas melalui donor satu elektron ke molekul yang reaktif (Wulansari, 2018).
2. Antioksidan sekunder bekerja dengan mengikat dan menghilangkan logam transisi pemicu radikal bebas (Wulansari, 2018).
3. Antioksidan tersier bekerja dengan mencegah penumpukan biomolekul agar tidak terjadi kerusakan yang lebih lanjut (Wulansari, 2018).

Terdapat beberapa mekanisme antioksidan dalam mempertahankan tubuh terhadap radikal bebas, diantaranya sebagai pengelat logam sehingga keseimbangan reduksi-oksidasi radikal bebas terhambat, sebagai penangkap radikal bebas sehingga mencegah terjadinya oksidasi molekul dalam sel, memperbaiki kerusakan DNA dan mRNA yang menyebabkan mutasi sel, dan memperbaiki kemampuan adaptif dalam memperlambat akibat dari penyakit degeneratif (Rahmadi and Bohari, 2018). Antioksidan berdasarkan sumbernya dikategorikan menjadi 2 golongan, yaitu antioksidan alami seperti senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan antioksidan sintetik seperti BHA (*Butyl Hidroksi Anisol*), BHT (*Butyl Hidroksi Toluen*), PG (*Propil Galat*) (Isnindar *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian Fitri (2013) Antioksidan sintetik BHA dan BHT menyebabkan reaksi alergi dan gangguan pada ginjal dan hati pada dosis besar dalam jangka waktu lama. Selain itu, BHA memiliki sifat *promoting effect* atau *inhibitory effect* pada efek karsinogenik bahan kimia. BHA bersifat *promoting effect* terhadap karsinogenesis kandung kemih dan karsinogenesis tiroid pada tikus yang

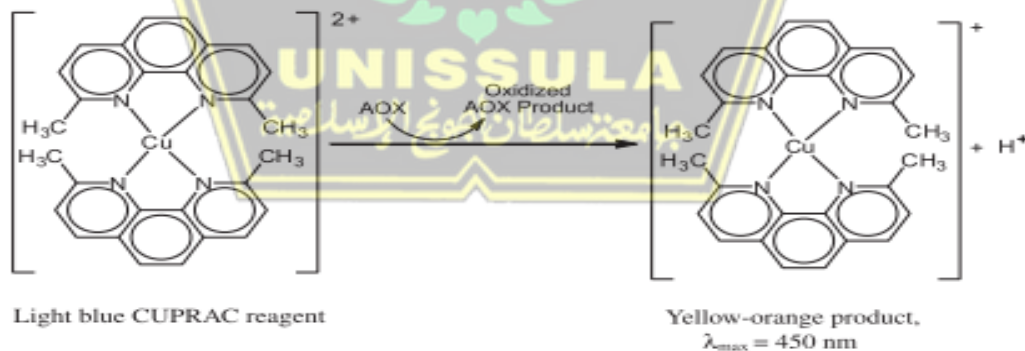
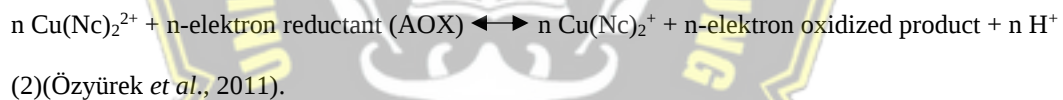
diinduksi dengan N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine atau MNU. BHA bersifat *inhibitory effect* terhadap karsinogenesis hati yang diinduksi oleh diethylnitrosamine.

Parameter aktivitas antioksidan adalah nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Lung and Destiani, 2018). IC_{50} kurang dari 50 ppm dapat dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat, 50-100 ppm kategori antioksidan kuat, 101-150 ppm kategori antioksidan sedang, dan ulebi dari 150-200 ppm kategori antioksidan lemah (Fidrianny *et al.*, 2015).

2.9. Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC

Metode CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*) merupakan metode uji aktivitas antioksidan yang didasarkan pada kemampuan antioksidan dalam mereduksi kompleks Cu^{2+} menjadi Cu^{+} yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna biru menjadi kuning jika senyawa memiliki aktivitas antioksidan, reagen yang digunakan adalah Cu(II)-neocuproin $[Cu(II)-(Nc)_2]$ (Ramadhan *et al.*, 2020). Pembacaan absorbansi metode CUPRAC menggunakan panjang gelombang 450 nm. Metode CUPRAC memiliki kelebihan diantaranya reagen yang digunakan merupakan pereaksi yang selektif karena potensi redoksinya rendah, mempunyai nilai potensial reduksi rendah, reagen CUPRAC cukup cepat dalam mengoksidasi antioksidan tiol (Maryam *et al.*, 2015). CUPRAC dapat mengidentifikasi antioksidan dari senyawa hidrofilik dan lipofilik secara bersamaan, dan dapat bekerja dalam keadaan pH fisiologis (Özyürek *et al.*, 2011).

Pada metode CUPRAC mekanisme antioksidan yang terjadi adalah mekanisme antioksidan primer, karena pada metode CUPRAC reagen berperan sebagai reagen redoks yaitu reagen cupric neocuproin (agen transfer elektron). Mekanisme metode CUPRAC yaitu terjadi reaksi antara bis (neocuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron sebagai pendonor elektron. Pereaksi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ yang berwarna biru akan tereduksi menjadi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ yang berwarna kuning (Özyürek *et al.*, 2011). Dalam reaksi ini minyak atsiri jeruk purut berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron. Berikut merupakan reaksi antara bis (neocuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron yang dapat dilihat pada reaksi kimia dan gambar 2.3.



Gambar 2.3. Reaksi antara bis (neocuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron (Özyürek *et al.*, 2011)

2.10. Hubungan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C) dengan Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan

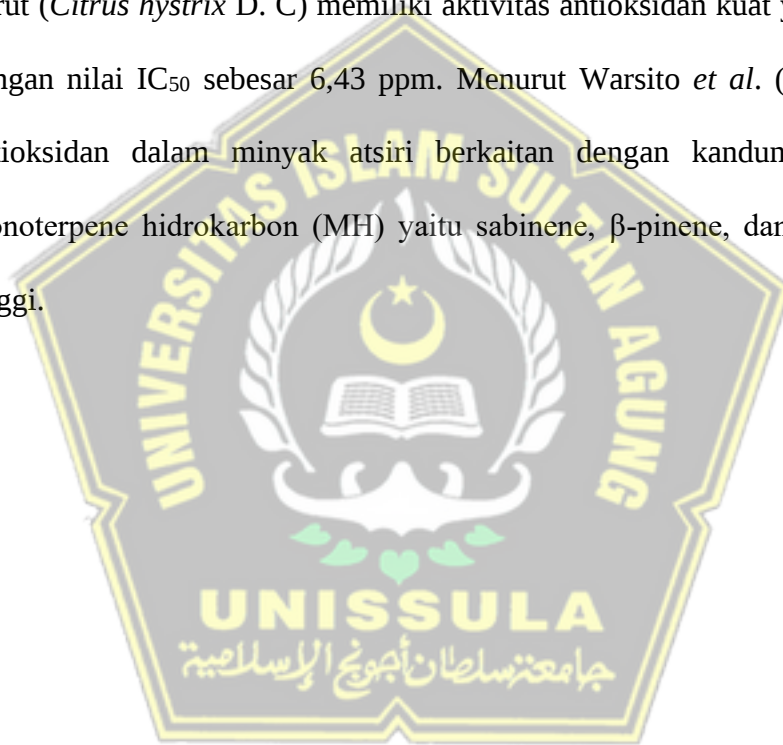
Hubungan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) dengan pengujian karakteristiknya dilakukan dalam rangka untuk mendapatkan minyak atsiri yang berkualitas dan mencegah terjadinya pemalsuan, agar dapat digunakan menjadi sebuah standar kualitas. Pengujian karakteristik meliputi sifat fisik dan kimianya. Berdasarkan (SNI 8028-1:2014, 2014), nilai rendemen untuk minyak atsiri daun jeruk purut minimal 1,42%. Semakin lama waktu penyulingan maka semakin tinggi presentase rendemen minyak atsiri yang diperoleh (Hidayati, 2012).

Berat jenis minyak atsiri daun jeruk purut berkisar (0,837 – 0,845 g/ml) (Khasanah *et al.*, 2015). semakin berat molekul senyawa penyusun minyak atsiri dan ikatan rangkap, semakin bertambah berat jenisnya (Yanti *et al.*, 2017). Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut berkisar (1,450-1,453) (Khasanah *et al.*, 2015). Semakin panjang rantai karbon dan ikatan rangkap dalam senyawa minyak atsiri, maka kerapatan minyak semakin besar, sehingga sukar dalam membiaskan cahaya yang akan datang dan menyebabkan indeks bias bertambah besar (Hidayati, 2012).

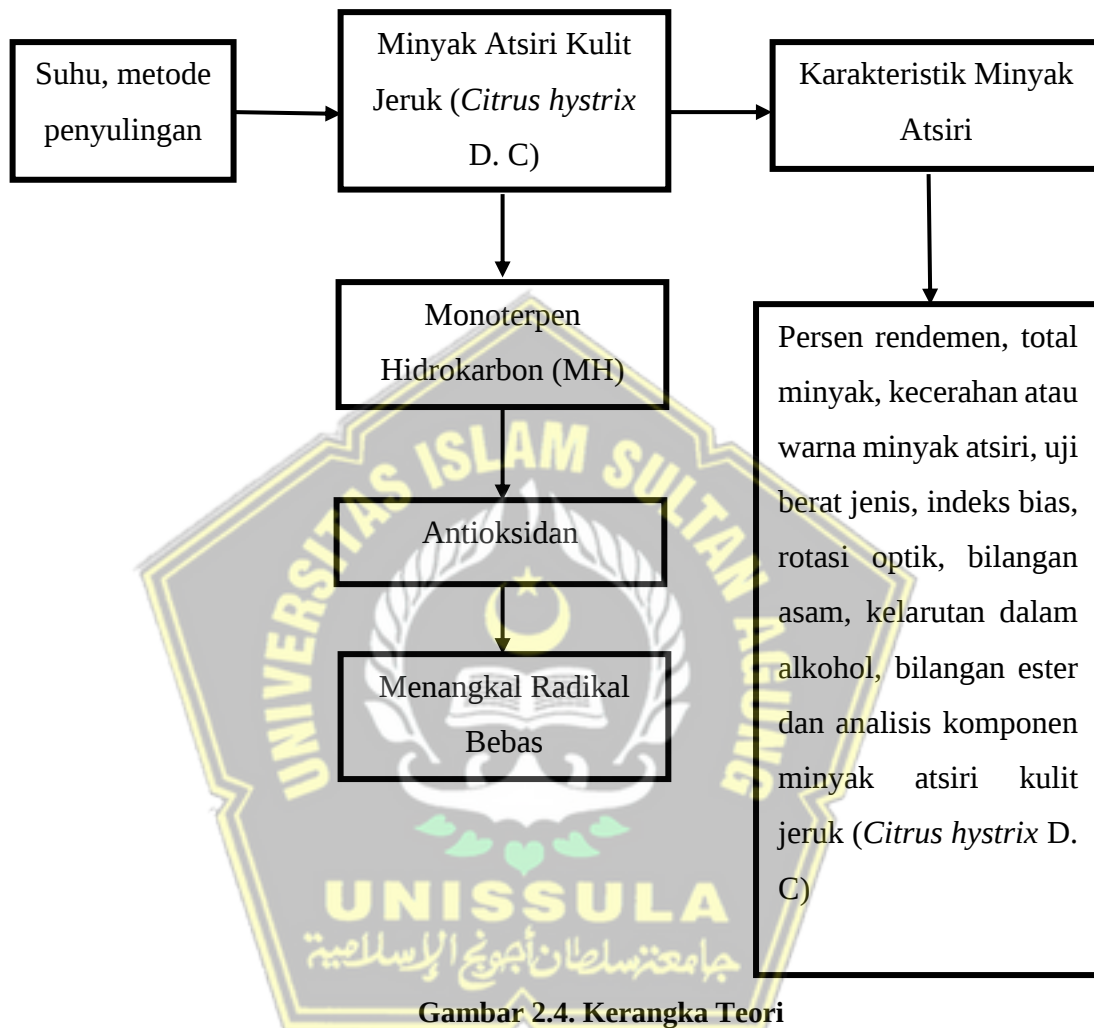
Rotasi optik minyak atsiri daun jeruk purut ($-9,00^{\circ}$) – ($-13,5^{\circ}$). Semakin kecil atau minus nilai rotasi optik maka semakin bagus kualitas minyak atsiri. Kelarutan dalam alkohol untuk minyak atsiri daun jeruk purut 1:3 – 1:4 menggunakan alkohol 70%. (Khasanah *et al.*, 2015). Kecerahan dari minyak

atsiri kulit jeruk bali dapat digunakan sebagai acuan yaitu tidak berwarna atau berwarna bening (Saputra *et al.*, 2017). Bilangan asam minyak atsiri daun jeruk purut 0,82 – 2,39 dan bilangan ester minyak atsiri daun jeruk purut berkisar 18,09 – 33,77 (Wijaya *et al.*, 2000).

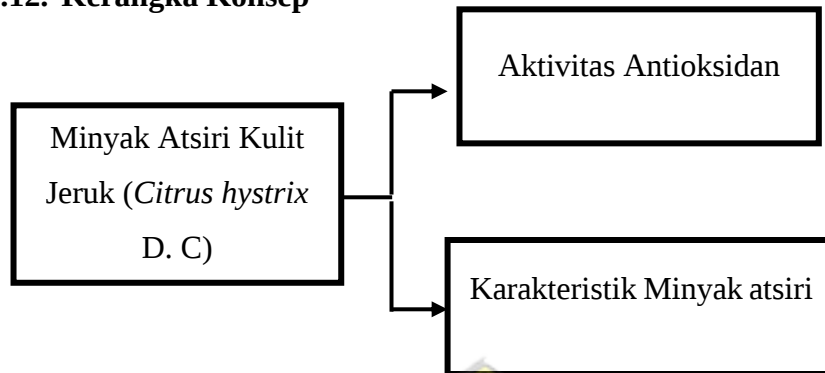
Berdasarkan penelitian Warsito *et al.* (2017), minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) memiliki aktivitas antioksidan kuat yang dibuktikan dengan nilai IC_{50} sebesar 6,43 ppm. Menurut Warsito *et al.* (2018), aktivitas antioksidan dalam minyak atsiri berkaitan dengan kandungan komponen monoterpen hidrokarbon (MH) yaitu sabinene, β -pinene, dan γ -pinene yang tinggi.



2.11. Kerangka Teori



2.12. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

2.13. Hipotesis

Minyak Atsiri Kulit Jeruk (*Citrus hystrix* D. C) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat menggunakan metode CUPRAC, dan karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) dapat digunakan sebagai standar dalam melakukan karakterisasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian analitik observasional, karena peneliti melakukan pengamatan pada penelitian, dan menggunakan desain *cross sectional* analitik, dikarenakan setiap variabel diteliti dalam suatu periode waktu pada sampel.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Aktivitas antioksidan dan karakteristik minyak atsiri

3.2.1.3. Variabel Terkendali

Suhu dan metode penyulingan

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

Kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) yang dipakai pada penelitian ini diperoleh dari Desa Dukuhkembar,

Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Pembuatan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) menggunakan metode penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*), Minyak atsiri didapatkan dari hasil penyulingan berupa cairan dengan satuan ml.

Skala data: skala rasio.

3.2.2.2. Aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

Aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) diukur dengan menggunakan metode CUPRAC. Sampel yang digunakan adalah minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C). Pengukuran absorbansi digunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 450 nm dan dihitung nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} didapat dari uji aktivitas antioksidan dengan satuan ppm.

Skala data: skala rasio.

3.2.2.3. Karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C)

Karakterisasi minyak atsiri dilakukan dengan beberapa uji, diantaranya pengukuran kadar air, persen rendemen, total minyak, kecerahan atau warna minyak atsiri, berat jenis, indeks bias, rotasi optik, bilangan asam, kelarutan

dalam alkohol, bilangan ester dan analisis komponen minyak atsiri dengan menggunakan GC-MS. Hasil analisis menggunakan GC berupa kromatogram yang kemudian di *scanning* menggunakan detektor MS untuk memperoleh data spectra massa, lalu dibandingkan secara otomatis dengan database pada *Library Wiley* untuk analisis struktur kimia.

Skala data:

- Kadar air: skala rasio (Kadar air didapatkan dari hasil pengukuran menggunakan alat *moisture balance* berupa nilai persen dan nilai nol bersifat absolut).
- Persen rendemen: skala rasio (Persen rendemen didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan rumus 3.3. (halaman 40) berupa nilai persen dan nilai nol bersifat absolut).
- Total minyak: skala rasio (Total minyak didapatkan dari hasil pengukuran menggunakan gelas ukur berupa cairan dengan satuan ml dan nilai nol bersifat absolut).
- Kecerahan atau warna minyak atsiri: skala ordinal (Kecerahan atau warna minyak atsiri didapatkan dari pengamatan mata secara langsung, dan dapat dikategorikan menjadi tidak berwarna, agak kehijauan, hijau kecoklatan atau coklat).

- Berat jenis: skala rasio (Berat jenis didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus 3.4. (halaman 41) berupa angka dan nilai nol bersifat absolut).
- Indeks bias: skala rasio (Indeks bias didapatkan dari pengamatan langsung menggunakan alat refraktometer dan nilai nol bersifat absolut).
- Rotasi optik: skala rasio (Rotasi optik didapatkan dari pengamatan langsung menggunakan alat polarimeter, nilai nol bersifat absolut) dan skala nominal (jika analiser berputar berlawanan arah dengan jarum jam dari titik nol disebut *levorotatory* (-), dan jika searah dengan jarum jam disebut *dextrorotatory* (+)).
- Bilangan asam: skala rasio (Bilangan asam didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus 3.5. (halaman 43) berupa angka dan nilai nol bersifat absolut).
- Kelarutan dalam alkohol: skala rasio (Kelarutan dalam alkohol didapatkan dari pengujian dengan penambahan minyak atsiri menggunakan alkohol, dan diamati perbandingan berapa minyak atsiri larut dan nilai nol bersifat absolut).

- Bilangan ester: skala rasio (Bilangan ester didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus 3.6. (halaman 45) berupa angka dan nilai nol bersifat absolut).
- Analisis komponen minyak atsiri dengan GCMS: skala rasio (Analisis komponen minyak atsiri dengan GCMS didapatkan data berupa nama senyawa komponen minyak atsiri dan nilai persen dari masing – masing senyawa, nilai nol bersifat absolut).

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeruk purut segar yang sudah cukup tua yaitu berwarna hijau tua, dipanen pada umur 4 bulan dipetik di pagi hari jam 05.30 WIB, dan diperoleh dari Desa Dukuhkembar, daerah Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah.

3.3.2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) yang diperoleh dari kulit buah jeruk purut segar yang sudah cukup tua yaitu berwarna hijau tua, dipanen pada umur 4 bulan dipetik di pagi hari jam 05.30 WIB pada

bulan Oktober tahun 2021, dan diperoleh dari Desa Dukuhkembar, Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: rangkaian alat destilasi gelas (*Schott Duran*)), neraca analitik (*Mettler Toledo ME204E* dengan ketelitian 0,0001 g), termo piknometer (*Herka*), timbangan elektrik (YH-T6), alat gelas (*Pyrex*), polarimeter (*Atago Polax-2L*), refractometer abbe digital, buret (*Pyrex*), statif, klem, aluminium foil, vortex, GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) (*Shimadzu QP2010 SE*), spektrofotometer uv-vis (*Agilent Carry 60*), moisture balance (*Shimadzu MOC63u*), pH meter (*Mettler Toledo*).

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C), akuades (teknis), etanol absolut *for analysis*, Na_2SO_4 anhidrat *for analysis* (*Merck*), KOH *for analysis* (*Merck*), HCl 37% *for analysis* (*Merck*), indikator fenolftalein 1% *for analysis* (*Merck*), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 99,1% *for analysis* (*Merck*), Dapar ammonium asetat *for analysis* ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 98,9% (*Merck*), Larutan

neokuproin $\geq 98\%$ *for analysis* (Sigma-aldrich), Trolox 97% *for analysis* (Sigma-aldrich).

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Determinasi Tanaman

Determinasi dan identifikasi tanaman dilakukan dengan mengamati morfologi tanaman. Determinasi dan identifikasi dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.

3.5.2. Preparasi Sampel

Bahan baku kulit jeruk purut disiapkan dengan cara memisahkan kulit jeruk dari daging buah jeruk purut yang masih segar yang telah melewati sortasi basah dan pencucian, kemudian dilakukan perajangan dan segera dimasukkan ke dalam labu ekstraktor.

3.5.3. Kadar Air Kulit Jeruk Purut Segar

Kadar air bahan baku diukur menggunakan alat *moisture balance* (Ratnani *et al.*, 2015). Alat *moisture balance* memiliki prinsip seperti metode gravimetri. Tombol *on/off* pada instrument dinyalakan, kemudian piringan aluminium diletakkan di bagian tengah alat, lalu program disetting. Bahan dimasukkan ke dalam piringan aluminium untuk dilakukan penimbangan sebanyak 5 g, lalu persen kadar air akan muncul secara otomatis (Ditjen POM, 2000).

3.5.4. Pembuatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Pembuatan minyak atsiri kulit jeruk purut dilakukan dengan menggunakan metode penyulingan air dan uap (*water and steam distillation*) dilakukan sebanyak 2 kali penyulingan terhadap 6 kg jeruk purut yang masih segar dengan berat kulit jeruk purut sebesar 1.670 g. Kulit jeruk purut yang telah dirajang dimasukkan ke labu ekstraktor yang sebelumnya sudah diisi dengan akuades, lalu kulit jeruk purut diletakkan di atas penahan (angsan) sehingga bagian kulit jeruk dan air tidak bersentuhan, kemudian akuades dipanaskan dengan menggunakan kompor listrik, lalu kran air dinyalakan dan disalurkan ke tabung bagian luar kondensor. Kulit jeruk purut disuling dengan suhu 100°C selama 7 jam (Hidayati, 2012). Uap air dan minyak atsiri ditunggu hingga keluar, kemudian dialirkan menuju ke kondensor, lalu dihitung waktu mulai minyak atsiri yang menetes pertama dari kondensor, dan ditampung ke erlenmeyer. Fase minyak dan air dipisahkan menggunakan corong pisah (Yuliarto *et al.*, 2012). Minyak atsiri ditambahkan dengan Na_2SO_4 anhidrat untuk mengurangi kadar air dalam minyak atsiri, dan Na_2SO_4 anhidrat dipisahkan dengan minyak atsiri dengan cara disaring (Anggraini *et al.*, 2018).

3.5.5. Uji Antioksidan dengan Metode CUPRAC

3.5.5.1. Pembuatan Larutan Reagen CUPRAC

Larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ konsentrasi 0,01 M dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,1704 g dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan menggunakan akuades sampai tanda batas. Dapar ammonium asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M pH 7,0 dibuat dengan menimbang 7,7082 g dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian dapar ammonium asetat dilarutkan menggunakan akuades sampai tanda batas. Larutan neokuproin dengan konsentrasi 0,0075 M dibuat dengan menimbang sebanyak 0,0780 g neokuproin dalam 50 ml etanol 96% (Apak *et al.*, 2007).

3.5.5.2. Pembuatan Larutan Troloks

Troloks digunakan sebagai kontrol positif. Larutan induk troloks 100 ppm dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg, dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian dilarutkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas. Larutan seri troloks dibuat dengan konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; dan 50 ppm dengan cara memipet larutan induk menggunakan pipet ukur masing – masing 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml, kemudian larutan seri trolox

dimasukkan kedalam labu takar 10,0 ml dan dilarutkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas, serta direplikasi sebanyak 3 kali (Awaluddin and Sri, 2019).

3.5.5.3. Pembuatan Larutan Sampel Minyak Atsiri

Sampel yang digunakan adalah minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C). Larutan induk sampel minyak atsiri dibuat dengan cara menimbang 25 mg minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C), lalu dimasukkan ke labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 250 ppm, kemudian buat larutan seri dalam konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; 50 ppm dengan cara memipet larutan induk menggunakan pipet ukur masing – masing 0,4 ml; 0,8 ml; 1,2 ml; 1,6 ml dan 2 ml, kemudian dimasukkan ke labu takar 10,0 ml dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas, serta direplikasi sebanyak 3 kali (Awaluddin and Sri, 2019).

3.5.5.4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan blanko. Blanko yang digunakan terbuat dari campuran larutan reagen CUPRAC yaitu 1 ml larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M, kemudian ditambah 1 ml dapar ammonium asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M pH 7,0, lalu ditambah 1 ml larutan

neokuproin dengan konsentrasi 0,0075 M dan 0,6 ml akuades, tanpa sampel minyak atsiri maupun larutan troloks (Maryam *et al.*, 2015). Blanko dimasukkan dalam tabung reaksi dalam keadaan tanpa terkena cahaya dan pada suhu kamar (Awaluddin and Sri, 2019). Absorbansi blanko diukur dengan panjang gelombang 400-600 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum (Ramadhan *et al.*, 2020)

3.5.5.5. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan kontrol positif troloks 0,5 ml dengan konsentrasi 10 ppm direaksikan dengan reagen CUPRAC yaitu 1 ml larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1 ml dapar ammonium asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M pH 7,0, lalu ditambah 1 ml larutan neokuproin dengan konsentrasi 0,0075 M dan ditambahkan 0,6 ml akuades, kemudian didiamkan dalam keadaan tanpa cahaya pada suhu ruang dan diamati absorbansinya dengan panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 (Widyowati *et al.*, 2014).

3.5.5.6. Penentuan Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) Larutan Troloks dan Sampel Minyak Atsiri

Larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambah 1 ml dapar

ammonium asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M pH 7,0, kemudian ditambah 1 ml larutan neokuproin dengan konsentrasi 0,0075 M, dan ditambah 0,5 ml larutan seri masing – masing konsentrasi dari larutan seri troloks maupun sampel minyak atsiri, serta ditambahkan 0,6 ml akuades (total larutan 4,1 ml) dimasukkan dalam tabung reaksi yang ditutup dengan aluminium foil (Maryam *et al.*, 2015). Larutan didiamkan selama beberapa waktu sesuai dengan hasil penentuan waktu inkubasi pada poin 3.5.5.5. dalam keadaan tanpa terkena cahaya pada suhu kamar (Awaluddin and Sri, 2019). Absorbansi larutan seri troloks maupun larutan sampel minyak atsiri diukur dengan panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari poin 3.5.5.4.

Absorbansi yang diperoleh dihitung % penghambatan dari sampel minyak atsiri maupun larutan troloks dengan menggunakan rumus 3.1.

$$\% \text{ inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \right) \times 100\% \quad \text{.....Rumus 3.1.}$$

Penentuan nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan dari persamaan regresi linier, dimana persamaan regresi linier diperoleh dari kurva antara konsentrasi sampel (X) dan %

inhibisi CUPRAC (Y). Persamaan regresi linier sebagai berikut:

$$Y = BX + A \quad \text{.....Rumus 3.2.}$$

Nilai IC₅₀ dihitung dari persamaan regresi linier dengan nilai Y = 50, dikarenakan IC₅₀ adalah konsentrasi ekstrak yang dapat menangkal oksidasi radikal sebanyak 50% (Julizan *et al.*, 2019).

3.5.6. Karakterisasi

3.5.6.1. Persen Rendemen dan Total Minyak

Hasil minyak atsiri kulit jeruk purut yang sudah terkumpul, kemudian dihitung persen rendemen menggunakan rumus 3.3.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{minyak atsiri yang dihasilkan (ml)}}{\text{bobot bahan baku yang digunakan (gr)}} \times 100\% \quad \text{.....Rumus 3.3.}$$

3.5.6.2. Kecerahan atau Warna Minyak Atsiri

Sampel minyak atsiri dipipet sebanyak 10 ml, dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tabung reaksi disandarkan pada kertas karton putih dan dilakukan pengamatan secara langsung dengan jarak 30 cm. Hasil dinyatakan sesuai dengan warna sampel minyak atsiri yang diamati (Abraham *et al.*, 2019).

3.5.6.3. Uji Berat Jenis

Piknometer dicuci dan dibersihkan, lalu dibilas berturut – turut menggunakan alkohol dan eter, lalu dikering, kemudian termo piknometer diisi menggunakan air suling bersuhu 25° C dan tutup disisipkan. Bagian luar termo piknometer dikeringkan menggunakan kain bersih, dan didiamkan selama 30 menit dalam lemari timbangan dan ditimbang (m_1). Kemudian termo piknometer dikeringkan, lalu dibilas beberapa kali menggunakan alkohol dan eter berturut – turut, tunggu hingga kering, lalu dimasukkan ke dalam lemari timbangan, tunggu selama 30 menit dan timbang (m).

Piknometer dibersihkan, dicuci dengan alkohol dan eter, lalu ditunggu hingga kering, kemudian termo piknometer diisi menggunakan minyak atsiri bersuhu 25°C, dan tutup disisipkan. Bagian luar termo piknometer dikeringkan menggunakan kain bersih, dan didiamkan selama 30 menit dalam lemari timbangan dan ditimbang (m_2) (Anggraini *et al.*, 2018). Lalu dihitung menggunakan rumus 3.4.

$$\text{Berat jenis} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \quad \text{.....Rumus 3.4.}$$

Keterangan:

- m : Berat piknometer kosong (g)
- m_1 : Berat piknometer dan air suling (g)
- m_2 : Berat piknometer dan sampel (g)

3.5.6.4. Uji Indeks Bias

Indeks bias diukur menggunakan alat refraktometer yaitu pertama alat ditempatkan pada tempat yang memiliki pencahayaan yang bagus, dapat berasal dari sinar matahari atau sinar buatan, kemudian air bersuhu 20°C dialirkan ke dalam refraktometer, lalu dibersihkan dengan menggunakan alkohol dan eter. Sampel minyak atsiri dimasukkan kedalam refraktometer, sampel minyak atsiri harus bersuhu 20°C , lalu dilakukan gerakan maju mundur sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap, kemudian dilakukan pembacaan (Anggraini *et al.*, 2018).

3.5.6.5. Uji Rotasi Optik

Rotasi optik diukur menggunakan alat polarimeter yaitu sumber cahaya dinyalakan, kemudian tabung polarimeter 100 mm yang berisi sampel minyak atsiri yang sebelumnya telah bersuhu 25°C ditempatkan dibawah alat polaliser dan analiser. Perlahan analiser diputar sampai setengahnya dapat dilihat melalui teleskop, lalu dilakukan pengamatan pada arah rotasi, jika analiser berputar berlawanan arah dengan jarum jam dari titik nol disebut *levorotatory* (-), dan jika searah dengan jarum jam disebut *dextrorotatory* (+) (Anggraini *et al.*, 2018).

3.5.6.6. Penetapan Bilangan Asam

Bilangan asam ditentukan dengan cara minyak atsiri ditimbang sebanyak 4 g dan dimasukkan kedalam erlemneyer 100 ml, lalu ditambahkan dengan etanol 96% 5 ml dan 5 tetes indikator fenolftalein 1%, kemudian dititrasi menggunakan larutan standar KOH 0,1 N sampai titrat berwarna merah muda yang pertama kali muncul dan tidak hilang dalam 10 detik, yang berarti menunjukkan akhir titrasi (Abraham *et al.*, 2019). Hasil yang didapat kemudian dihitung menggunakan rumus 3.5.

$$\text{Bilangan asam} = \frac{56,1 \times V \times N}{m} \quad \text{.....Rumus 3.5.}$$

Keterangan:

56,1 : Bobot setara KOH
 V : Volume larutan KOH yang dibutuhkan (ml)
 N : Normalitas larutan KOH (N)
 m : Berat sampel minyak yang digunakan (g)

3.5.6.7. Uji Kelarutan dalam Alkohol

Uji kelarutan dalam alkohol dilakukan dengan cara minyak atsiri sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang ditutup dengan aluminium foil, kemudian perlahan alkohol dengan konsentrasi tertentu ditambahkan kedalam tabung reaksi, dalam penelitian ini penulis menggunakan alkohol 96% tetes demi tetes kemudian dikocok, lalu dicatat volume dimana terjadi perubahan larutan menjadi jernih, jika

sampai volume 10 ml tidak terjadi perubahan maka dapat digunakan konsentrasi alkohol yang lebih tinggi (Abraham *et al.*, 2019).

3.5.6.8. Penetapan Bilangan Ester

Bilangan ester ditentukan dengan cara pengujian blanko dan pengujian sampel minyak atsiri. Pengujian blanko dilakukan dengan menyiapkan batu didih, lalu dimasukkan kedalam labu penyabunan, kemudian etanol 5 ml dan 25 ml larutan KOH 0,5 N ditambahkan, lalu direfluks selama 1 jam menggunakan penangas air, dan didiamkan hingga dingin, selanjutnya kondensor refluks dilepas dan 5 tetes indikator fenolftalein ditambahkan, kemudian dilakukan titrasi dengan larutan HCl 0,5 N hingga terjadi perubahan warna. Minyak atsiri ditimbang sebanyak 4 g dan dimasukkan kedalam labu penyabunan untuk pengujian sampel, lalu beberapa batu didih dan 25 ml larutan KOH 0,5 N ditambahkan kedalam labu penyabunan dan refluks selama 1 jam menggunakan penangas air. Labu penyabunan didiamkan hingga dingin, kemudian kondensor refluks dilepas dan 5 tetes indikator fenolftalein ditambahkan dan dititrasi dengan larutan HCl 0,5 N hingga terjadi perubahan warna (Abraham *et al.*, 2019). Hasil kemudian dihitung dengan menggunakan rumus 3.6.

$$\text{Bilangan ester} = \frac{56,1 (V_1 - V_0) N}{m} \quad \dots \text{Rumus 3.6.}$$

Keterangan:

56,1 : Bobot setara KOH

V_1 : Volume larutan HCl yang dibutuhkan dalam penentuan blanko (ml)

V_0 : Volume larutan HCl yang dibutuhkan dalam penentuan sampel (ml)

N : Normalitas larutan HCl (N)

m : Berat sampel minyak yang digunakan (g)

3.5.7. Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

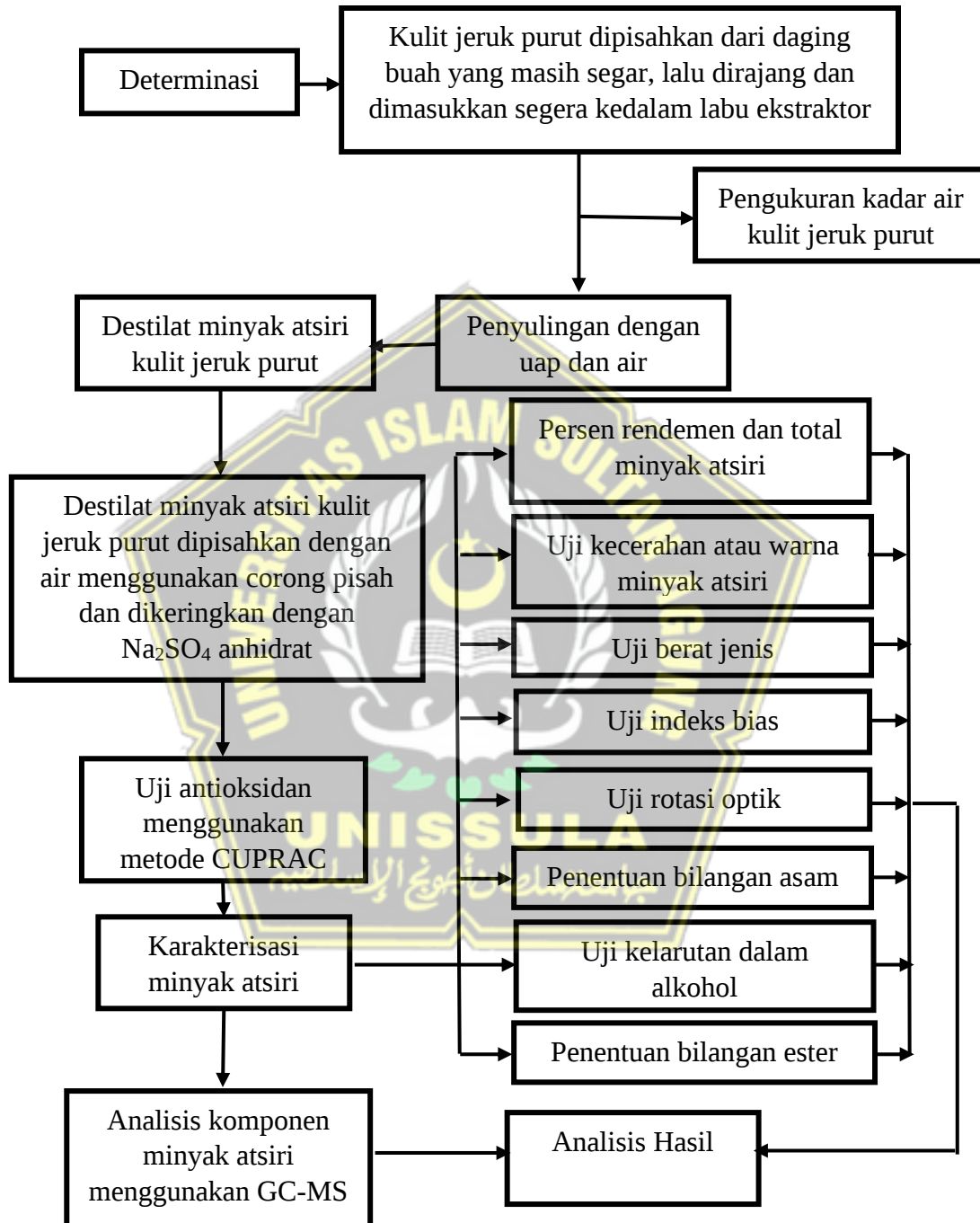
Analisis komponen minyak atsiri yang diperoleh dari kulit jeruk purut dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia Yogyakarta dengan menggunakan instrument GC-MS tipe Shimadzu QP2010 SE dengan kondisi yang dapat dilihat pada tabel 3.1.

Sampel diinjeksikan, kemudian sampel berpindah melalui kolom yang berisi fase diam, dan terelusi oleh fase gerak dari ujung kolom kemudian menuju ke detektor dan hasil pemisahan dalam bentuk kromatogram. Kromatogram yang dihasilkan kemudian di *scanning* menggunakan detektor MS untuk memperoleh data spectra massa, lalu dibandingkan dengan database pada *library wiley* untuk analisis struktur kimia (Warsito *et al.*, 2017).

Tabel 3.1. GC-MS tipe Shimadzu QP2010 SE

Kondisi		
Kolom		Rtx-5MS (5% diphenyl / 95% dimethyl polysiloxane)
Panjang		30m
Diameter		0,25 mm
Tebal		0,25 µm
Gas pembawa		helium
Suhu kolom maksimal		330°C
[GC-2010]		
Column Temperature	Oven	60,0 °C
Injection Temperature		200,00 °C
Injection Mode		Split
Flow Control Mode		Pressure
Pressure		36,2 kPa
[MS Table]		
Start Time		0,00 menit
End Time		19,00 menit
ACQ Mode		Scan
Event Time		0,30 sec
Scan Speed		1250 Start
m/z		40,00
End m/z		400,00

3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu

3.7.1. Tempat

Penelitian dilakukan diberbagai tempat. Tempat penelitian dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.2. Tempat Penelitian

Kegiatan	Tempat
Determinasi	Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
Penyulingan minyak atsiri kulit jeruk purut, perhitungan rendemen dan total minyak, uji kecerahan warna, uji berat jenis, uji kelarutan dalam alkohol, penentuan bilangan asam, penentuan bilangan ester.	<i>Integrated Biomedical Laboratory (IBL)</i> Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
Uji indeks bias dan uji rotasi optik	<i>Center Of Essential Oil Studies (CEOS)</i> Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
Analisis komponen minyak atsiri kulit jeruk purut dengan GCMS	Laboratorim Terpadu Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

3.7.2. Waktu

Penelitian dilakukan dari bulan Oktober 2021 hingga bulan Februari 2022.

3.8. Analisis Hasil

Data aktivitas antioksidan dianalisis secara statistik. Nilai IC_{50} dari sampel minyak atsiri dan trolox yang didapatkan kemudian diuji normalitas dan homogenitasnya dengan *Shapiro-Wilk* dan *Levene Test* karena hasil tidak terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan uji analisis non parametrik yaitu *Mann Whitney* dengan tingkat kepercayaan $p \leq 0,05$ (95%). Data karakteristik

minyak atsiri kulit jeruk purut antara lain persen rendemen, total minyak, kecerahan atau warna minyak atsiri, uji berat jenis, indeks bias, rotasi optik, penetapan bilangan asam, kelarutan dalam alkohol, penetapan bilangan ester, analisis komponen minyak atsiri menggunakan GCMS, data karakteristik tersebut merupakan data kuantitatif yang dianalisis menggunakan metode deskriptif yaitu dengan mengukur indikator variabel penelitian, sehingga didapatkan gambaran variabel dalam bentuk angka bermakna yang diperoleh dari pengamatan langsung peneliti.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan selama 5 bulan dari bulan Oktober 2021 sampai Februari 2021 di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, Laboratorim Terpadu Universitas Islam Indonesia Yogyakarta, *Center Of Essential Oil Studies* (CEOS) Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai IC₅₀ menggunakan metode CUPRAC dan karakteristik dari minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C), yang meliputi beberapa tahap, yaitu determinasi tanaman jeruk purut, pengukuran kadar air kulit jeruk segar, penyulingan, perhitungan persen rendemen dan total minyak, uji kecerahan atau warna minyak atsiri, uji berat jenis, uji indeks bias, uji rotasi optik, penetapan bilangan asam, kelarutan dalam alkohol, penetapan bilangan ester, analisis komponen minyak atsiri kulit jeruk purut dengan GCMS, dan uji antioksidan metode CUPRAC.

4.1.1. Determinasi Tanaman Jeruk Purut

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, hasil dapat dilihat pada Lampiran

1. Hasil determinasi menyatakan bahwa kulit jeruk purut yang

digunakan dan diteliti benar dari spesies *Citrus hystrix* D.C. dengan

Vern. Name Jeruk Purut/*Caffir lime*.

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida

SubClassis : Rosidae

Ordo : Sapindales

Familia : Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : *Citrus hystrix* D.C.

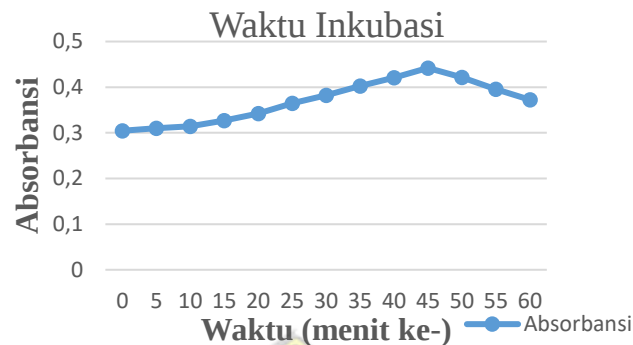
Vern. name : Jeruk Purut/*Caffir lime*

4.1.2. Kadar Air Kulit Jeruk Purut

Hasil uji kadar air bahan baku kulit jeruk purut segar didapatkan nilai 50,17 % dan dapat dilihat pada lampiran 2.

4.1.3. Hasil Uji Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut Metode CUPRAC

Hasil uji antioksidan CUPRAC minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan hasil nilai IC_{50} sebesar 23,4182 ppm, nilai IC_{50} kontrol 53,8605 ppm dengan panjang gelombang sebesar 447 nm dan waktu inkubasi yang dapat dilihat pada tabel 4.1. dan lampiran 3.

Tabel 4.1. Waktu Inkubasi

4.1.1. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Antioksidan

Hasil analisis statistik aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dan trolox dapat dilihat pada tabel 4.2.; 4.3.; 4.4. dan lampiran 4.

Tabel 4.2. Hasil uji normalitas aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan trolox (*Shapiro-Wilk*)

Sampel	Nilai signifikansi	Keterangan
Minyak atsiri kulit jeruk purut	0,023	Tidak normal
Trolox	0,106	Normal

Tabel 4.3. Hasil uji homogenitas aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dan trolox (*Levene Test*)

Sampel	Nilai signifikansi	Keterangan
Minyak atsiri kulit jeruk purut	0,127	Homogen
Trolox	0,127	Homogen

Hasil uji normalitas menunjukkan distribusi salah satu data tidak normal dibuktikan dengan nilai signifikansi data sampel minyak atsiri kulit jeruk purut $0,023 < 0,05$. Hasil uji homogenitas menunjukkan sebaran data sampel homogen dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,127

$>0,05$, karena terdapat data yang tidak normal, maka dilanjutkan uji non parametrik yaitu *Mann Whitney* dengan kepercayaan $p \leq 0,05$.

Tabel 4.4. Uji non parametrik *Mann Withney*
Mann Withney

	ic50
Nilai Signifikansi	.050

4.1.2. Hasil Persen Rendemen dan Organoleptis Minyak Atsiri Kulit

Jeruk Purut

Hasil persen rendemen dan organoleptis minyak atsiri kulit jeruk purut dapat dilihat pada tabel 4.5. dan lampiran 5.

Tabel 4.5. Hasil Persen Rendemen dan Organoleptis Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

No.	Waktu Penyulingan	Berat kulit jeruk	Minyak yang dihasilkan	Persen rendemen	Organoleptis	
					Aroma	Kecerahan atau warna
1.	13 Oktober 2021	830 g	13 ml	1,5662%	Khas aromatik	Tidak berwarna
2.	14 Oktober 2021	840 g	18,1 ml	2,1547%	kulit jeruk purut	Tidak berwarna
Jumlah		1.670 g	31,1 ml			
Rata-rata				1,8604%		

4.1.3. Hasil Uji Berat Jenis

Hasil uji berat jenis minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan hasil 0,84028 g/ml pada suhu 25°C dapat dilihat pada tabel 4.6. dan lampiran 6.

Tabel 4.6. Berat Jenis Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Replikasi	Berat piknometer kosong (g)	Berat piknometer dan air suling (g)	Berat piknometer dan sampel (g)	Berat jenis (g/ml)
1	35,4006	60,9629	56,8804	0,84029
2	35,4006	60,9630	56,8803	0,84028
3	35,4007	60,9629	56,8805	0,84029
Rata – rata				0,84028

4.1.4. Hasil Uji Indeks Bias

Hasil uji indeks bias minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan

hasil 1,4710 suhu 20° C dapat dilihat pada tabel 4.7. dan lampiran 7.

Tabel 4.7. Indeks Bias Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Replikasi	Indeks bias minyak atsiri kulit jeruk purut	Suhu (°C)
1	1,4710	20
2	1,4710	20
3	1,4711	20
Rata – rata	1,4710	20

4.1.5. Hasil Uji Rotasi Optik

Hasil uji rotasi optik minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan

hasil +12,70, dapat dilihat pada lampiran 7.

4.1.6. Hasil Penentuan Bilangan Asam

Penetapan bilangan asam minyak atsiri mendapatkan hasil

sebesar 0,8415 pada lampiran 8.

4.1.7. Hasil Uji Kelarutan dalam Alkohol

Hasil uji kelarutan dalam alkohol minyak atsiri kulit jeruk purut

didapatkan hasil larut 1:6 Alkohol 90%, gambar dapat dilihat pada

lampiran 9.

4.1.8. Hasil Penentuan Bilangan Ester

Hasil penetapan bilangan ester minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan hasil sebesar 19,635 dan dapat dilihat pada lampiran 10.

4.1.9. Analisis Hasil Karakteristik Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Analisis hasil karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut dan parameternya dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8. Analisis Hasil Karakteristik Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

No.	Jenis Uji	Hasil	Parameter	Asal Parameter	Memenuhi Syarat	
					Ya	Tidak
1.	Persen Rendemen	1,8604%	Minimal 1,42%	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	Ya	
2.	Kecerahan atau Warna	Tidak Berwarna	tidak berwarna atau berwarna bening	Parameter dari minyak atsiri kulit jeruk bali	Ya	
3.	Berat Jenis	0,84028 g/ml pada suhu 25°C	0,837-0,845 g/ml	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	Ya	
4.	Indeks Bias	1,4710 pada suhu 20°C	1,4686-1,4763	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi	Ya	
5.	Rotasi Optik	+12,70	+9° sampai +17°	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi	Ya	
6.	Bilangan Asam	0,8415	0,82-2,39	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	Ya	
7.	Kelarutan dalam Alkohol	larut 1:6 Alkohol 90%	larut 1:6 dalam alkohol 90%	Parameter dari kandungan senyawa tertinggi (β -pinene)	Ya	
8.	Bilangan Ester	19,635	18,09-33,77	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut	Ya	

4.1.10. Hasil Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut dengan GCMS

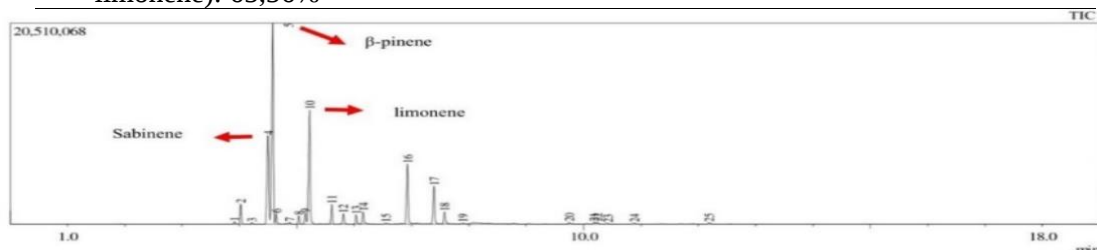
Analisis komponen minyak atsiri dengan GCMS menyatakan bahwa minyak atsiri kulit jeruk purut mengandung sekitar 25 komponen yang telah diinterpretasikan berdasarkan *Standart Library Wiley* dapat dilihat pada tabel 4.9., dimana terdapat 3 komponen senyawa tertinggi secara berturut – turut yaitu β -Pinene, Limonene, dan Sabinene dengan waktu retensi 4.582, 5.220, dan 4.497 yang dapat dilihat pada gambar 4.1 Spektrum GCMS minyak atsiri kulit jeruk purut dapat dilihat pada lampiran 11. serta struktur tiga senyawa tertinggi minyak atsiri kulit jeruk purut dapat dilihat pada gambar 4.2. Spektrum puncak tiga senyawa tertinggi minyak atsiri kulit jeruk purut dan database *wiley* senyawa sabinene, β -Pinene, dan Limonene dapat dilihat pada gambar 4.3.; 4.4.;4.5.;4.6.;4.7.; dan 4.8.

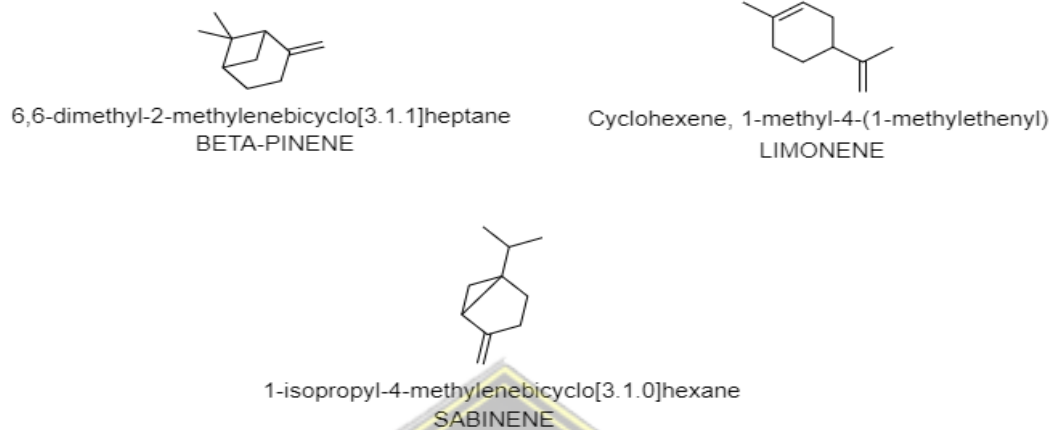
Tabel 4.9. Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

No.	Nama Senyawa	Rumus Molekul	% Area	R. Time	Golongan
1.	α -Thujene	$C_{10}H_{16}$	0,28	3,911	MH
2.	α -Pinene	$C_{10}H_{16}$	2,52	4,018	MH
3.	Camphene	$C_{10}H_{16}$	0,22	4,212	MH
4.	Sabinene	$C_{10}H_{16}$	15,17	4,497	MH
5.	β-Pinene	$C_{10}H_{16}$	32,04	4,582	MH
6.	β -Myrcene	$C_{10}H_{16}$	1,22	4,638	MH
7.	l-Phellandrene	$C_{10}H_{16}$	0,25	4,875	MH
8.	α -Terpinene	$C_{10}H_{16}$	1,17	5,032	MH
9.	β -Cimene	$C_{10}H_{14}$	1,58	5,146	MH
10.	Limonene	$C_{10}H_{16}$	18,35	5,220	MH
11.	γ -Terpinene	$C_{10}H_{16}$	2,69	5,606	MH
12.	Linalool Oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	1,47	5,807	MO
13.	Allo ocimene	$C_{10}H_{16}$	1,42	6,033	MH
14.	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	1,92	6,155	MO
15.	Cis-Sabinene hydrate	$C_{10}H_{18}O$	0,18	6,550	MO
16.	Citronellal	$C_{10}H_{18}O$	9,55	6,927	MO
17.	Terpinene-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	6,30	7,392	MO
18.	α -Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	2,07	7,575	MO
19.	Cyclopentyl acetone	$C_8H_{14}O$	0,15	7,894	MO
20.	Citronellyl acetate	$C_{12}H_{22}O_2$	0,29	9,748	MO
21.	Geranyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	0,28	10,181	MO
22.	α -Copaene	$C_{15}H_{24}$	0,30	10,239	MH
23.	Germacrene -D	$C_{15}H_{24}$	0,12	10,420	MH
24.	γ -Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	0,19	10,886	MH
25.	δ -Cadinene	$C_{15}H_{24}$	0,27	12,191	MH
Total			100,00		

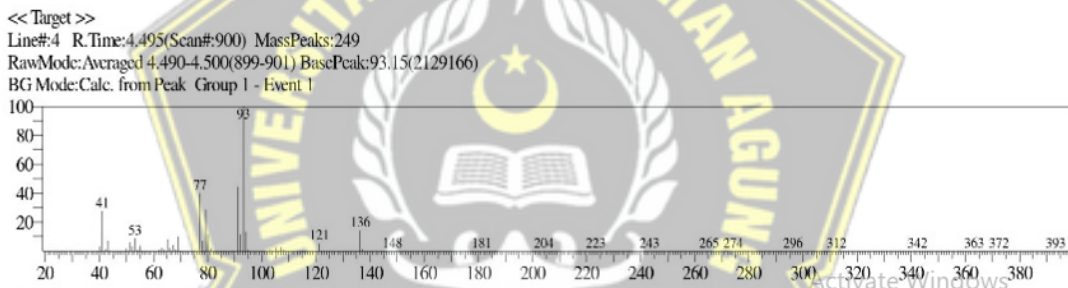
Keterangan:

- Monoterpen Hidrokarbon (MH): 77,79%
- Monoterpen Oksigenasi (MO): 22,21%
- Total tiga senyawa tertinggi (sabinene, β -pinene, limonene): 65,56%

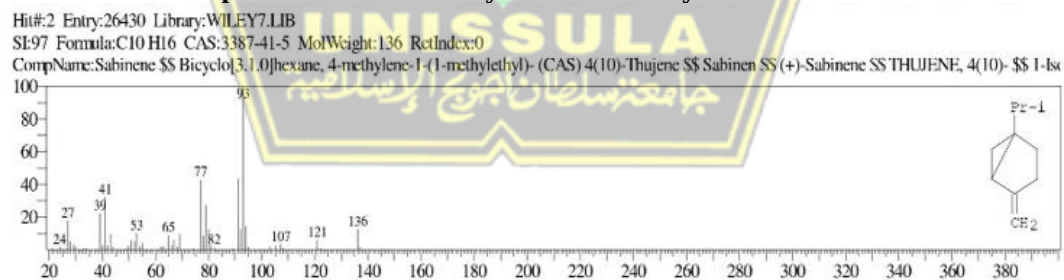
**Gambar 4.1. Spektrum GCMS Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut**



Gambar 4.2. Struktur Tiga Senyawa Tertinggi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut



Gambar 4.3. Spektrum Puncak Senyawa No. 4 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut



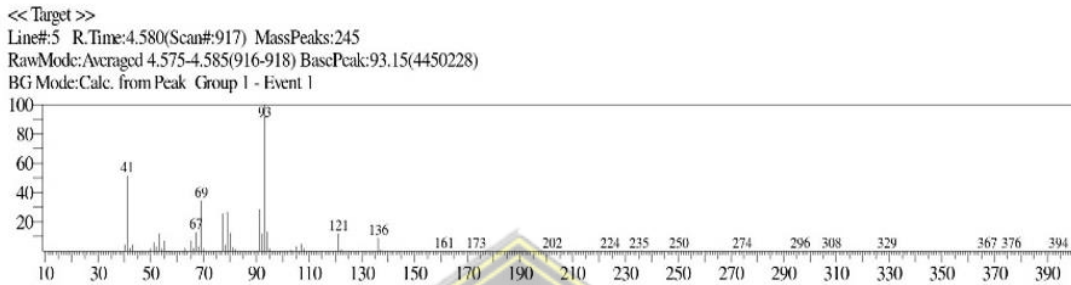
Gambar 4.4. Database Wiley Senyawa Sabinene

Gambar 4.3. adalah spektrum puncak senyawa No. 4 Minyak Atsiri Kulit

Jeruk Purut, dan gambar 4.4. adalah spektrum database wiley senyawa sabinene.

Berdasarkan fragmentasinya, gambar 4.3. spektrum puncak senyawa mengacu pada spektrum senyawa Sabinene dan memiliki BM pada m/z 136 dengan rumus molekul

$C_{10}H_{16}$. Puncak fragmentasi yang muncul adalah m/z 136, 121, 93, 73, 53, dan 41, dan puncak massa ion senyawa sabinene m/z 136.

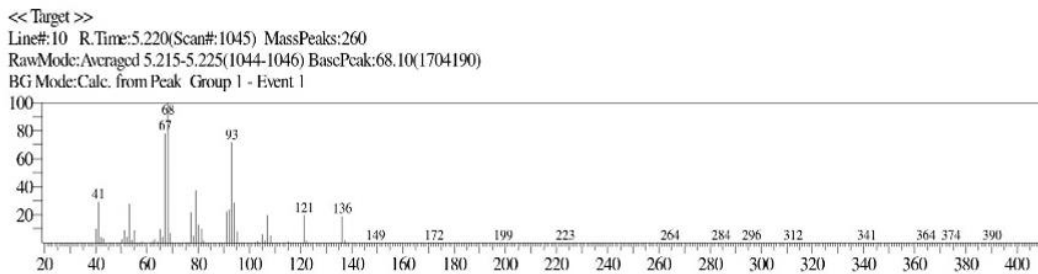


Gambar 4.5. Spektrum Puncak Senyawa No. 5 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

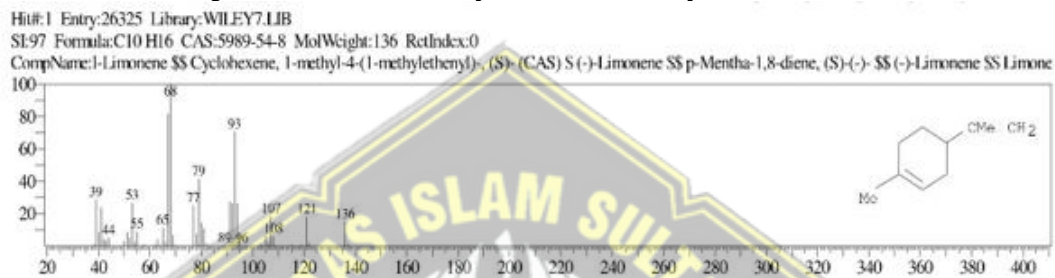


Gambar 4.6. Database Wiley Senyawa β -pinene

Gambar 4.5. adalah spektrum puncak senyawa No. 5 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut, dan gambar 4.6. adalah spektrum database wiley senyawa β -pinene. Berdasarkan fragmentasinya, gambar 4.3. spektrum puncak senyawa mengacu pada spektrum senyawa β -pinene dan memiliki BM pada m/z 136 dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$. Puncak fragmentasi yang muncul adalah m/z 136, 121, 93, 69, 67 dan 41, dan puncak massa ion senyawa β -pinene m/z 136.



Gambar 4.7. Spektrum Puncak Senyawa No. 10 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut



Gambar 4.8. Database Wiley Senyawa Limonene

Gambar 4.7. adalah spektrum puncak senyawa No. 10 Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut, dan gambar 4.8. adalah spektrum database wiley senyawa limonene. Berdasarkan fragmentasinya, gambar 4.8. spektrum puncak senyawa mengacu pada spektrum senyawa Limonene dan memiliki BM pada m/z 136 dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$. Puncak fragmentasi yang muncul adalah m/z 136, 121, 93, 77, 65, dan 41, dan puncak massa ion senyawa Limonene m/z 136.

4.2. Pembahasan

4.2.1. Determinasi Tanaman Jeruk Purut

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian yang diperoleh dari Desa

Dukuhkembar, Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah merupakan tanaman jeruk purut spesies *Citrus hystrix* D.C dengan Vern. Name Jeruk Purut/*Caffir lime*. Determinasi tanaman dilakukan untuk mendapatkan kebenaran informasi klasifikasi tanaman dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan mencegah terjadinya kesalahan dalam pengambilan dan pengumpulan bahan baku penelitian (Diniatik, 2015).

4.2.2. Penyulingan Minyak Atsiri dan Uji Kadar Air Simplisia

Minyak atsiri kulit jeruk purut diperoleh menggunakan metode penyulingan air dan uap (*water and steam distillation*) karena memiliki nilai rendemen besar, dan kualitas minyak lebih baik daripada secara *water distillation* Ariyani *et al.* (2008), karena Yuliarto *et al.* (2012), menyebutkan bahwa penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*) menggunakan suhu dan tekanan proses yang relatif tinggi, sehingga sedikit atau bahkan tidak ada minyak atsiri yang bercampur dengan air dan senyawa yang terekstrak lebih lengkap. Jeruk purut segar yang telah dipanen, dilakukan sortasi basah dan pencucian untuk menghilangkan bagian yang tidak diperlukan serta kotoran yang melekat pada bahan baku (Wahyuni *et al.*, 2014). Kulit buah dipisahkan dari daging jeruk purut karena bagian yang digunakan hanya kulit buah saja. Bagian yang digunakan dalam penelitian adalah kulit jeruk purut segar yang sudah cukup tua yaitu berwarna hijau tua, dipetik dipagi hari. Menurut Zamzamiyah and Ashari (2020), jeruk purut yang tua dapat

menghasilkan minyak atsiri yang baik. Semakin tua buah dan daun, maka minyak yang dihasilkan semakin baik. Waktu panen sebaiknya dilakukan pagi dan sore hari, dan tidak dilakukan pada siang hari, karena dapat terjadi penguapan oleh sinar matahari, sehingga minyak atsiri dalam buah segar berkurang (Novadila *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian (Novadila *et al.*, 2019), rata – rata nilai rendemen daun jeruk purut yang dipanen pada pagi hari yaitu 0,74%. Rata – rata nilai rendemen daun jeruk purut yang dipanen pada siang hari yaitu 0,55%, maka waktu pemanenan sangat berpengaruh terhadap nilai rendemen (Safitri *et al.*, 2019). Kulit jeruk purut dirajang karena kulit jeruk purut agak berserat, maka perlu dilakukan perajangan untuk memperluas permukaan kelenjar minyak yang kontak dengan uap dari proses penyulingan, sehingga mudah mengalami proses pengupuan minyak atsiri (Ma'mun, 2014).

Pada penelitian ini digunakan jeruk purut segar dengan total berat sebanyak 6 kg dan menghasilkan kulit jeruk purut segar sebanyak 1.670 g. Kulit jeruk purut segar disuling sebanyak 2 kali selama 7 jam dengan suhu 100°C hingga kulit jeruk purut tidak meneteskan minyak atsiri dari dalam kondensat. Minyak atsiri yang telah ditampung kemudian di tambahkan dengan Na_2SO_4 anhidrat untuk mengurangi kadar air yang mungkin tercampur dalam minyak atsiri, dari proses penyulingan ini, minyak atsiri yang dihasilkan total sebanyak 31,1 ml,

dengan rata – rata persen rendemen 1,86045%. Berdasarkan penelitian Hidayati (2012), penyulingan minyak atsiri kulit jeruk pontianak dengan metode uap langsung selama 7 jam dengan suhu 100°C, menghasilkan minyak atsiri sebanyak 82,6 ml dengan nilai rendemen 1,652%. Jumlah minyak yang dihasilkan sangat berbeda karena pada kulit jeruk pontianak dilakukan perlakuan terlebih dahulu sebelum disuling yaitu dikeringkan.

Uji kadar air simplisia kulit jeruk purut segar didapatkan hasil sebesar 50,17%. Selain lamanya penyulingan, kadar air pada bahan baku juga mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Suryanto *et al.* (2017) menyatakan bahwa hasil rendemen minyak dapat ditentukan dari kadar air pada proses pengeringan, dimana hasil rendemen minyak yang rendah terjadi karena bahan baku mengandung air berlebih sehingga dinding sel menjadi tebal, lalu air pada dinding sel menguap terlebih dahulu, kemudian barulah minyak atsiri, dan hal ini berpengaruh juga pada lamanya waktu penyulingan.

4.2.3. Hasil Uji Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut Metode CUPRAC

Pengujian aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut kali ini dilakukan menggunakan metode CUPRAC karena regaen lebih stabil, mudah dipraktikkan dalam labortorium, mengukur antioksidan

hidrofilik dan lipofilik bersamaan, cukup cepat dalam mengoksidasi antioksidan tiol (Karadag *et al.*, 2009).

Berdasarkan penelitian Awaluddin and Sri (2019), panjang gelombang maksimum metode CUPRAC yang didapatkan adalah 452 nm, sedangkan hasil pengujian aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dengan metode CUPRAC didapatkan nilai panjang gelombang sebesar 447 nm, nilai ini tidak jauh berbeda, karena pembacaan panjang gelombang dilakukan pada rentang 400-600 nm (Ramadhan *et al.*, 2020). Pengujian kali ini digunakan Trolox sebagai kontrol positif dan minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai sampel. Trolox adalah antioksidan derivat vitamin E, dimana berupa serbuk putih yang mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari BHT, BHA, dan α - tokoferol, serta sering digunakan sebagai pembanding kontrol positif (Haeria *et al.*, 2018). Sebelum dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer UV – Vis, dilakukan penentuan waktu inkubasi dengan tujuan untuk mengetahui waktu maksimal saat nilai absorbansi stabil dari reaksi antara reagen dengan sampel (Suharyanto and Prima, 2020). Waktu inkubasi yang diperoleh adalah selama 45 menit, sedangkan menurut penelitian Awaluddin and Sri (2019), waktu inkubasi yang didapatkan adalah selama 1 jam. Hal ini dapat saja berbeda karena antioksidan yang digunakan memerlukan suhu inkubasi yang sedikit lebih tinggi untuk melakukan proses oksidasi

dengan reagen CUPRAC (Özyürek *et al.*, 2011). Penentuan waktu inkubasi dilakukan untuk melihat seberapa lama sampel dengan reagen dapat bereaksi secara maksimal. Reagen CUPRAC dengan sampel akan berubah warna dari biru menjadi kuning jika sampel memiliki aktivitas antioksidan (Ramadhan *et al.*, 2020).

Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan metode CUPRAC, nilai IC_{50} trolox pengujian dari replikasi 1 sampai 3 dengan literatur sama – sama dalam kategori kuat secara berturut – turut yaitu sebesar 52,9741 ppm; 54,3463 ppm; 54,2613 ppm (rata – rata 53,8605 ppm) dan 97,8 ppm (Awaluddin and Sri, 2019). Nilai IC_{50} minyak atsiri kulit jeruk purut dengan pengujian dari replikasi 1 sampai 3 juga dalam kategori yang sama yaitu sangat kuat dengan nilai IC_{50} berturut – turut 21,5250 ppm; 24,3846 ppm; 24,3452 ppm (rata – rata 23,4182 ppm) dan 6,43 ppm dengan metode DPPH (Warsito *et al.*, 2017). Mekanisme antioksidan metode CUPRAC yaitu dengan kemampuan antioksidan dalam mereduksi kompleks Cu^{2+} menjadi Cu^{+} (Ramadhan *et al.*, 2020). Mekanisme metode CUPRAC yaitu terjadi reaksi antara bis (neokuproin) tembaga (II) ($Cu(Nc)_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron sebagai pendonor electron (Özyürek *et al.*, 2011). Berdasarkan mekanisme, maka tiga kandungan tertinggi yang berperan sebagai antioksidan adalah Citronellal, Terpinene-4-ol, α -Terpineol, karena melakukan donor elektron.

Reaksi kimia antara antara bis (neokuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik dengan Citronellal, Terpinene-4-ol, α -Terpineol sebagai pendonor elektron.

Berdasarkan hasil pengujian statistik aktivitas antioksidan antara minyak atsiri kulit jeruk purut dengan trolox pada uji normalitas, terdapat distribusi data yang tidak normal yaitu data minyak atsiri kulit jeruk purut dengan nilai signifikansi $0,023 < 0,05$, sedangkan pada data trolox nilai signifikansinya $0,106 > 0,05$, maka data terdistribusi normal. Uji homogenitas kedua sampel tersebar secara homogen dengan nilai signifikansi $0,127 > 0,05$, karena terdapat data yang tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan uji non parametrik *Mann Whitney* dengan nilai signifikansi $0,05$, hal ini dapat dikatakan nilai signifikansinya ($p \leq 0,05$), yaitu terdapat perbedaan signifikan antara nilai IC_{50} minyak atsiri kulit jeruk purut dan trolox, karena nilai IC_{50} minyak atsiri kulit jeruk purut replikasi 1 (21,5250 ppm), replikasi 2 (24,3846 ppm), replikasi 3 (24,3452 ppm) lebih rendah dibandingkan dengan trolox yaitu replikasi 1 (52,9741 ppm), replikasi 2 (54,3463 ppm) dan replikasi 3 (54,2613 ppm).

4.2.4. Karakterisasi

4.2.4.1. Persen Rendemen dan Organoleptis

Perhitungan persen rendemen dilakukan karena persen rendemen menunjukkan kadar dari minyak atsiri

(Anggraini *et al.*, 2018). Rata – rata persen rendemen yang memenuhi parameter acuan yaitu 1,86045%. Parameter acuan dari minyak atsiri daun jeruk purut yaitu nilai rendemen minimal 1,42% (SNI 8028-1:2014, 2014). Penyulingan dilakukan dua kali selama 7 jam dengan berat kulit jeruk purut masing – masing 830 g dan 840 g. Semakin lama kulit jeruk purut yang kontak dengan uap air maka semakin lama penyulingan, sehingga semakin tinggi persen rendemen dan minyak yang dihasilkan (Hidayati, 2012). Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hidayati (2012), penyulingan minyak atsiri kulit jeruk Pontianak dengan berat 5 kg kulit jeruk kering, disuling menggunakan metode penyulingan uap langsung dengan suhu 100°C dan 110°C dilakukan selama 4, 5, 6, dan 7 jam, dari berbagai variasi lama waktu penyulingan dan suhu, nilai rendemen terbesar terdapat pada suhu 100°C selama 7 jam penyulingan.

4.2.4.2. Hasil Uji Kecerahan

Hasil pengujian pada minyak atsiri kulit jeruk purut adalah minyak tidak berwarna, hal ini sesuai atau terstandar dengan parameter minyak atsiri kulit jeruk bali yaitu tidak berwarna atau berwarna bening. Parameter minyak atsiri kulit

jeruk bali dapat digunakan karena masih dalam satu familia jerk purut yaitu rutaceae (Saputra *et al.*, 2017).

4.2.4.3. Hasil Uji Berat Jenis

Pengujian berat jenis minyak atsiri kulit jeruk purut kali ini menggunakan alat termo piknometer, didapatkan hasil sebesar 0,84029 g/ml pada suhu 25°C. Berat jenis minyak atsiri daun jeruk purut dapat digunakan sebagai parameter acuan, karena masih dalam satu taksonomi. Minyak atsiri daun jeruk purut memiliki berat jenis sebesar 0,837 – 0,845 g/ml (Khasanah *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil dan parameter acuan, maka hasil pengujian dikatakan sesuai atau terstandar, dikarenakan memasuki rentang dari parameter acuan. Seiring bertambahnya konsentrasi komponen penyusun minyak atsiri dan ikatan rangkap, maka nilai berat jenisnya semakin tinggi (Yanti *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian Warsito *et al.* (2017), tiga komponen utama minyak atsiri kulit jeruk purut adalah β -pinene, citronellal, dan limonene, berbeda dengan hasil penelitian yaitu β -pinene, limonene, dan sabinene. Ditinjau dari jumlah ikatan rangkap diantara keduanya yaitu pada β -pinene (1 ikatan rangkap), citronellal (2 ikatan rangkap), limonene (2 ikatan rangkap). Hasil penelitian β -pinene (1 ikatan rangkap), limonene (2 ikatan rangkap), dan

sabinene (1 ikatan rangkap), maka dapat dikatakan jika minyak atsiri kulit jeruk purut dari penelitian Warsito et al. (2017) nilai berat jenisnya semakin tinggi.

4.2.4.4. Hasil Uji Indeks Bias

Pengukuran indeks bias bertujuan untuk mengetahui kemurnian minyak atsiri, karena setiap minyak atsiri memiliki indeks bias tertentu (Yanti *et al.*, 2017). Pengujian indeks bias digunakan alat refraktometer. Berdasarkan pengujian, didapatkan hasil 1,4710; 1,4710; 1,4711 dengan rata – rata indeks bias 1,4710 pada suhu 20°C. Parameter acuan yang digunakan adalah rata – rata dari tiga senyawa tertinggi pada minyak atsiri pada suhu 20°C yaitu 1,4686 – 1,4763. Tiga senyawa tertinggi berturut – turut yaitu β -pinene (1,47-1,48) (Roth, 2015). Limonene (1,471-1,474) (Essence, 2014). Sabinene (1,465-1,475) (Moellhausen, 2009). Berdasarkan hasil pengujian indeks bias pada minyak atsiri kulit jeruk purut ini dikatakan sesuai atau terstandar, karena nilai sesuai rentang parameter acuan. Nilai indeks bias dapat dipengaruhi oleh banyaknya komponen senyawa minyak atsiri yang terkandung didalamnya. Tiga senyawa terbesar dalam minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki panjang rantai karbon 5 dan 1 ikatan rangkap pada β -pinene, limonene (panjang rantai karbon 6 dan

2 ikatan rangkap, sabinene (panjang rantai karbon 4 dan 1 ikatan rangkap). Semakin panjang rantai karbon dan banyak ikatan rangkap, maka semakin tinggi kerapatan minyak atsiri, sehingga semakin sukar dalam membiaskan sinar datang dan nilai indeks bias semakin besar (Hidayati, 2012).

4.2.4.5. Hasil Uji Rotasi Optik

Pengujian rotasi optik dilakukan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri dalam memutar bidang polarisasi (Wibowo and Komarayati, 2015). Pengujian rotasi optik menggunakan alat polarimeter. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan hasil sebesar $+12,70$ pada suhu 25°C , yang berarti minyak atsiri kulit jeruk purut memutar bidang polarisasi ke kanan. Parameter yang digunakan adalah rata – rata dari tiga senyawa tertinggi pada minyak atsiri kulit jeruk purut yaitu $+9^{\circ}$ sampai $+17^{\circ}$. Tiga senyawa berturut – turut ialah β -pinene (-20° sampai -16°) (Moellhausen, 2008). Limonene ($+96^{\circ}$ sampai $+104^{\circ}$) (Essence, 2014). Sabinene (-72° sampai -62°) (Moellhausen, 2009). Menurut hasil pengujian rotasi optik pada minyak atsiri kulit jeruk purut kali ini dikatakan sesuai atau terstandar, karena nilai rotasi optiknya sesuai dengan rentang parameter. Besarnya nilai rotasi optik bergantung dengan jenis minyak atsiri, konsentrasi senyawa, dan suhu

(Wibowo and Komarayati, 2015). Berdasarkan penelitian Ikarini *et al.* (2021) menyatakan bahwa nilai rotasi optik dari minyak atsiri kulit jeruk purut dengan metode penyulingan dengan air yaitu sebesar 11,463, hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil pengujian. Khasanah *et al.* (2015) menyatakan bahwa semakin kecil angka rotasi optik, maka menunjukkan minyak atsiri punya kualitas baik, namun hal ini memiliki batasan tertentu, karena memungkinkan jika semakin kecil angka rotasi optik dapat disebabkan zat pengotor pada minyak atsiri. Nilai rotasi optik dan arah putar sangat penting dalam menentukan standar kemurnian minyak. Minyak yang telah terkontaminasi baik sengaja atau tidak dengan bahan lain akan memiliki nilai rotasi optik yang berbeda dengan minyak asli, seperti minyak yang seharusnya memiliki nilai rotasi optik positif, tetapi berubah menjadi negatif jika mengalami kontaminasi (Wibowo and Komarayati, 2015).

4.2.4.6. Hasil Penentuan Bilangan Asam

Penentuan bilangan asam digunakan untuk menunjukkan nilai asam yang terkandung dalam minyak atsiri (Wibowo *et al.*, 2015). Hasil pengujian didapatkan bilangan asam minyak atsiri kulit jeruk purut sebesar 0,8415. Berdasarkan hasil pengujian, dapat dikatakan sesuai atau

terstandar karena hasil sesuai dengan rentang parameter yaitu 0,82 – 2,39 (Wijaya et al., 2000). Semakin besar nilai bilangan asam maka semakin besar pula resiko dalam mempengaruhi mutu minyak atsiri yaitu dengan mengubah aroma khas minyak atsiri. Komponen senyawa minyak atsiri akan meningkatkan bilangan asam ketika terjadi proses oksidasi khususnya dari golongan aldehid yang membentuk asam karboksilat (Wibowo et al., 2015). Berdasarkan hasil penelitian kandungan senyawa minyak atsiri yang diteliti yang mengandung golongan aldehid sebesar 9,70% yang terdapat pada senyawa citronellal dan cyclopentyl aceton.

4.2.4.7. Hasil Uji Kelarutan dalam Alkohol

Pengujian kelarutan dalam alkohol dilakukan bertujuan untuk memberikan gambaran dari kelarutan minyak atsiri (Khasanah et al., 2015). Hasil pengujian menunjukkan hasil bahwa minyak atsiri kulit jeruk purut larut 1:6 dalam alkohol 90%, hasil dikatakan sesuai atau terstandar dengan parameter yaitu larut 1:6 dalam alkohol 90% (Moellhausen, 2008). Parameter yang digunakan merupakan parameter dari komponen minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi yaitu β -pinene. Semakin tinggi persentase senyawa polar minyak atsiri, semakin mudah pula minyak atsiri larut dalam alkohol

(Khasanah *et al.*, 2015). Umumnya minyak atsiri terdiri dari komponen senyawa terpen teroksigenasi dan terpen tak teroksigenasi. Kelarutan terpen teroksigenasi mudah larut dalam pelarut polar yaitu alkohol, dibanding dengan terpen tak teroksigenasi. Semakin banyak senyawa terpen tak teroksigenasi dalam minyak atsiri maka semakin sukar atau rendah kemampuan larut dalam pelarut polar (alkohol) (Wibowo *et al.*, 2015). Kandungan terpen teroksigenasi dalam sampel minyak atsiri kulit jeruk purut yaitu sebesar 22,21% dan terpen tak teroksigenasi sebesar 77,79%.

4.2.4.8. Hasil Penentuan Bilangan Ester

Penentuan bilangan ester dilakukan karena sebagai salah satu parameter penentu kualitas dan berhubungan dengan bau minyak atsiri (Yanti *et al.*, 2017). Hasil pengujian bilangan ester minyak atsiri kulit jeruk purut adalah 19, 635. Menurut hasil percobaan dikatakan sesuai atau terstandar karena sesuai rentang parameter yaitu 18,09 – 33,77 (Wijaya *et al.*, 2000). Semakin tinggi bilangan ester, maka tidak mudah minyak atsiri mengalami oksidasi dan aroma minyak semakin kuat dan bertahan lebih lama (Abraham *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil yang diteliti kandungan ester dalam minyak atsiri kulit jeruk

purut sebesar 0,57% yang terdapat pada senyawa citronellyl acetate dan geranyl acetate.

4.2.5. Hasil Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut dengan GCMS

Analisis minyak atsiri dengan GCMS dilakukan untuk mengetahui jumlah, presentase dan komponen penyusun minyak atsiri. Hasil pengujian menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk purut tersusun dari 25 komponen yang telah diinterpretasi dengan Standart *Library Wiley* yang dapat dilihat pada tabel 4.8.

Secara keseluruhan jumlah golongan senyawa monoterpene hidrokarbon (MH) lebih banyak daripada senyawa monoterpene oksigenasi (MO), yaitu golongan monoterpene hidrokarbon (MH) sebanyak 77,79% dan golongan monoterpene oksigenasi (MO) sebanyak 22,21%. Berdasarkan hasil, tiga kandungan senyawa tertinggi pengujian dengan literatur hampir sama, namun jumlah senyawa yang terdeteksi jauh lebih banyak dibandingkan dengan penelitian Warsito *et al.* (2018), sehingga kandungan minyak atsiri yang tersuling lebih lengkap. Penyulingan minyak atsiri dari bahan baku yang sama dapat mempunyai kandungan senyawa yang berbeda, hal ini tergantung dari jenis tanaman, faktor lingkungan pada saat proses pembentukan metabolit sekunder seperti iklim, tanah, umur panen (Jailani *et al.*, 2015).

Dalam penelitian ini masih jauh dari kata sempurna dan banyak kekurangan karena keterbatasan yang dihadapi peneliti selama penelitian, seperti:

1. Metode penyulingan yang masih tradisional.
2. Pengujian antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dengan metode CUPRAC yang dilakukan berulang untuk mendapatkan konsentrasi larutan yang sesuai.
3. Terdapat beberapa uji seperti penentuan bilangan asam, kelarutan dalam alkohol, dan penentuan bilangan ester belum dilakukan replikasi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} rata – rata 23,4182 ppm menggunakan metode CUPRAC dan terdapat perbedaan signifikansi antara IC_{50} Minyak atsiri kulit jeruk purut dengan trolox.
2. Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki karakteristik seperti berikut:
 - Rata – rata persen rendemen yang terstandar yaitu 1,86045% dengan total minyak yang dihasilkan sebesar 31,1 ml. (Memenuhi dengan syarat minimal 1,42%)
 - Minyak atsiri kulit jeruk purut tidak berwarna. (Memenuhi dengan syarat tidak berwarna atau berwarna bening)
 - Nilai berat jenis 0,84028 g/ml pada suhu 25°C. (Memenuhi dengan syarat berat jenis 0,837-0,845 g/ml)
 - Nilai indeks bias 1,4710 suhu 20°C. (Memenuhi dengan syarat nilai indeks bias 1,4686-1,4763 suhu 20°C dari rata – rata tiga senyawa tertinggi pada minyak atsiri kulit jeruk purut)
 - Nilai rotasi optik +12,70. (Memenuhi dengan syarat nilai rotasi optik +9° sampai +17° dari rata – rata dari tiga senyawa tertinggi pada minyak atsiri kulit jeruk purut)

- Bilangan asam 0,8415. (Memenuhi dengan syarat bilangan asam 0,82-2,39)
- Kelarutan dalam alkohol: larut dalam 1:6 bagian alkohol 90%. (Memenuhi syarat dengan kelarutan dalam alkohol larut 1:6 dalam alkohol 90% dari komponen tertinggi minyak atsiri kulit jeruk purut β -pinene)
- Bilangan ester 19,635. (Memenuhi dengan syarat bilangan ester 18,09-33,77)

5.2. Saran

1. Perlu modifikasi cara penyulingan minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) dengan metode yang lebih modern agar mendapat minyak yang berkualitas tinggi.
2. Perlu dilakukan penentuan konsentrasi molar yang sesuai pada uji antioksidan metode CUPRAC.
3. Setiap uji yang dikerjakan perlu dilakukan replikasi untuk menghindari kesalahan peneliti dalam pengujian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, R., La Rudi, La Ode Arham, and Muna Erna Wati, 2019, Analisis Kualitas Minyak Nilam Asal Kolaka Utara Sebagai Upaya Meningkatkan Dan Mengembangkan Potensi Tanaman Nilam (*Pogostemon* Sp.) Di Sulawesi Tenggara, 4(2):133–44.
- Agouillal, Farid, Zarani M. Taher, Houria Moghrani, Nouredine Nasrallah, and Hesham El Enshasy, 2017, A Review of Genetic Taxonomy, Biomolecules Chemistry and Bioactivities of *Citrus Hystrix* DC., *Biosciences, Biotechnology Research Asia* 14(1):285–305, doi: 10.13005/bbra/2446.
- Anggraini, Rini, Afghani Jayuska, and Andi Hairil Alimuddin, 2018, Isolasi Dan Karakterisasi Minyak Atsiri Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Asal Sajingan Kalimantan Barat, *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 7(4):124–33.
- Anto, 2020, Rempah - Rempah Dan Minyak Atsiri, Cetakan I, edited by Andriyanto, Klaten: Lakeisha.
- Apak, Reşat, Kubilay Güçlü, Birsen Demirata, Mustafa Özyürek, Saliha Esin Çelik, Burcu Bektaşoğlu, K. Işıl Berker, and Dilek Özyurt, 2007, Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay, *Molecules* 12(7):1496–1547, doi: 10.3390/12071496.
- Ariyani, Fransiska, Laurentia Eka Setiawan, and Felycia Edi Soetaredjo, 2008, Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Tanaman Sereh Dengan Menggunakan Pelarut Metanol, Aseton, Dan N-Heksana, *Journal Widya Teknik* 7:124–33.
- Arnanda, Quinzheilla Putri, and Rina Fajri Nurwarda, 2019, Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M Dari Senyawa Glutation Dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker, *Jurnal Farmaka* 17(2):236–43.
- Awaluddin, Nurhikma, and Wahyuningsih Sri, 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm) Menggunakan Metode DPPH, *Jurnal Farmasi FKIK UNAIM* 2:38–45.
- Badan Standardisasi Nasional, 2019, Peraturan Badan Standardisasi Nasional Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2019 Tentang Skema Penilaian Kesesuaian Terhadap Standar Nasional Indonesia Sektor Kimia.
- Beale, David J., Paul D. Morrison, Avinash V. Karpe, and Michael S. Dunn, 2017, Chemometric Analysis of Lavender Essential Oils Using Targeted and Untargeted GC-MS Acquired Data for the Rapid Identification and Characterization of Oil Quality, *Molecules* 22(8), doi: 10.3390/molecules22081339.
- Besar RI di Bern Switzerland Swiss, Kedutaan, 2020, Informasi Pasar Swiss Peluang Ekspor Minyak Atsiri Ke Swiss, *Www.Akses.Ksei.Go.Id* 1–8.
- Boes, Evita, 2014, Analisis, Identifikasi Precursor Dan Hasil Degradasi Senyawa Senjata Kimia Menggunakan Teknik Gas Chromatography Mass Spectrometry–Electron Ionisasi (Gcms-Ei), *Jurnal Kimia Terapan Indonesia* 16(1):1–9.
- Darmapatni, Komang Ari Gunapria, Achmad Basori, and Ni made Suaniti, 2016, Pengembangan Metode Gc-Ms Untuk Penetapan Kadar Acetaminophen Pada

- Spesimen Rambut Manusia, *Jurnal Biosains Pascasarjana* 18(3):255–70.
- Diniatik, 2015, Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri, *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi* 3(1):1–5.
- Ditjen POM, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.
- Essence, Lluch, 2014, Safety Data Sheet Limonene Dextro, 5:1–7.
- Fidrianny, Irda, Dian Ayu, and Rika Hartati, 2015, Antioxidant Capacities, Phenolic, Flavonoid and Carotenoid Content of Various Polarities Extracts from Three Organs of *Sechium Edule* (Jacq.) Swartz, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(5):914–20.
- Fitri, Nyoman, 2013, Butylated Hydroxyanisole Sebagai Bahan Aditif Antioksidan Pada Makanan Dilihat Dari Perspektif Kesehatan, *Jurnal Kefarmasian Indonesia* 4(1):41–50.
- Gandjar, Ibnu, and Abdul Rohman, 2016, *Kimia Farmasi Analisis*, Cetakan XV, Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Haeria, Nurshalati Tahar, and Munadiyah, 2018, Penentuan Kadar Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) Dengan Metode DPPH, CUPRAC Dan FRAP, *Jf Fik Uinam* 6(2):88–97.
- Hafiluddin, 2012, Analisa Kandungan Gizi Dan Senyawa Bioaktif Keong Bakau (*Telescopium*) Di Sekitar Perairan Bangkalan, *Jurnal Rekayasa* 5(December):37–39.
- Handayani, Sri Seno, Erin Ryantin Gunawan, Dedy Suhendra, Murniati, and Rizka Dhia Khalilah Bali, 2021, Daya Repelan Lotion Minyak Ketapang Pada Berbagai Variasi Konsentrasi Atsiri Kulit Jeruk Purut, *Journal Pijar MIPA* 16(2):6, doi: 10.29303/jpm.v16i2.22020.
- Hidayati, 2012, Destilasi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Pontianak Dan Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Sabun Aromaterapi, *Biopropal Industri* 3(2):39–49.
- Ikarini, Imro'ah, Harwanto, and Yunimar, 2021, Karakteristik Fisik Dan Identifikasi Senyawa Pada Minyak Atsiri Dari Limbah Kulit Jeruk, *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences* 5(2):131–37, doi: 10.25047/agriprima.v5i2.436.
- Isnindar, Subagus Wahyuono, and erna prawita Setyowati, 2011, Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1- Pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional* 16(3):157–64.
- Jailani, Ahmad, Rudianda Sulaeman, and Evi Sribudiani, 2015, Karakteristik Minyak Atsiri Daun Kayu Manis (*Cinnamomom burmanii* (Nees & Th. Nees)), *Jom Faperta UR* 2(2):1–12.
- Juliana, Elisa, 2015, Perbedaan Indeks Bias Minyak Goreng Curah Dengan Minyak Goreng Kemasan Bermerek Sunco, 2(2):76–80.
- Julizan, Nur, Siti Maemunah, Dina Dwiyaniti, and Jamaludin Al Anshori, 2019, Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode DPPH, 1.
- Karadag, Ayse, Beraat Ozcelik, and Samim Saner, 2009, Review of Methods to

- Determine Antioxidant Capacities, *Food Analytical Methods* 2(1):41–60, doi: 10.1007/s12161-008-9067-7.
- KE, Boren, Young DG, Woolley CL, Smith BL, and Carlson RE, 2015, Detecting Essential Oil Adulteration, *Journal of Environmental Analytical Chemistry* 02(02):2–4, doi: 10.4172/2380-2391.1000132.
- Kementerian Perdagangan RI, 2011, *Indonesian Essential Oils : The Scents of Natural Life*. Vol. 1st.
- Khan, Firoz, Vipin Kumar Garg, Avnesh Kumar Singh, and Tinku Tinku, 2018, Role of Free Radicals and Certain Antioxidants in the Management of Huntington's Disease: A Review, *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research* 7(4):386–92, doi: 10.15406/japlr.2018.07.00256.
- Khasanah, Lia Umi, Kawiji, Rohula Utami, and Yoga Meidianoro Aji, 2015, Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 04(02):48–55, doi: 10.17728/jatp.2015.10.
- Kurniasari, L., I. Hartati, and R. Ratnani, 2008, Kajian Ekstraksi Minyak Jahe Menggunakan Microwave Assisted Extraction (Mae), *Jurnal Momentum UNWAHAS* 4(2):114974.
- Kurniawati, Nia, 2010, *Sehat Dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*, Bandung: Penerbit Qanita.
- Kusuma, Rama Indera, Enden Mina, and Pasadena Rosa Hasibuan, 2017, Stabilisasi Tanah Lempung Dengan Menggunakan Pasir Laut Dan Pengaruhnya Terhadap Nilai Cbr (California Bearing Ratio) (Studi Kasus :Jalan Desa Mangkualam Kecamatan Cimanggu – Kab. Pandeglang), *Jurnal Fondasi* 6(2), doi: 10.36055/jft.v6i2.2473.
- Lung, J. K. S., and Dika Pramita Destiani, 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode DPPH, *Farmaka* 15(1):53–62.
- Ma'mun, 2014, Petunjuk Teknis Penanganan Bahan Dan Penyulingan Minyak Atsiri, *Informasi Teknologi Tanaman Rempah Dan Obat* 1–26.
- Made, Dunika Ayu Ni, I. Made Oka Adi Parwata, and I. A. Manik Parthasutema, 2015, Analisa Kadar Metamfetamine Pada Sampel Darah Dengan Metode GC-MS, *Chemistry Laboratory* 2(1):18–29.
- Mardhiani, Yanni D., Hanna Yulianti, Deny P. Azhary, and Toufik Rusdiana, 2018, Formulasi Dan Stabilitas Sediaan Serumdari Ekstrak Kopi Hijau (*Coffea canephora* Var. Robusta) Sebagai Antioksidan, *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta* 2(2):19–33.
- Maryam, St, Randi Pratama, Nurmaya Effendi, and Tadjuddin Naid, 2016, Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifida* L.) Dengan Metode Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2(1):90–93, doi: 10.33096/jffi.v2i1.185.
- Miswarti, Miswarti, Tati Nurmala, and Anas Anas, 2014, Karakterisasi Dan Kekerabatan 42 Aksesori Tanaman Jawawut (*Setaria italica* L. Beauv) Characterization and Relationship 42 Accessions of Foxtail Millet Plant (*Setaria*

- italica* L Beauv), *Jurnal Pangan* 23(2):166–77.
- Moellhausen, 2008, Technical Datasheet Beta Pinene L-, *Cell*.
- Moellhausen, 2009, Technical Data Sheet Sabinene, *Cell* 123(May).
- Muhtadin, Ahmad Fathur, Ricky Wijaya, Pantjawarni Prihatini, and Mahfud, 2013, Pengambilan Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Segar Dan Kering Dengan Menggunakan Metode Steam Distillation, *Jurnal Teknik Pomits* 2(1):98–101.
- Novadila, Merina, Rosita Dwi C, and Galuh Gondo K, 2019, Perolehan Rendemen Minyak Atsiri Pada Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Yang Dipetik Pada Pagi Hari Dengan Metode Destilasi Uap Air, 1–7.
- Özyürek, Mustafa, Kubilay Güçlü, and Reşat Apak, 2011, The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 30(4):652–64, doi: 10.1016/j.trac.2010.11.016.
- Phaniendra, Alugoju, Dinesh Babu Jestadi, and Latha Periyasamy, 2015, Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases, *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 30(1):11–26, doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Pukoliwutang, Rein, Sherwin R. U. A. Sompie, Elia Kendek Allo, and Jurusan Teknik Elektro-ft., 2017, Pengaturan Pendinginan Pada Kondensor Untuk Alat Destilasi Asap Cair, *Jurnal Teknik Elektro Dan Komputer* 6(1):27–34, doi: 10.35793/jtek.6.1.2017.15752.
- Rahmadi, Anton, and Bohari, 2018, *Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan*.
- Ramadhan, Hafiz, Duratul Baidah, Novi Puji Lestari, and Kristina Anes Yuliana, 2020, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah Dan Kulit Terap (*Artocarpus odoratissimus*) Menggunakan Metode CUPRAC, *Farmasains : Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian* 7(1):7–12, doi: 10.22236/farmasains.v7i1.4331.
- Ratnani, Rita Dwi, Indah Hartati, Yance Anas, Devi Endah P, and Dita Desti D. Khilyati, 2015, Standardisasi Spesifik Dan Non Spesifik Ekstraksi Hidrotropi Andrographolid Dari Sambiloto (*Andrographis paniculata*), Pp. 147–55 in *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine Tahun*.
- Roth, 2015, Safety Data Sheet SS-Pinene Pure, 2006(1907):1–18.
- Rukmana, Rahmat, 2003, *Usaha Tani Jeruk Purut Dalam Pot Dan Di Kebun*, Yogyakarta: Kanisius.
- Safitri, Fina Anggi, Rosita Dwi C, and Galuh Gondo Kusumo, 2019, Perolehan Rendemen Minyak Atsiri Pada Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Yang Dipetik Pada Siang Hari Dengan Metode Destilasi Uap Air.” 1–7.
- Saputra, Komang Ardipa, Ni Made Puspawati, and I. Wayan Suirta, 2017, Kandungan Kimia Minyak Atsiri Dari Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli, *Jurnal Kimia*, doi: 10.24843/jchem.2017.v11.i01.p10.
- SNI 8028-1:2014, 2014, Alat Penyuling Minyak Atsiri - Bagian 1: Sistem Kukus - Syarat Mutu Dan Metode Uji, *Bsni* 1–62.
- Suharyanto, and Dela Anding Nadia Prima, 2020, Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Cendekia Journal of*

- Pharmacy* 4(2):110–19.
- Suroso, Asri Sulistijowati, 2013, Kualitas Minyak Goreng Habis Pakai Ditinjau Dari Bilangan Peroksida, Bilangan Asam Dan Kadar Air, *Jurnal Kefarmasian Indonesia* Vol 3(2):77–88.
- Suryanto, Rudianda Sulaeman, and Evi Sri Budiani, 2017, Pengaruh Pola Pengeringan Terhadap Rendemen Dan Kualitas Minyak Atsiri Daun Pucuk Merah (*Syzygium oleana*.), *JOM Faperta UR* 4(1):1–8.
- Susantiningih, Tiwuk, 2015, Obesitas Dan Stres Oksidatif, *Jurnal Kedokteran UNILA* 5:89–93, doi: 10.1109/ICM.2011.379.
- Wahyuni, Rina, Guswandi, and Harrizul Rivai, 2014, Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto, *Jurnal Farmasi Higea* 6(2):126–33.
- Warsito, Noorhamdani, Sukardi, and Suratmo, 2017, Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Minyak Jeruk Purut, *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology* 04(01):13–18.
- Warsito, Warsito, Noorhamdani Noorhamdani, Sukardi Sukardi, and Suratmo Suratmo, 2018, Assessment of Antioxidant Activity of Citronellal Extract and Fractions of Essential Oils of *Citrus hystrix* DC, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 17(6):1119–25, doi: 10.4314/tjpr.v17i6.19.
- Wibowo, Diki Prayugo, Ardi Rustamsyah, and Yunan Kurniawan, 2015, Karakterisasi Dan Aktivitas Repelen Minyak Atsiri (*Cymbopogon nardus* L), Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides* L.), Nilam (*Pogostemon cablin*), Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Asal Kabupaten Garut Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti* Betina, *Makara Sains* 2(1):1–6.
- Wibowo, Santiyo, and Sri Komarayati, 2015, Sifat Fisiko Kimia Minyak Cupresus (*Cupressus benthamii*) Asal Aek Nauli, Parapat Sumatera Utara, *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 33(2):93–103.
- Widyowati, Herni, Maria Ulfah, and Sumantri, 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2 Picrylhydrazyl), *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik* 11(1):25–33.
- Wijaya, C. Hanny, Sandra Sudiaman, and Fransisca Kelly Hidayat, 2000, Ekstraksi Minyak Astiri Dari Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Pada Skala Pilot-Plant, *Journal Teknik Industri Pertanian* 9:164–71.
- Wojtunik, Karolina A., Lukasz M. Ciesla, and Monika Waksmundzka-Hajnos, 2014, Model Studies on the Antioxidant Activity of Common Terpenoid Constituents of Essential Oils by Means of the 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(37):9088–94, doi: 10.1021/jf502857s.
- Wulansari, Anisa Nur, 2018, Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiae folium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review, *Farmaka* 16:419–29.
- Yamunadevi, M., E. G. Wesely, and M. Johnson, 2011, Phytochemical Studies on the Terpenoids of Medicinally Important Plant *Aerva Lanata* L. Using HPTLC, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1(SUPPL. 2):S220–25, doi:

10.1016/S2221-1691(11)60159-7.

- Yanti, Rini, Puji Wulandari, Yudi Pranoto, and Muhammd Nur Cahyanto, 2017, Karakterisasi, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Anti Jamur Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap *Aspergillus*, *Jurnal Teknologi Pertanian* 8(2):8–15.
- Yuliarto, Fuki Tri, Lia Umi Khasanah, and R. Baskara Katri Anandito, 2012, Pengaruh Ukuran Bahan Dan Metode Destilasi (Destilasi Airdan Destilasi Uap Air) Terhadap Kualitas Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*), *Jurnal Teknosains Pangan* 1(1):12–23.
- Zamzamiyah, Ita Nabila, and Sumeru Ashari, 2020, Eksplorasi Dan Karakterisasi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Di Kabupaten Tulungagung, *Jurnal Produksi Tanaman* 8(11):1041–49.

