

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK N-HEKSAN DAN
METANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus
aurantifolia*)**

SKRIPSI



WIDYAH PUSPITASARI

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK N-HEKSAN DAN
METANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)**

SKRIPSI



WIDYAH PUSPITASARI

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
BIOAKTIF EKSTRAK N-HEKSAN DAN
METANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Widyah Puspitasari
NIM 081811433002

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes
NIP.197107142002122002

Pembimbing II,



Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Ph.D
NIP. 198607252019083101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak N-Heksan
dan Metanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
Penyusun : Widyah Puspitasari
NIM : 081811433002
Tanggal Ujian : Senin, 24 Januari 2022

Pembimbing I Disetujui oleh: Pembimbing II



Dr. Junairiah, S. Si., M. Kes.
NIP. 197107142002122002



Anjar Tri Wibowo, S. Si., M. Sc., Ph. D.
NIP. 198607252019083101

Mengetahui
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Hj. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M. Si
NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. **Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Widyah Puspitasari

NIM : 081811433002

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Universitas : Airlangga

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF
EKSTRAK N-HEKSAN DAN METANOL DAUN JERUK NIPIS (*CITRUS
AURANTIFOLIA*)**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 10 Februari 2022



Widyah Puspitasari
NIM : 081811433002.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa ta'ala, karena atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Boaktif Ekstrak N-Heksan dan Metanol Daun Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)”. Naskah skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memenuhi syarat kelulusan mata kuliah skripsi pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Penulis menyadari dalam proses penyusunan skripsi ini, masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun dari berbagai pihak. Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang sudah mendukung, memberikan semangat, motivasi dan doa, dalam perjalanan penulisan naskah skripsi ini sehingga penulis bisa berjuang menyelesaikan semua kendala hingga selesai.

Dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada berbagai pihak yang sudah membantu dalam proses penulisan naskah skripsi ini diantaranya adalah:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA Selaku rektor Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Moh Yasin, M.Si Selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Hj. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si Selaku Kepala Departemen Biologi dan Kaprodi Biologi FST Universitas Airlangga.
4. Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes. dan Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Ph.D. Selaku dosen pembimbing I dan II yang telah membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai.
5. Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, M.S. dan Manikya Pramudya, S.Si.,

M.Si. Selaku dosen penguji dalam seminar proposal dan skripsi penulis.

6. Kedua orangtua Aboji Sariaji dan Bunda Wahyuni juga keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan penulis.
7. Sahabat Izza Nur Ilmiah sebagai teman satu perjuangan yang selalu kebersamai penelitian hingga penulisan skripsi selesai.
8. Tim Goes to IPK, DanBam, dan Mahasiswa Baik yang selalu mendukung penulis dalam menghadapi hambatan dan rintangan perjalanan perkuliahan hingga penulisan naskah skripsi.
9. Teman-teman angkatan Biologi 2018 sebagai rekan satu perjuangan dalam perkuliahan.
10. Muhammad Nasrul Benaya sebagai rekan yang sudah membantu dalam pembuatan PPT presentasi seminar proposal hingga seminar hasil skripsi.
11. Playlist album Exo, Day6, dan Denny Caknan yang setia menemani dalam penulisan naskah skripsi.
12. Serta seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penulisan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis berharap semoga Allah Subhanahu wa ta'ala memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada berbagai pihak yang terkait. Penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 23 Mei 2021

Penulis



Widyah Puspitasari

Widyah Puspitasari, 2021. **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BOAKTIF EKSTRAK N-HEKSAN DAN METANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)**. Naskah ini dibawah bimbingan : Dr. Junairiah, S. Si., M. Kes. dan Anjar Tri Wibowo, S. Si., M. Sc., Ph. D., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara kepulauan beriklim tropis dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia. Salah satu jenis tumbuhan yang banyak tumbuh di Indonesia dan memiliki potensi antioksidan adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu spesies tanaman famili Rutaceae yang banyak digunakan sebagai tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan antioksidan pada daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Penelitian ini menggunakan 2 pelarut dalam ekstraksi yaitu metanol dan n-heksan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji GCMS, uji skrining fitokimia, dan uji antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang paling banyak terkandung pada ekstrak metanol adalah 2,2,3,3,4,4,4-heptadeuteriobutanoic acid dengan persentase area sebesar 10,14% sedangkan pada ekstrak n-heksan adalah Furan tetrahydro-3-methyl- dengan persentase area sebesar 9,24%. Ekstrak metanol mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid dengan nilai IC_{50} sebesar 225,08 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak n-heksan mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid dengan nilai IC_{50} sebesar 991,26 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada daun *Citrus aurantifolia* sangat lemah.

Kata kunci: daun Citrus aurantifolia, senyawa bioaktif, metabolit sekunder, antioksidan

Widyah Puspitasari, 2021. **ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST AND IDENTIFICATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM N-HEXANE AND METHANOL EXTRACTS OF LIME LEAVES (*Citrus aurantifolia*)**.

This manuscript was supervised by Dr. Junairiah, S. Si., M. Kes. and Anjar Tri Wibowo, S. Si., M. Sc., Ph. D., Departement of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

Indonesia is a tropical archipelagic country which has second highest biodiversity in the world. Indonesia is home for thousand of endemic plant species, one of them is lime (*Citrus aurantifolia*), a plant that reported to have antioxidant potentials. Lime (*Citrus aurantifolia*) is a plant species from the Rutaceae family which is widely used as medicinal plant. The aim of the study was to determine the content of secondary metabolites and antioxidants activity in *Citrus aurantifolia* leaves. This study used two solvents in the extraction; methanol and n-hexane. The methods applied in this study include GCMS test, phytochemical screening test, and antioxidant test using the DPPH method. The results showed that the most abundant bioactive compounds contained in the methanol extract were 2,2,3,3,4,4,4-heptadeuteriobutanoic acid with an area percentage of 10.14% while the most abundant compound in n-hexane extract was Furan tetrahydro-3- methyl- with an area percentage of 9.24%. Secondary metabolites analysis by phytochemical screening showed that methanol extract contains flavonoids, saponins, terpenoids, and steroids with an IC₅₀ value of 225.08 g/mL while the n-hexane extract contains alkaloids, flavonoids, terpenoids, and steroids with an IC₅₀ value of 991.26 g/mL. This showed that the potential of the antioxidant activity of *Citrus aurantifolia* leaves is weak.

Keywords: Citrus aurantifolia leaves, bioactive compounds, secondary metabolites, antioxidants

DAFTAR ISI

SKRIPSI	1
SKRIPSI.....	i
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRCT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Hipotesis Penelitian.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan tentang jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	6
2.1.1 Morfologi jeruk nipis	7
2.1.2 Kandungan dan manfaat Jeruk nipis	8
2.2 Ekstraksi.....	9
2.3 Pelarut	10
2.4 Radikal Bebas	11
2.5 Antioksidan	13
2.6 DPPH (1-diphenyl-2- picrylhydrazil)	14

2.7	Metabolit Sekunder	15
2.9	Fitokimia	18
BAB III.....		21
METODE PENELITIAN		21
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2	Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.2.1	Bahan penelitian.....	21
3.2.2	Alat penelitian	21
3.3	Tahap Penelitian.....	21
3.3.1	Pembuatan simplisia	21
3.3.2	Pembuatan ekstrak	22
3.3.3	Uji aktivitas antioksidan.....	22
3.3.5	Analisis senyawa dengan GC–MS	24
3.3.6	Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan Metode Skrining Fitokimia.....	24
3.4	Variabel Penelitian.....	25
3.5	Rancangan Penelitian.....	25
3.6	Pengumpulan Data	26
BAB IV.....		27
HASIL DAN PEMBAHASAN		27
4.1	Hasil Penelitian	27
4.1.1	Hasil Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	27
4.1.2	Hasil Uji Skrining Fitokimia Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	28
4.1.3	Hasil Uji Uji Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ...	29
4.1.4	Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Metanol dan N-Heksan Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	33
4.2	Pembahasan.....	38
4.2.1	Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	38
4.2.2	Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	40
4.2.3	Uji <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS) Terhadap	

Ekstrak Metanol dan N-Heksan Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) ...	46
4.2.4 Uji DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Ekstrak Metanol dan N-Heksan Daun Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	51
BAB V.....	55
KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Pohon jeruk nipis	6
2.2	Daun jeruk nipis	7
2.3	DPPH (1) dalam bentuk radikal, (2) dalam bentuk stabil (Molyneux, 2004)	15
2.4	Alur biosintesis metabolit sekunder (Saifudin, 2014)	16
2.5	Skema alur instrumen <i>Gas Chromatography– MassSpectrometry</i> (GC–MS) (Emwas <i>et al.</i> , 2015)	18
4.1	Grafik Profil Kromatogram Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis <i>Citrus aurantifolia</i>	30
4.2	Grafik Profil Kromatogram Ekstrak N-heksan Daun Jeruk Nipis <i>Citrus aurantifolia</i>	32
4.3	Grafik Hubungan antara Konsentrasi Sampel dan %Inhibisi Ekstrak Metanol	35
4.4	Grafik Hubungan antara Konsentrasi Sampel dan %Inhibisi Ekstrak N-Heksan	36
4.5	Hasil Maserasi Ekstrak Metanol (1 botol besar) dan N- Hexsan (botol kecil)	38

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil Proses Ekstraksi	27
4.2	Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Jeruk Nipis	28
4.3	Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak <i>Metanol</i>	30
4.4	Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak N-heksan	32
4.5	Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol	34
4.6	Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-heksan	35
4.7	Klasifikasi Aktivitas Antioksidan	51

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1.	Tabel pengamatan data absorbansi uji antioksidan ekstrak metanol daunjeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
2.	Tabel pengamatan data absorbansi uji antioksidan ekstrak n-heksan daunjeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
3.	Tabel pengamatan data uji alkaloid ekstrak metanol dan n-heksan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
4.	Tabel pengamatan data uji flavonoid ekstrak metanol dan n-heksan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
5.	Tabel pengamatan data uji terpenoid dan steroid metanol dan n-heksan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
6.	Tabel pengamatan data uji saponin ekstrak metanol dan n-heksan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
7.	Tabel hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak metanol daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)
8.	Tabel hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak n-heksan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)