

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK LIMBAH KULIT, BIJI,  
DAN AMPAS JERUK SIAM KINTAMANI (*Citrus nobilis et reticulata*)  
DENGAN PELARUT METANOL**

**Ni Kadek Novia Puspita Dewi<sup>1</sup>, Pande Ayu Naya Kasih Permatananda<sup>2</sup>,  
Desak Putu Citra Udiyani<sup>3</sup>, Putu Nita Cahyawati<sup>4</sup>, Ni Wayan Erly Sintya  
Dewi<sup>5</sup>**

Universitas Warmadewa<sup>1,2,3,4,5</sup>  
nayakasih@gmail.com<sup>1</sup>

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan pada ekstrak limbah kulit, biji, dan ampas jeruk siam Kintamani serta memberikan implementasi nyata pengelolaan produk samping berbasis *zero waste system*. Metode yang digunakan adalah penelitian eksperimental murni dengan post-test only design. Ekstraksi dilakukan melalui maserasi berulang menggunakan pelarut metanol. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk siam Kintamani mampu mengubah warna ungu larutan DPPH menjadi pudar, sedangkan ekstrak biji dan ampasnya tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit jeruk siam Kintamani sebesar 136,17 ppm, biji jeruk siam 6727,86 ppm, dan ampas jeruk siam Kintamani 497,57 ppm. Simpulan, ekstrak kulit jeruk siam Kintamani memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan biji dan ampasnya, dengan kategori sedang berdasarkan klasifikasi Blois.

**Kata Kunci:** Aktivitas Antioksidan, Ampas Jeruk Siam Kintamani, Biji, DPPH, Kulit

**ABSTRACT**

*This study aims to analyze the antioxidant activity of waste extracts from the peel, seeds, and pulp of Kintamani tangerines and to implement a practical approach to by-product management based on a zero-waste system. The method used is a pure experimental study with a post-test only design. Extraction was carried out through repeated maceration using methanol as a solvent. Antioxidant activity was tested using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and analyzed with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 517 nm. The results showed that the peel extract of Kintamani tangerines could fade the purple color of the DPPH solution, whereas the seed and pulp extracts did not show a significant change. The IC<sub>50</sub> values were 136.17 ppm for the peel extract, 6727.86 ppm for the seed extract, and 497.57 ppm for the pulp extract. In conclusion, the peel extract of Kintamani*

*tangerines exhibited the highest antioxidant activity among the three extracts, categorized as moderate based on Blois' classification.*

**Keywords:** *Antioxidant Activity, Pulp, Kintamani Tangerine, Seed, DPPH, Peel*

## PENDAHULUAN

Jeruk (*Citrus* sp) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang produktivitasnya sangat tinggi. Produksi jeruk siam di Provinsi Bali yang tertinggi berada di Kabupaten Bangli tetapi menunjukkan jumlah yang berfluktuasi di tahun 2015-2019. Pada tahun 2015 produksinya sebanyak 100.223,8 ton, tahun 2016 sebanyak 63.425,50 ton, tahun 2017 sebanyak 100.162,77 ton, tahun 2018 sebanyak 106.029,10 ton, dan tahun 2019 sebanyak 2.523.062 ton (Nilayani et al., 2021). Komoditas jeruk sebagai buah lokal ini banyak dimanfaatkan untuk dikonsumsi dan digunakan sebagai sesajen di setiap upacara keagamaan di Bali (Dara et al., 2017). Produktivitas dan pemanfaatan jeruk yang tinggi ini terkadang tidak diimbangi dengan pengelolaan berkelanjutan berbasis *zero waste system* yang optimal, serta menyebabkan munculnya produk samping berupa limbah atau sampah yang tidak dimanfaatkan, seperti kulit, biji, dan ampas jeruk turut menyumbang peningkatan jumlah produksi sampah.

Menurut Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional (SIPSN) pada tahun 2022, jumlah produksi sampah Provinsi Bali di beberapa kabupaten, seperti di Kabupaten Gianyar, Kabupaten Badung, Kabupaten Buleleng, dan Kabupaten Karangasem sebanyak 525.962,04 ton per tahun. Sumber sampah paling banyak berasal dari sampah rumah tangga berupa sampah organik, seperti limbah buah-buahan, sayur, dan lainnya. Sampah organik diketahui menyumbang 30%-40% total sampah di dunia (Hemalatha & Visantini, 2020; Permatananda, Pandit, Cahyawati, et al., 2023).

*Zero waste system* merupakan strategi pengelolaan sampah berwawasan lingkungan, mencakup 5R (*reuse, reduce, recycle, replace, replant*). Konsep *zero waste system* yaitu membuat kondisi sampah dalam keadaan nol, tidak bersisa, dan menghindari penumpukan sampah. Namun, membuat kondisi nol sampah tersebut bukan berarti tidak ada lagi sampah yang dihasilkan karena sebagian besar aktivitas manusia menghasilkan limbah, melainkan sebagai suatu konsep yang menekankan pada upaya untuk mengurangi bahkan sampai “nol” jumlah sampah yang dibawa ke TPA (Udiyani et al., 2023). Prinsip-prinsip *zero waste system* yang dikembangkan di perkotaan sebagai bentuk mengelola sampah secara berkelanjutan, terdiri dari menghindari, menggunakan secara berulang, meminimalisir penggunaan, mendesain ulang, menghasilkan kembali, mendaur ulang, memperbaiki, pabrikasi kembali, menjual kembali, dan mendistribusikan kembali sumber daya sampah (Alisah, 2019).

Produk samping jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*) berupa kulit, biji, dan ampas sebenarnya kaya akan kandungan senyawa metabolit sekunder

yang bermanfaat bagi kesehatan. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tanaman dan berperan penting sebagai pertahanan tanaman. Berdasarkan penelitian Silalahi et al. (2022), produk samping hasil pengolahan buah jeruk berupa kulit dan biji diketahui terdapat komposisi senyawa bioaktif, seperti flavonoid, asam fenolik, mineral, dan karotenoid yang berperan sebagai senyawa antioksidan alami (Silalahi et al., 2022). Pada penelitian Sudiana et al. (2018), kulit jeruk kintamani (*Citrus aurantium* L.) memiliki komposisi senyawa flavonoid yang bermanfaat sebagai antioksidan serta diaplikasikan untuk menurunkan ketengikan minyak kelapa (Sudiana et al., 2008). Biji jeruk juga diketahui terdapat komposisi senyawa metabolit sekunder, berupa senyawa tokoferol ( $\alpha$ -tokoferol dan  $\gamma$ -tokoferol) dan karotenoid serta memiliki aktivitas antioksidan (Silalahi et al., 2022). Selain itu, berdasarkan penelitian Widayani et al. (2018) diketahui bahwa biji jeruk sambal memiliki komposisi senyawa triterpenoid yang dapat berperan sebagai antioksidan (Widayanti et al., 2018). Penelitian Kristiandi & Sitompul (2020) juga menyebutkan bahwa ampas jeruk siam mengandung 2,99% vitamin C yang bermanfaat sebagai antioksidan (Kristiandi & Sitompul, 2020). Selain sebagai antioksidan, senyawa metabolit sekunder pada produk samping jeruk siam kintamani berperan sebagai antibakteri, antikanker, antiradang, antivirus, dan aromaterapi (Silalahi et al., 2022).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nirmalasari et al. (2024) diperoleh hasil bahwa ekstrak kulit jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*) yang diuji dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut lainnya. Hasil tersebut diperkirakan terkait dengan senyawa bioaktif pada ekstrak kulit jeruk siam kintamani yang mempunyai sifat kepolaran yang relatif sama dengan kepolaran metanol, sesuai dengan prinsip “*like dissolves like*” (Nirmalasari et al., 2024). Namun, penelitian serupa terhadap produk samping buah jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*) lainnya, seperti biji dan ampas, belum pernah dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan pada berbagai produk samping atau limbah buah jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*). Dengan harapan penelitian ini dapat menjadi bagian dari implementasi *zero waste system* terhadap produk pertanian jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*).

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa, Denpasar. Penelitian ini dilaksanakan selama kurun waktu 1 tahun, menggunakan metode eksperimental dengan *post-test only design*. Penelitian ini berfokus pada analisis aktivitas antioksidan dari ekstrak limbah kulit, biji, dan ampas jeruk siam kintamani (*Citrus nobilis et reticulata*) dengan menerapkan

metode ekstraksi maserasi berulang atau remaserasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode uji DPPH (*Diphenylpicrylhydrazyl*). Analisis data berupa nilai IC<sub>50</sub> ditampilkan dalam bentuk rata-rata, simpang baku, dan diagram batang serta diklasifikasikan menurut klasifikasi Blois.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Dalam penelitian ini, digunakan berbagai alat dan bahan. Peralatan yang digunakan terdiri dari oven, timbangan, gelas beaker, labu Erlenmeyer, blender, wadah, spatula, tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, inkubator, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, pipet, mikropipet, lemari es, batang pengaduk, corong, vortex, shaker, kertas saring, dan label.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari jeruk siam kintamani yang diambil dari Desa Bayung Gede, Kintamani, Bangli, Bali. Sebanyak 10 kg jeruk siam kintamani menghasilkan 1.600 gram kulit jeruk siam, 250 gram biji jeruk siam, dan 500 gram ampas jeruk siam, serta larutan DPPH, pelarut metanol, dan air.

### **Prosedur Kerja Utama Penelitian**

#### **Persiapan Sampel**

Persiapan sampel dimulai dengan mempersiapkan 10 kg jeruk siam kintamani sesuai dengan kriteria umur petik 240–270 hari setelah bunga mekar, buah utuh, padat, penampilan buah bersih, bebas dari hama penyakit, serta bebas dari aroma dan rasa asing. Selanjutnya, kulit, biji, dan ampas jeruk dibersihkan dengan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan oven bersuhu 40°C–60°C. Setelah kering, massa setiap sampel ditimbang kembali karena adanya penurunan kadar air akibat proses pengeringan. Sampel yang sudah kering akan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk.

#### **Ekstraksi Bahan Aktif**

Bahan yang sudah halus menjadi bubuk selanjutnya ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup, lalu dilarutkan dengan pelarut metanol dengan rasio simplisia terhadap pelarut, yaitu 1:5. Setiap bahan yang telah dilarutkan dengan metanol dihomogenkan menggunakan shaker, kemudian dimaserasi selama 3×24 jam. Setiap 24 jam, ekstrak disaring menggunakan kertas saring yang ditampung dalam labu Erlenmeyer. Hasil penyaringan yang didapatkan berupa filtrat bening. Setelah didapatkan filtrat pertama, ekstrak akan dilarutkan kembali dengan pelarut metanol yang baru, dihomogenkan, dan setelah 24 jam disaring kembali hingga didapatkan filtrat kedua. Ekstrak dilarutkan kembali dengan pelarut metanol yang baru, dilakukan proses yang sama dengan ekstrak sebelumnya, dan didapatkan filtrat ketiga.

Bahan yang telah dimaserasi akan dilanjutkan dengan proses evaporasi menggunakan alat rotary evaporator. Evaporasi dilakukan pada suhu 40°C–50°C. Proses evaporasi nantinya akan didapatkan ekstrak kental berwarna pekat lalu ditempatkan dalam wadah tertutup. Selanjutnya, setiap ekstrak pekat dilakukan

perhitungan rendemen ekstrak. Rumus rendemen ekstrak ditunjukkan pada persamaan (1) (Chairunnisa et al., 2019):

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak berupa pasata (gram)}}{\text{Berat sampel kering (gram)}} \times 100\% \quad (1)$$

### Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan didahului dengan melarutkan setiap ekstrak dengan pelarut metanol hingga berkonsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, disesuaikan dengan jumlah sampel yang tersedia (Maulana, 2012). Pada setiap konsentrasi tersebut, dipipet sebanyak 3 mL dan dilarutkan dengan 1 mL larutan DPPH 100  $\mu\text{M}$  (Putranti, 2013). Kemudian, setiap sampel dihomogenkan dengan vortex lalu diinkubasi di tempat yang tidak terkena cahaya selama 30 menit. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Aktivitas antioksidan setiap sampel dinyatakan dalam % inhibisi. Rumus nilai % inhibisi ditunjukkan pada persamaan (2) (Deasy & Dewi, 2019):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

Data yang didapatkan akan dianalisis menggunakan persamaan  $y = A + Bx$ , yang ditentukan dengan perhitungan nilai regresi linear, di mana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan  $y$  adalah nilai % inhibisi. Nilai  $\text{IC}_{50}$  akan didapatkan dari nilai  $x$  setelah menggantikan  $y$  dengan 50. Semakin rendah nilai  $\text{IC}_{50}$ , semakin kuat aktivitas antioksidan sampel tersebut. Sebaliknya, semakin tinggi nilai  $\text{IC}_{50}$ , semakin lemah aktivitas antioksidan sampel tersebut. Kemudian, nilai  $\text{IC}_{50}$  diklasifikasikan berdasarkan klasifikasi Blois.

**Tabel 1. Klasifikasi Blois**

| No | Nilai $\text{IC}_{50}$ | Klasifikasi Aktivitas Antioksidan |
|----|------------------------|-----------------------------------|
| 1  | <50 ppm                | Sangat kuat                       |
| 2  | 50-100 ppm             | Kuat                              |
| 3  | 101-150 ppm            | Sedang                            |
| 4  | 151-200 ppm            | Lemah                             |
| 5  | >200 ppm               | Sangat lemah                      |

### HASIL PENELITIAN

Dari total 10 kg jeruk siam kintamani yang diambil dari Desa Bayung Gede, Kintamani, Bangli, didapatkan 1.600 gram kulit jeruk siam, 250 gram biji jeruk siam, dan 500 gram ampas jeruk siam. Setiap bahan dilakukan determinasi dan dibersihkan kembali menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan oven bersuhu  $40^{\circ}\text{C}$ – $60^{\circ}\text{C}$  selama beberapa menit sampai kering, disesuaikan dengan kondisi bahan. Setelah kering, sampel dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Setiap sampel berbentuk serbuk

ditimbang sebanyak 50 gram, lalu dilarutkan dengan pelarut metanol sebanyak 250 mL untuk dilakukan ekstraksi maserasi. Maserasi dilakukan berulang atau remaserasi selama  $3 \times 24$  jam dalam wadah tertutup sambil dihomogenkan menggunakan vortex. Setiap 24 jam, disaring menggunakan kertas saring hingga didapatkan filtrat berwarna bening. Setelah proses remaserasi selesai, filtrat akan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$ – $50^{\circ}\text{C}$  sampai didapatkan ekstrak kental. Sebelum pengujian aktivitas antioksidan, sampel akan dihitung nilai persentase rendemen ekstrak terlebih dahulu. Nilai rendemen ekstrak tertinggi diperoleh pada ekstrak kulit jeruk siam, sedangkan nilai rendemen ekstrak terendah didapatkan pada ekstrak biji jeruk siam (Tabel 2).

**Tabel 2. Persentase Rendemen Ekstrak Limbah Jeruk Siam Kintamani**

| Limbah | Pelarut | Berat pasta (gram) | Berat kering (gram) | Berat serbuk (gram) | % Rendemen |
|--------|---------|--------------------|---------------------|---------------------|------------|
| Kulit  | Metanol | 15,250             | 1.033,890           | 50                  | 30,500     |
| Biji   |         | 6,585              | 67,399              | 50                  | 13,170     |
| Ampas  |         | 12,726             | 114,631             | 50                  | 25,452     |

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit, biji, dan ampas jeruk siam kintamani dalam menghambat radikal bebas atau kemampuannya sebagai antioksidan. Secara kualitatif, aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan adanya kemampuan sampel untuk memudahkan warna violet larutan DPPH (Gambar 1). Berdasarkan Gambar 1, ekstrak kulit jeruk siam menunjukkan adanya perubahan warna violet menjadi pudar, sedangkan pada ekstrak biji dan ampas jeruk siam tidak signifikan menunjukkan adanya perubahan warna violet menjadi pudar.



**Gambar 1. Hasil Pengujian DPPH**

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari ekstrak kulit jeruk Siam Kintamani menggunakan pelarut metanol disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk Siam Kintamani dengan Pelarut Metanol**

| Replikasi | Konsentrasi | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Inhibisi | IC 50      |
|-----------|-------------|--------------------|-------------------|------------|------------|
| 1         | 20          | 0,529              | 0,464             | 12,287     | 6477,73783 |
|           | 40          |                    | 0,445             | 15,879     |            |
|           | 60          |                    | 0,444             | 16,068     |            |
|           | 80          |                    | 0,430             | 18,715     |            |
|           | 100         |                    | 0,419             | 20,794     |            |
| 2         | 20          | 0,529              | 0,497             | 6,049      | 6498,15641 |
|           | 40          |                    | 0,488             | 7,750      |            |
|           | 60          |                    | 0,481             | 9,074      |            |
|           | 80          |                    | 0,481             | 9,074      |            |
|           | 100         |                    | 0,471             | 10,964     |            |
| 3         | 20          | 0,529              | 0,516             | 2,457      | 7207,70583 |
|           | 40          |                    | 0,491             | 7,183      |            |
|           | 60          |                    | 0,465             | 12,098     |            |
|           | 80          |                    | 0,459             | 13,233     |            |
|           | 100         |                    | 0,455             | 13,989     |            |

Nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak biji jeruk Siam Kintamani yang diperoleh menggunakan pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Jeruk Siam Kintamani dengan Pelarut Metanol**

| Replikasi | Konsentrasi | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Inhibisi | IC 50      |
|-----------|-------------|--------------------|-------------------|------------|------------|
| 1         | 20          | 0,529              | 0,286             | 42,914     | 6477,73783 |
|           | 40          |                    | 0,128             | 74,451     |            |
|           | 60          |                    | 0,076             | 84,830     |            |
|           | 80          |                    | 0,048             | 90,419     |            |
|           | 100         |                    | 0,021             | 95,808     |            |
| 2         | 20          | 0,501              | 0,281             | 43,912     | 149,1948   |
|           | 40          |                    | 0,133             | 73,453     |            |
|           | 60          |                    | 0,088             | 82,435     |            |
|           | 80          |                    | 0,045             | 91,018     |            |
|           | 100         |                    | 0,023             | 95,409     |            |
| 3         | 20          | 0,501              | 0,271             | 45,908     | 112,9349   |
|           | 40          |                    | 0,123             | 75,449     |            |
|           | 60          |                    | 0,098             | 80,439     |            |
|           | 80          |                    | 0,035             | 93,014     |            |
|           | 100         |                    | 0,029             | 94,212     |            |

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak ampas jeruk Siam Kintamani dengan pelarut metanol ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ampas Jeruk Siam Kintamani dengan Pelarut Metanol**

| Replikasi | Konsentrasi | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Inhibisi | IC 50      |
|-----------|-------------|--------------------|-------------------|------------|------------|
| 1         | 20          | 0,493              | 0,476             | 3,488      | 200,974829 |
|           | 40          |                    | 0,468             | 5,071      |            |

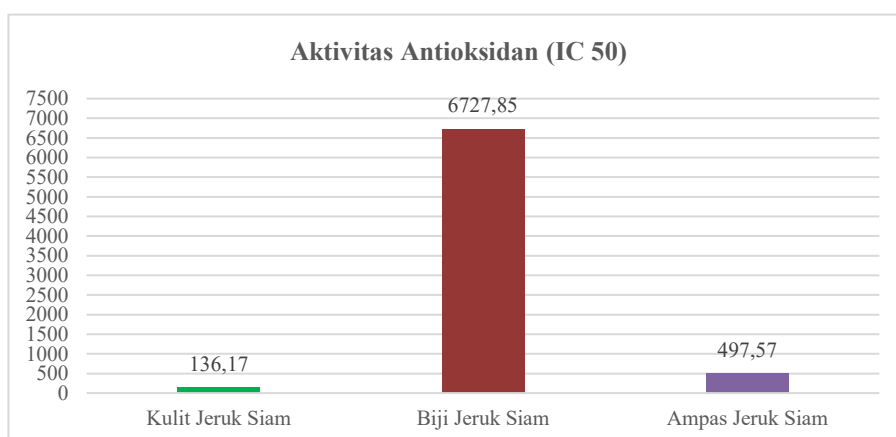
|   |     |       |       |        |            |
|---|-----|-------|-------|--------|------------|
|   | 60  |       | 0,450 | 8,722  |            |
|   | 80  |       | 0,409 | 17,039 |            |
|   | 100 |       | 0,299 | 39,351 |            |
| 2 | 20  | 0,493 | 0,484 | 1,826  | 602,493125 |
|   | 40  |       | 0,481 | 2,434  |            |
|   | 60  |       | 0,466 | 5,477  |            |
|   | 80  |       | 0,449 | 8,925  |            |
|   | 100 |       | 0,452 | 8,316  |            |
| 3 | 20  | 0,493 | 0,491 | 0,406  | 635,252133 |
|   | 40  |       | 0,477 | 3,245  |            |
|   | 60  |       | 0,475 | 3,651  |            |
|   | 80  |       | 0,460 | 6,694  |            |
|   | 100 |       | 0,476 | 3,488  |            |

Kulit jeruk siam kintamani memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  136,17. Berdasarkan klasifikasi Blois, aktivitas antioksidan kulit jeruk termasuk dalam kategori sedang dengan rentang nilai  $IC_{50}$  100-150 ppm. Sedangkan biji jeruk siam dan ampas jeruk siam memiliki aktivitas antioksidan dengan masing-masing nilai  $IC_{50}$  6727,86 dan 497,57. Aktivitas antioksidan kedua sampel tersebut berdasarkan klasifikasi Blois termasuk kategori sangat lemah dengan nilai  $>200$  ppm. Tabel 6 menunjukkan hasil nilai  $IC_{50}$  dan interpretasi berdasarkan klasifikasi Blois setiap sampel uji.

**Tabel 6. Rata-Rata  $IC_{50}$  dan Interpretasi dalam Klasifikasi Blois**

| Ekstrak Limbah Jeruk Siam Kintamani | Pelarut | $IC_{50}$ (Rata-rata $\pm$ Simpang Baku) | Interpretasi |
|-------------------------------------|---------|------------------------------------------|--------------|
| Kulit                               | Metanol | $136,17 \pm 20,17$                       | Sedang       |
| Biji                                |         | $6727,86 \pm 415,67$                     | Sangat Lemah |
| Ampas                               |         | $497,57 \pm 241,82$                      | Sangat Lemah |

Gambar 2 menunjukkan hasil nilai  $IC_{50}$  dan interpretasi berdasarkan klasifikasi Blois setiap sampel uji.



**Gambar 2. Perbandingan Rata-Rata Nilai  $IC_{50}$**

## PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses berpindahnya zat dari larutan atau padatan asalnya ke suatu pelarut organik tertentu yang digunakan (Aji et al., 2017). Ekstraksi yang paling sering dilakukan yaitu ekstraksi maserasi. Prinsipnya, ekstraksi maserasi terjadi dalam beberapa tahap. Tahapan maserasi diawali dengan perendaman sampel ke dalam pelarut organik yang digunakan. Ketika pelarut melewati dinding sel tanaman menuju celah sel yang terdapat senyawa metabolit sekunder atau zat aktif, zat aktif akan larut oleh pelarut yang digunakan lalu akan berdifusi keluar sel. Proses tersebut akan terus berlangsung berulang-ulang hingga mencapai titik keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel serta pelarut sudah mencapai titik jenuhnya dalam mengikat zat aktif. Penggunaan metode ekstraksi maserasi dikarenakan metode ini lebih sederhana, praktis, dan peralatan yang cukup mudah ditemukan. Namun, kekurangan maserasi yaitu memerlukan pelarut dalam jumlah cukup banyak dan waktu yang relatif lama (Agustini, 2018).

Pemilihan pelarut organik yang sesuai dengan kepolaritasan senyawa metabolit sekunder yang ditargetkan juga penting sesuai prinsip *“like dissolve like.”* Berdasarkan penelitian Permatananda et al. (2024), menyebutkan bahwa penggunaan pelarut metanol menghasilkan lebih banyak residu ketika dibandingkan baik dengan pelarut polar lainnya seperti etanol dan air maupun dengan pelarut nonpolar. Sehingga penggunaan pelarut metanol dalam proses ekstraksi mampu melarutkan senyawa dengan jumlah yang lebih banyak untuk diekstraksi (Permatananda et al., 2024). Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut metanol disebabkan oleh efektivitas ekstraksi yang sangat tergantung pada kelarutan suatu pelarut dengan senyawa metabolit sekunder yang ditargetkan. Diketahui bahwa sebagian besar senyawa metabolit sekunder pada limbah jeruk siam Kintamani bersifat polar sehingga penggunaan metanol yang juga bersifat polar akan memudahkan larutnya senyawa metabolit sekunder (Verdiana et al., 2018).

---

### Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak sebagai perbandingan antara berat ekstrak berbentuk pasta dengan berat ekstrak berbentuk serbuk menunjukkan banyak atau sedikitnya konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang mampu diikat oleh pelarut. Tinggi rendahnya nilai persentase rendemen ekstrak dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis pelarut yang digunakan dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman (Permatananda, Pandit, Udiyani, et al., 2023). Pelarut metanol termasuk pelarut polar yang memiliki sifat mudah menguap dan mampu melarutkan hampir semua senyawa organik. Oleh karena itu, pelarut metanol mampu mengikat atau melarutkan senyawa metabolit sekunder lebih baik sehingga dapat menghasilkan nilai rendemen ekstrak lebih tinggi. Semakin banyak

konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat kepolaran sama dengan metanol, maka nilai rendemen ekstrak yang didapatkan juga lebih tinggi. Berbeda halnya dengan tanaman yang memiliki konsentrasi senyawa metabolit sekunder bersifat polar lebih sedikit tentu akan dihasilkan nilai rendemen ekstrak yang lebih rendah juga (Permatananda et al., 2020).

Berdasarkan hasil persentase rendemen ekstrak pada Tabel 2, ekstrak kulit jeruk memiliki nilai rendemen ekstrak paling tinggi, diikuti oleh nilai rendemen ekstrak ampas jeruk siam, dan yang paling rendah adalah rendemen ekstrak biji jeruk siam. Nilai rendemen ekstrak menunjukkan bahwa pada ekstrak kulit jeruk siam Kintamani, banyak terdapat komposisi senyawa metabolit sekunder yang memiliki kepolaritasan yang sama dengan pelarut metanol. Sehingga pelarut metanol mampu mengikat atau melarutkan senyawa metabolit sekunder tersebut dengan optimal. Berbeda halnya pada ekstrak biji jeruk siam, nilai rendemen yang diperoleh paling rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak biji jeruk siam Kintamani sedikit terdapat komposisi senyawa metabolit sekunder yang memiliki kepolaritasan yang sama dengan pelarut metanol. Sehingga pelarut metanol tidak mampu mengikat atau melarutkan senyawa metabolit sekunder tersebut dengan optimal, hanya sedikit yang dapat dilarutkan. Pada ampas jeruk siam, komposisi senyawa metabolit sekunder dengan kepolaritasan yang sama dengan metanol lebih banyak daripada ekstrak biji jeruk, sehingga nilai rendemen ampas jeruk siam lebih tinggi daripada rendemen biji jeruk siam. Tinggi atau rendahnya nilai rendemen ekstrak akan memengaruhi nilai  $IC_{50}$  dan kuat atau lemahnya aktivitas antioksidan (Nirmalasari et al., 2024).

### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak kulit, biji, dan ampas jeruk siam Kintamani diuji menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). DPPH merupakan radikal bebas yang sifatnya tergolong stabil dan dapat dilarutkan dengan pelarut polar seperti metanol. Metode DPPH sering digunakan karena prosesnya yang sederhana dan tidak memerlukan waktu yang lama. Selain itu, kepraktisan, kecepatan, tingkat sensitivitas, dan sedikitnya penggunaan ekstrak sampel pada metode uji dengan DPPH membuat metode ini lebih sering dipilih (Nirmalasari et al., 2024). Prinsip kerja DPPH yaitu mendonorkan satu atom bebasnya ke atom yang lain untuk dapat menerima proton atau atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang direaksikan. Ketika senyawa DPPH dilarutkan dengan senyawa lain yang mampu mendonorkan satu atom hidrogennya, maka DPPH akan menjadi DPPH-H yang awalnya berwarna ungu pekat akan memudar (Theafelicia & Wulan, 2023).

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 1, ekstrak kulit jeruk siam Kintamani mampu memudarkan warna violet DPPH. Hal tersebut mendefinisikan bahwa secara kualitatif ekstrak kulit jeruk siam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Berbeda dengan hasil pada ekstrak biji jeruk siam dan ampas jeruk siam yang

tidak signifikan menunjukkan perubahan warna DPPH menjadi pudar. Tidak terjadinya perubahan warna violet DPPH oleh ekstrak biji dan ampas jeruk siam mendefinisikan bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 3, Tabel 4, Tabel 5, dan Tabel 6, aktivitas antioksidan berupa nilai  $IC_{50}$  yang didapat bervariasi. Perbedaan nilai  $IC_{50}$  atau aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel dipengaruhi beberapa faktor, seperti perbedaan suhu, perubahan pH, oksidasi, lamanya waktu penyimpanan, jenis pelarut, dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan seperti fenol dan flavonoid yang konsentrasinya berbeda untuk setiap komponen limbah jeruk siam Kintamani yang digunakan (Febrianti et al., 2019).

Nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak kulit jeruk siam sebesar 136,17 ppm termasuk kategori sedang dalam klasifikasi Blois. Kulit jeruk siam Kintamani diketahui memiliki komponen senyawa metabolit sekunder yang sebagian besar bersifat polar, seperti flavonoid, fenolik, dan saponin (Hidayah & Anggarani, 2022). Sehingga pelarut metanol mampu mengikat atau melarutkan senyawa tersebut dengan baik yang dapat dilihat dari nilai % rendemen ekstrak kulit jeruk siam Kintamani didapatkan paling besar dan aktivitas antioksidan yang sedang. Hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Febiana (2021), pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada kulit jeruk nipis dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 61,46 ppm, kulit jeruk lemon dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 64,48 ppm, dan kulit jeruk manis dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 71,27 ppm yang termasuk dalam kategori aktivitas sangat kuat menurut klasifikasi Blois (Febiana, 2021).

Nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak biji jeruk siam sebesar 6727,86 ppm dan termasuk kategori sangat lemah berdasarkan klasifikasi Blois. Biji jeruk siam Kintamani diketahui memiliki komponen senyawa metabolit sekunder, seperti triterpenoid atau steroid dan minyak atsiri yang bersifat nonpolar (Hidayah & Anggarani, 2022). Sehingga pelarut metanol tidak mampu melarutkan senyawa tersebut dengan baik yang dapat dilihat dari nilai % rendemen ekstrak biji jeruk siam Kintamani didapatkan paling rendah dan nilai  $IC_{50}$  yang paling tinggi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Widayanti et al. (2018) didapatkan hasil yang berbeda dari pengujian aktivitas antioksidan biji jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) menggunakan metode DPPH dengan nilai  $IC_{50}$  199,18 ppm termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan lemah berdasarkan klasifikasi Blois (Widayanti et al., 2018).

Nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak ampas jeruk siam sebesar 497,57 ppm dan termasuk kategori sangat lemah berdasarkan klasifikasi Blois. Ampas jeruk siam Kintamani diketahui memiliki komponen senyawa metabolit sekunder, seperti vitamin C dan pektin yang bersifat polar (Kristiandi et al., 2022). Sehingga pelarut metanol mampu mengikat atau melarutkan senyawa tersebut dengan baik. Namun, konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan masih cukup sedikit. Hal tersebut menyebabkan pelarut metanol tidak maksimal

melarutkan senyawa metabolit sekunder, akibatnya nilai % rendemen rendah dan nilai IC<sub>50</sub> juga termasuk kategori sangat lemah. Namun, penelitian aktivitas antioksidan ampas jeruk siam masih jarang dilakukan sehingga masih kurang data pembandingan yang relevan.

## SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini, yaitu ekstrak kulit, biji, dan ampas jeruk siam sebagai produk samping jeruk siam berpotensi sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil penelitian yang didapat, ekstrak kulit jeruk siam memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik daripada ekstrak biji dan ampas jeruk siam kintamani. Namun nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit jeruk siam termasuk kategori sedang berdasarkan klasifikasi Blois sedangkan ekstrak biji dan ampas jeruk siam dalam klasifikasi Blois termasuk aktivitas antioksidan sangat lemah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. P. E. (2018). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun secang terhadap pertumbuhan bakteri*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.
- Aji, A., Bahri, S., & Tantalia. (2017). Pengaruh waktu ekstraksi dan konsentrasi HCl untuk pembuatan pektin dari kulit jeruk bali (*Citrus maxima*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 6(1), 33–44. <https://doi.org/10.29103/jtku.v6i1.467>
- Alisah, E. (2019). Aplikasi *zero waste* dalam lingkungan masyarakat Desa Tumpukrenteng dengan pendekatan *asset-based community development theory*. *Journal of Research on Community Engagement*, 1(1), 28–32.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551–560. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Dara, M. M. F., Warpala, I. W. S., & Julyasih, K. S. M. (2017). Isolasi dan identifikasi jamur endofit pada tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis*) di Desa Kintamani Bangli Bali. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 4(2). <https://doi.org/10.23887/jjpb.v4i2.21575>
- Deasy, A., & Dewi, R. (2019). Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dan aplikasinya sebagai pengawet pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), 83–90. <https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.83>
- Febiana, R. (2021). *Perbandingan aktivitas antioksidan variasi ekstrak kulit buah jeruk (Citrus sp.) dengan metode DPPH* [Skripsi, Stikes Nasional Surakarta].
- Febrianti, D. R., Ariani, N., Niah, R., & Jannah, R. (2019). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit jeruk siam banjar (*Citrus reticulata*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 1–6.

- Hemalatha, M., & Visantini, P. (2020). Potential use of eco-enzyme for the treatment of metal-based effluent. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 716(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/716/1/012016>
- Hidayah, L. A., & Anggarani, M. A. (2022). Determination of total phenolic, total flavonoid, and antioxidant activity of India onion extract. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(2), 123–135. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v11i2.54610>
- Khairunnisa, N. (2017). *Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun zaitun (Olea europaea L.) menggunakan pelarut air dengan metode DPPH* [Skripsi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta].
- Kristiandi, K., Fertiasari, R., Asta, H., & Antopani, T. (2022). Analisis fitokimia dan kandungan vitamin C pada biskuit dengan penambahan bubuk ampas jeruk siam (*Citrus nobilis microcarpa*). *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 22(1), 24–29.
- Kristiandi, K., & Sitompul, N. (2020). Retensi vitamin C pada olahan limbah jeruk siam (*Citrus nobilis* sin. *Citrus reticulata*). *Prosiding Seminar Nasional Riset Teknologi Terapan*, 1–7.
- Maulana, A. (2012). *Aktivitas antioksidan rumput laut Euchema spinosum* [Skripsi, Institut Pertanian Bogor].
- Nilayani, N. L., Arnawa, I. K., & Sukanteri, N. P. (2021). Pemasaran jeruk siam Kintamani. *Agrimeta*, 11(21), 33–38.
- Nirmalasari, N. K. D. A., Permatananda, P. A. N. K., Udiyani, D. P. C., Aryastuti, A. A. S. A., & Dewi, E. S. (2024). Aktivitas antioksidan ekstrak limbah kulit jeruk siam Kintamani (*Citrus nobilis*) dengan pelarut polar, semipolar, dan nonpolar. *Jurnal Ners*, 8(1), 173–178.
- Permatananda, P. A. N. K., Aryastuti, A. A. S. A., Cahyawati, P. N., Udiyani, D. P. C., Wijaya, D., Pandit, I. G. S., & Wirajaya, A. A. N. M. (2020). Phytochemical and antioxidant capacity test on turmeric extract (*Curcuma longa*) traditionally processed in Bali. *Jurnal Bali Membangun Bali*, 1, 135–141.
- Permatananda, P. A. N. K., Pandit, I. G. S., Cahyawati, P. N., & Lestarini, A. (2023). Studi literatur potensi penggunaan *eco enzyme* sebagai alternatif tata laksana kimiawi pada limbah pemindangan. *Jurnal Education and Development*, 11(2), 8–12. <https://doi.org/10.37081/ed.v11i2.4383>
- Permatananda, P. A. N. K., Pandit, I. G. S., Udiyani, D. P. C., & Wimpy. (2024). Antioxidant activity of Kintamani Siamese orange peel extract (*Citrus nobilis*) with different polar solvents: An *in vitro* experimental study. *Multidisciplinary Science Journal*, 6, e2023020.
- Putranti, R. I. (2013). *Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara* [Skripsi, Universitas Diponegoro Semarang].

- Silalahi, K. P., Swasti, Y. R., & Pranata, F. S. (2022). Aktivitas antioksidan dari produk samping olahan jeruk. *Amerta Nutrition*, 6(1), 100–111. <https://doi.org/10.20473/amnt.v6i1.2022.100-111>
- Sudiana, P. O., Parwata, I. M. O. A., & Sibarani, J. (2008). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk Kintamani (*Citrus aurantium* L.) dalam menurunkan ketengikan minyak kelapa. *Jurnal Kimia*, 12(1), 1–7.
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. (2023). Perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS, dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1). <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2023.024.01.4>
- Udiyani, D. P. C., Permatananda, P. A. N. K., & Pandit, I. G. S. (2023). Pelatihan pengolahan limbah berbasis *zero waste* pada kelompok remaja Desa Kerta, Payangan. *Jurnal Pelayanan Hubungan Masyarakat*, 1(2), 8–17.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(4), 213–222.
- Widayanti, S., Rudyansyah, & Alimuddin, A. H. (2018). Penentuan struktur senyawa antioksidan limonoid dari biji jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) Kalimantan Barat. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1(3), 77–82.