

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Ekstrak Etanol Ranting Jeruk Nipis**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak hasil maserasi etanol dari ranting jeruk nipis. Bahan dikumpulkan dari area pedesaan di Desa Leping, Kecamatan Banjarangkan, Klungkung, Bali. Ranting segar yang lolos kualifikasi disortasi sebanyak 1 kg, lalu dikeringkan dengan metode dehidrasi alami (diangin-anginkan) selama 6 hari, sampel ranting jeruk nipis yang sudah kering ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Simplisia Ranting Jeruk Nipis

Setelah kering, simplisia ranting digiling memakai blender hingga berbentuk serbuk berserat halus dengan total bobot akhir mencapai 180 gram. Sebanyak 100 gram serbuk simplisia diekstraksi memakai teknik maserasi dengan etanol 96% dengan rasio perbandingan 1:8 (100 gram sampel dalam 800 ml pelarut) selama beberapa hari disertai pengadukan berkala. Filtrat yang didapat diuapkan memakai rotary evaporator pada suhu konstan 45°C hingga didapatkan sediaan ekstrak kental coklat kehitaman dengan bobot total sebesar 24 gram.



Gambar 6. Ekstrak kental

Table 4 Hasil Rendemen Ekstrak

| No | Berat segar | Berat simplisia | Berat ekstrak kental | Hasil rendemen ekstrak | Bentuk | Warna            |
|----|-------------|-----------------|----------------------|------------------------|--------|------------------|
| 1  | 1000gr      | 100gr           | 24gr                 | 24%                    | Kental | Coklat kehitaman |

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 97% dengan 100 gr serbuk ranting jeruk nipis menghasilkan ekstrak kental sebanyak 24 gr. Berdasarkan perhitungan, rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 24% dengan karakteristik warna coklat kehitaman.

## 2. Skrining Fitokimia

Hasil pengujian kandungan Fitokimia pada sampel ekstrak kental ranting jeruk nipis.

Tabel 5 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Ranting Jeruk Nipis

| No | Parameter uji | Hasil       | Keterangan                                |
|----|---------------|-------------|-------------------------------------------|
| 1  | Alkaloid      | Negatif (-) | Tidak terbentuk endapan merah – coklat    |
| 2  | Flavonoid     | Negatif (-) | Tidak ada perubahan warna menjadi jingga  |
| 3  | Tanin         | Positif (+) | Terjadi perubahan warna hijau kehitaman   |
| 4  | Fenol         | Positif (+) | Terbentuk warna hijau kehitaman           |
| 5  | Steroid       | Negatif (-) | Tidak membentuk lapisan cincin warna biru |
| 6  | Terpenoid     | Negatif(-)  | Tidak memberikan warna hijau pekat        |
| 7  | Saponin       | Negatif (-) | Tidak terdapat busa persisten             |

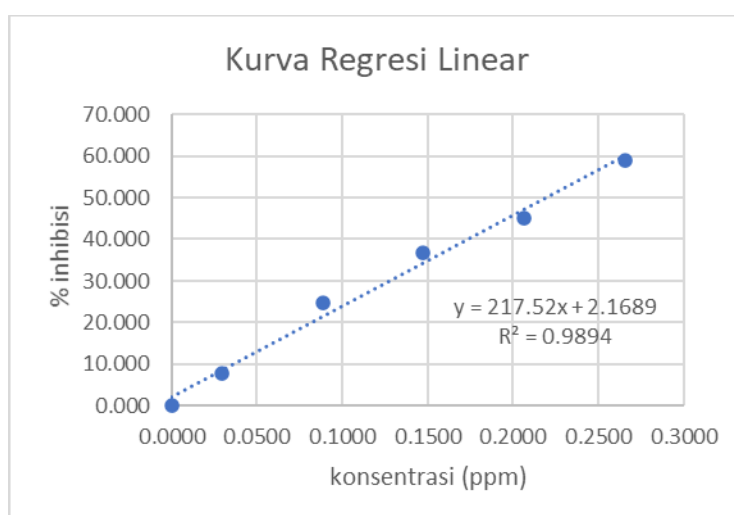
### 3. Aktivitas Antioksidan

Pengukuran nilai absorbansi larutan dikerjakan pada seri konsentrasi 0, 25, 75, 125, 175, 225 sampel dikerjakan sebanyak 2 kali pengulangan (duplo). Hasil pengukuran absorbansi konsentrasi sampel dan % inhibisi pada ekstrak etanol ranting jeruk nipis ada pada tabel 6.

Tabel 6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

| No | Konsentrasi sampel | Absorbansi I | Absorbansi II | Absorbansi III | Abs rata-rata | % inhibisi |
|----|--------------------|--------------|---------------|----------------|---------------|------------|
| 1  | Blanko             | 0,575        | 0,576         | 0,577          | 0,576         | 0,000      |
| 2  | 25 ppm             | 0,528        | 0,533         | 0,532          | 0,531         | 7,812      |
| 3  | 75 ppm             | 0,433        | 0,434         | 0,435          | 0,434         | 24,653     |
| 4  | 125 ppm            | 0,363        | 0,364         | 0,365          | 0,364         | 36,806     |
| 5  | 175 ppm            | 0,315        | 0,316         | 0,317          | 0,316         | 45,139     |
| 6  | 225 ppm            | 0,235        | 0,236         | 0,237          | 0,236         | 59,028     |

Merujuk pada kecenderungan data pada Tabel 6, dapat diidentifikasi bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan penurunan nilai absorbansi larutan. Ini terjadi akibat semakin minimnya populasi radikal bebas DPPH yang tersisa di dalam sistem larutan untuk menyerap radiasi cahaya, yang memicu lonjakan persentase nilai hambatan (% inhibisi). Nilai kemampuan netralisasi radikal ini selanjutnya dimasukkan ke dalam grafik untuk membentuk persamaan linear.



Gambar 7 Kurva Regresi Linear

Melalui kurva % inhibisi yang dikonstruksikan, didapatkan rumusan persamaan regresi linier

yaitu;  $y = 217,52x + 2.1689$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,9894$ . Berdasarkan substitusi nilai pada persamaan tersebut, dihitung nilai  $IC_{50}$  ekstrak sebesar 219,89 ppm. Jika dikonversikan ke dalam parameter Antioxidant Activity Index (AAI), diperoleh nilai sebesar 0,18, antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis ke dalam klasifikasi kriteria kriteria aktivitas antioksidan lemah

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstrak Etanol Ranting Jeruk Nipis**

Dalam riset ini, proses dehidrasi bahan baku simplisia mengandalkan Teknik pengeringan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan selama 5 hingga 6 hari tanpa intervensi sinar matahari secara langsung. Langkah ini diterapkan mengingat paparan radiasi matahari yang terlalu tinggi berisiko mendegradasi struktur molekul aktif serta menurunkan konsentrasi fitokimia di dalam sampel. Untuk melarutkan senyawa aktif, diaplikasikan teknik maserasi memakai pelarut etanol 96%. Pemilihan maserasi didasarkan pada karakternya sebagai metode ekstraksi dingin yang bekerja lewat penetrasi cairan pelarut menembus membran dinding sel tumbuhan, sehingga senyawa target terlarut ke dalam fase cair tanpa risiko kerusakan akibat panas. Di samping aspek teknisnya yang efisien, ekonomis, praktis, serta tidak membutuhkan perangkat rumit, maserasi sangat ideal untuk mengisolasi senyawa golongan flavonoid dan metabolit sensitif lainnya yang bersifat termolabil (tidak tahan panas). Pasca-maserasi, filtrat dipisahkan dari pelarutnya menggunakan instrumen Rotary Vacuum Evaporator pada suhu operasional 45°C. Proses evaporasi bertekanan rendah ini bertujuan memurnikan ekstrak dari sisa pelarut etanol 96%. Etanol dipilih sebagai solven karena sifatnya yang semi polar dengan indeks polaritas yang fleksibel. Berdasarkan prinsip like dissolves like, senyawa polar akan berikatan dengan pelarut polar, dan komponen non polar akan larut pada pelarut non-polar (Ningrum dan Wijayanti, 2020).

Selain itu, etanol diakui secara luas sebagai solven yang aman untuk diaplikasikan karena

tingkat toksisitasnya yang relatif rendah dibanding golongan pelarut organik lainnya. Berdasarkan hasil kalkulasi, rendemen ekstrak etanol 96% dari ranting jeruk nipis didapatkan sebesar 24%. Parameter rendemen memegang peranan krusial sebagai indikator efektivitas proses penyarian, sebab merepresentasikan kapasitas solven dan ketepatan metode dalam menarik komponen kimia bahan alam. Secara umum, performa ekstraksi dinilai baik apabila rasio rendemen berada di atas ambang 10%. Kuantitas nilai rendemen yang tinggi berkorelasi positif dengan volume senyawa bioaktif yang berhasil diisolasi. Sebaliknya, perolehan rendemen yang rendah mengindikasikan proses penarikan senyawa belum berjalan optimal, sehingga memerlukan modifikasi teknik atau penggantian pelarut. Ditinjau dari standar tersebut, hasil rendemen ranting jeruk nipis dalam studi ini diklasifikasikan masuk dalam kategori yang sangat rendah (Ningrum dan Wijayanti, 2020).

## **2. Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia diaplikasikan sebagai uji penentu di awal riset guna memberikan kualitatif mengenai golongan metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol ranting jeruk nipis. Fokus identifikasi diarahkan pada senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid lewat penambahan reagen spesifik yang memicu transisi warna atau pembentukan endapan. Hasil uji mengonfirmasi keberadaan senyawa metabolit sekunder tertentu pada sampel. Pada pengujian alkaloid, identifikasi menggunakan tiga jenis reagen memperlihatkan hasil yang bervariasi: reagen Mayer memberikan indikasi negatif tidak terjadi endapan putih, pada uji reagen Wagner dan Dragendorff tidak dijumpai adanya endapan coklat maupun jingga kemerahan. Penambahan HCl di awal pengujian berfungsi untuk memicu suasana asam agar terjadi penarikan senyawa alkaloid (yang bersifat basa) menjadi bentuk garam alkaloid yang larut air, memisahkannya dari zat netral. Ketiadaan endapan pada reagen Dragendorff/Wagner diduga terjadi karena ikatan kompleks kalium-alkaloid yang terbentuk belum menyentuh titik jenuh larutan. (Nugrahani dkk., 2016).

Pada uji flavonoid, tidak dijumpai adanya endapan berwarna jingga, merah, atau kuning pasca-pemberian HCl pekat dan serbuk magnesium. Data ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol ranting jeruk nipis tidak mengandung flavonoid. Flavonoid sendiri merupakan golongan polifenol dengan struktur dasar turunan 2-fenilbenzopira yang kaya gugus hidroksil (-OH). Guna mengidentifikasi keberadaannya, ikatan glikosida flavonoid harus direduksi terlebih dahulu dengan bantuan serbuk Mg dan HCl pekat untuk memicu kompleks warna merah atau jingga. Namun, dalam eksperimen ini, serbuk magnesium tidak memicu reaksi reduksi yang adekuat, sehingga tidak terjadi pergeseran warna pada larutan uji (Hidayah, Ibrahim dan Stevani, 2025).

Untuk pengujian saponin dengan media reagen akuades, hasil tidak ditunjukkan secara jelas lewat pembentukan lapisan buih yang konstan setinggi 1 cm yang stabil selama 10 menit walau telah ditetesi HCl 2N. Mekanisme pembentukan busa ini didorong oleh struktur saponin yang amfifilik, di mana gugus hidrofilik berikatan dengan molekul air dan gugus hidrofobik berinteraksi dengan udara. Intervensi HCl ditujukan guna mendongkrak derajat polaritas larutan, sehingga ikatan gugus hidrofilik dengan air berjalan lebih stabil dan mempertahankan struktur busa (Sinaga dkk., 2023). Pada pengujian tanin menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$ , deteksi didasarkan pada reaksi substitusi gugus hidroksil tanin. Tanin terhidrolisis akan memberikan warna biru kehitaman, sementara jenis tanin terkondensasi memberikan warna hijau kehitaman. Di sisi lain, pengujian kelompok senyawa steroid menunjukkan hasil negatif yang ditandai oleh absennya transisi warna hijau kebiruan pasca reaksi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan anhidrida asam asetat. Steroid yang tersusun atas rantai hidrokarbon panjang isoprena bersifat non-polar, sehingga sangat sukar larut dan teridentifikasi dalam pelarut polar (Hidayah, Ibrahim dan Stevani, 2025).

### 3. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan secara kuantitatif melalui pengamatan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Senyawa DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan menghasilkan warna ungu, kemudian berubah menjadi kuning ketika elektronnya berpasangan. Perubahan warna tersebut terjadi akibat reaksi antara radikal DPPH dengan atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa antioksidan dalam ekstrak sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrazin. Reaksi tersebut menyebabkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning pucat atau ungu memudar (Konda, Siampa dan Tallei, 2020).

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis pada Tabel 6 dengan variasi konsentrasi tertentu menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan nilai absorbansi semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin besar kandungan senyawa yang bersifat antioksidan sehingga kemampuan menghambat radikal bebas DPPH juga meningkat. Akibatnya jumlah DPPH yang tersisa semakin sedikit dan nilai absorbansi menjadi lebih rendah (Siyanti, Fitriani dan Narsa, 2019).

Penurunan absorbansi tersebut juga ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu pekat menjadi kuning pucat. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol ranting jeruk nipis mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas DPPH, namun kemampuan tersebut masih relatif rendah (Mahfur, 2023). Berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 219,89 ppm. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin kuat aktivitas antioksidan suatu sampel. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol

ranting jeruk nipis yang berada pada rentang  $>200$  ppm termasuk kategori aktivitas antioksidan lemah. Berdasarkan perhitungan Antioxidant Activity Index (AAI) yang merupakan metode standarisasi aktivitas antioksidan (Tasiam dkk., 2025), diperoleh nilai sebesar 0,18 yang juga termasuk kategori aktivitas antioksidan lemah. Perbedaan kategori tersebut dapat terjadi karena metode AAI mempertimbangkan perbandingan antara konsentrasi DPPH dengan nilai  $IC_{50}$  sehingga interpretasi aktivitas antioksidan menjadi lebih terstandarisasi (Limonia dkk., 2024).

Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $98,58 \mu\text{g/mL}$  (Wiley, 2021), sedangkan ekstrak etanol kulit jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $5,81 \mu\text{g/mL}$  (Novriyanti dkk., 2020). Perbedaan aktivitas antioksidan tersebut diduga dipengaruhi oleh perbedaan bagian tanaman yang digunakan karena kandungan dan konsentrasi metabolit sekunder pada setiap bagian tanaman berbeda. Daun dan kulit buah jeruk nipis diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan ranting sehingga memberikan aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Selain itu, sebelum proses ekstraksi dengan metode maserasi sebaiknya dilakukan pengujian kadar air simplisia sebagai salah satu parameter mutu simplisia sesuai standar pengendalian kualitas bahan alam. Pengujian kadar air bertujuan untuk memastikan bahwa kadar air simplisia memenuhi persyaratan sehingga senyawa metabolit sekunder tetap stabil dan proses ekstraksi dapat berlangsung secara optimal. Pada penelitian ini pengujian kadar air tidak dilakukan sehingga kadar air simplisia yang digunakan tidak diketahui. Kondisi tersebut diduga menjadi salah satu keterbatasan penelitian yang dapat memengaruhi kualitas simplisia serta efisiensi proses ekstraksi. Simplisia dengan kadar air yang tinggi berpotensi mengalami degradasi senyawa bioaktif akibat aktivitas enzim maupun pertumbuhan mikroorganisme sehingga kandungan senyawa antioksidan yang berhasil terekstraksi menjadi lebih rendah. Akibatnya, nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh belum

tentu menggambarkan potensi antioksidan ekstrak secara maksimal. Oleh karena itu, tidak dilakukannya pengujian kadar air sebelum proses maserasi diduga menjadi salah satu faktor yang menyebabkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol ranting jeruk nipis pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian terdahulu.

Walaupun aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis tergolong lemah, hasil penelitian menunjukkan bahwa ranting jeruk nipis tetap berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder seperti tanin dan fenol yang terdeteksi pada uji skrining fitokimia. Selain itu, alkaloid juga berperan sebagai antioksidan karena memiliki atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas yang mampu meredam radikal bebas. Sementara itu, tanin memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga membentuk senyawa nonradikal (DPPH-H). Selain berfungsi sebagai antioksidan, tanin yang termasuk golongan polifenol juga diketahui memiliki aktivitas sebagai astringen, antidiare, dan antibakteri (Rauf dkk., 2023).