

## Uji Antioksidan dan Karakterisasi Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C)

Fadzil Latifah<sup>1\*</sup>, Hudan Taufiq<sup>2</sup> dan Nur Maulida Fitriyana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Jl Raya Kaligawe KM 4, Kota Semarang, Indonesia, 50112.

<sup>2</sup>Laboratorium Farmakokimia, Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Jl Raya Kaligawe KM 4, Kota Semarang, Indonesia, 50112.

<sup>3</sup>Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Jl Raya Kaligawe KM 4, Kota Semarang, Indonesia, 50112.

\*email korespondensi: [fadzillatifah@unissula.ac.id](mailto:fadzillatifah@unissula.ac.id)

Diterima 16 November 2022, Disetujui 23 Februari 2023, Dipublikasi 30 Maret 2023

**Abstrak:** Minyak atsiri banyak digunakan sebagai bahan baku kosmetik, salah satunya minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai antioksidan. Berkembangnya pasar minyak atsiri menjadi faktor pendorong pemalsuan karena hasil produksi rendah, tidak adanya standar kualitas minyak atsiri yang diproduksi ditandai dengan sulitnya dalam mengidentifikasi produk yang dipalsukan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan (nilai IC<sub>50</sub>) dan karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai acuan standar kualitas. Kulit buah jeruk purut disuling menggunakan metode penyulingan uap dan air. Aktivitas antioksidan sampel minyak atsiri kulit jeruk purut dan trolox diuji menggunakan metode CUPRAC. Persen rendemen, total minyak, kecerahan, berat jenis, indeks bias, rotasi optik, bilangan asam, kelarutan dalam alkohol, bilangan ester, dan analisis senyawa dengan GC-MS. Hasil aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dan kontrol positif trolox terdapat perbedaan signifikan ( $p \leq 0,05$ ), dengan nilai IC<sub>50</sub> 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°C, nilai indeks bias 1,4710, rotasi optik +12,70, bilangan asam 0,8415, larut dalam 1:6 bagian alkohol 90%, bilangan ester 19,635 serta mengandung 25 senyawa dengan tiga senyawa tertinggi  $\beta$ -pinene, limonene, sabinene. Aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut tergolong sangat kuat dan karakteristik sesuai standar.

**Kata kunci:** CUPRAC; GC-MS; IC<sub>50</sub>; minyak jeruk purut; trolox

**Abstract. Antioxidant Assay and Characterization of Essential Oil from Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D. C) Peel.** Essential oils have been widely used as cosmetic raw materials, one of them is kaffir lime peel for antioxidants. Low production yields, and no quality standards lead to fabrication, be marked difficulty in identifying counterfeit products. This study aimed to identify the antioxidant activity (IC<sub>50</sub> value) and the characteristics of kaffir lime peel essential oil. The kaffir lime peel was distilled using the steam and water distillation method. Its antioxidant activity and positive controls were tested using CUPRAC. The percentage of yield, total oil, brightness, specific gravity, refractive index, optical rotation, acid number, solubility in alcohol, ester number, and GC-MS compound analysis. The antioxidant activity and positive control Trolox showed a significant difference ( $p \leq 0,05$ ) with IC<sub>50</sub> values of 23,4182 ppm and 53,8605 ppm. Kaffir lime peel essential oil showed a yield of 1,86045%, colorless, specific gravity of 0,84028 g/ml at 25°C, refractive index value of 1,4710, optical rotation of +12,70, acid number of 0,8415, soluble in 1:6 of 90% alcohol, ester number of 19,635 and 25 compounds with the three highest compounds of  $\beta$ -pinene, limonene, and sabinene. Antioxidant activity this essential oil is very strong and its characteristics of meet the standard.

**Keywords:** CUPRAC; GC-MS; IC<sub>50</sub>; kaffir lime peel essential oil; trolox

---

## 1. Pendahuluan

Minyak *kaffir lime* (*Citrus hystrix* D.C) 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% (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). 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. Bulan Maret tahun 2020 di masa pandemic Covid 19, nilai ekspor minyak atsiri Indonesia ke Swiss naik lebih dari 300%. *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 sintesis, 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. Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) belum memiliki Standar Nasional Indonesia (SNI) sebagai acuan kualitas minyak atsiri yang diproduksi, sehingga mudah terjadinya pemalsuan (Badan Standarisasi Nasional, 2019).

Pasar minyak atsiri yang berkembang pesat, menjadikan salah satu faktor pendorong terjadinya pemalsuan minyak atsiri. 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. Hal yang mendasari terjadinya pemalsuan diantaranya, hasil produksi rendah dibandingkan dengan biaya produksi minyak berkualitas tinggi, pengadaan bahan baku yang kurang baik, belum terdapatnya standar kualitas minyak atsiri yang diproduksi, ditandai dengan tantangan sulinya dalam mengidentifikasi produk jadi yang dipalsukan (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.

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<sub>50</sub> 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 monoterpen hidrokarbon (MH). Yamunadevi *et al.* (2011), secara fisika golongan terpenoid bersifat larut dalam lemak atau non polar dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Minyak atsiri terdiri dari senyawa volatil yang berasal dari terpenoid dan non terpenoid (Agouillal *et al.*, 2017), minyak atsiri berupa cairan hidrofobik yang mudah menguap (Kementerian Perdagangan RI, 2011).

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 (Karadag *et al.*, 2009). Selain metode DPPH terdapat metode CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*) 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). Disamping 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. Oleh karena itu peneliti menggunakan metode CUPRAC (Karadag *et al.*, 2009). Kelebihan metode CUPRAC tersebut maka peneliti menggunakannya dalam penentuan aktivitas antioksidan pada sampel minyak atsiri dari kulit jeruk purut. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan karakteristik minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) yang mana hasil akhir dari penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan standar kualitas dari minyak atsiri kulit jeruk purut untuk mengurangi terjadinya pemalsuan karena belum terdapatnya SNI minyak atsiri kulit jeruk purut.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Bahan

Minyak atsiri kulit jeruk purut yang diperoleh dari kulit buah jeruk purut segar yang sudah cukup tua (berwarna hijau tua), dipetik di pagi hari jam 05.30 WIB pada bulan Oktober tahun 2021, dan diperoleh dari Desa Dukuhkembar, Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah, akuades (teknis), etanol absolut for analysis (Merck; Germany), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat for analysis (Merck; Germany), KOH for analysis (Merck; Germany), HCl 37% for analysis (Merck; Germany), indikator fenolfthalein 1% for analysis (Merck; Germany), CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 99,1% for analysis (Merck; Germany), Dapar ammonium asetat for analysis (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 98,9% (Merck; Germany), Larutan neokuproin ≥98% for analysis (Sigma-aldrich; St. Louis, MO), Trolox 97% for analysis (Sigma-aldrich; St. Louis, MO).

## 2.2. Metode

### 2.2.1. Penyulingan minyak atsiri

Bahan baku kulit jeruk purut segar disiapkan, kemudian dilakukan perajangan dan segera dimasukkan ke dalam labu ekstraktor rangkaian alat destilasi gelas (Schott Duran; Germany). Penyulingan menggunakan metode penyulingan air dan uap (water and steam distillation), dilakukan sebanyak 2 kali penyulingan terhadap 1,670 kg kulit jeruk purut yang berasal dari 6 kg jeruk purut yang masih segar. Kulit jeruk purut disuling dengan suhu 100°C selama 7 jam (Hidayati, 2012). Minyak atsiri yang diperoleh dikeringkan dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat untuk mengurangi kadar air dalam minyak atsiri, dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat dipisahkan dengan minyak atsiri dengan cara disaring (Anggraini *et al.*, 2018).

### 2.2.2. Pembuatan larutan

Larutan CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O konsentrasi 0,01 M dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,1704 g dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O dilarutkan menggunakan akuades sampai tanda batas. Dapar ammonium asetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 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). Trolox digunakan sebagai kontrol positif, larutan seri trolox dan larutan seri minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) dibuat dalam konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dan dilarutkan menggunakan alkohol 96%, sampai tanda batas dan direplikasi sebanyak 3 kali (Awaluddin & Sri, 2019).

### 2.2.3. Penentuan panjang gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan terhadap blanko yang terdiri dari 1 ml larutan CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,01 M, kemudian ditambah 1 ml dapar ammonium asetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 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.*, 2016). Blanko dimasukkan dalam tabung reaksi dalam keadaan tanpa terkena cahaya dan pada suhu kamar (Awaluddin & Sri, 2019). Absorbansi blanko diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Agilent Carry 60) dengan panjang gelombang 400-600 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum (Ramadhan *et al.*, 2020).

### 2.2.4. Penentuan waktu inkubasi

Larutan kontrol positif troloks 0,5 ml dengan konsentrasi 10 ppm direaksikan dengan 1 ml larutan CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,01 M, 1 ml dapar ammonium asetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 1M pH 7,0, lalu ditambah 1 ml larutan neokuproin dengan konsentrasi 0,0075 M dan ditambahkan 0,6 ml

akuades. Didiamkan dalam keadaan tanpa cahaya pada suhu ruang dan diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis (Agilent Carry 60) 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).

#### 2.2.5. Penentuan aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) larutan troloks dan sampel minyak atsiri

Larutan CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,01 M sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambah 1 ml dapar ammonium asetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 1M pH 7,0, 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.*, 2016). Larutan didiamkan selama beberapa waktu sesuai dengan hasil penentuan waktu inkubasi dalam keadaan tanpa terkena cahaya pada suhu kamar (Awaluddin & Sri, 2019). Absorbansi larutan seri troloks maupun larutan sampel minyak atsiri diukur dengan panjang gelombang maksimum yang sudah didapatkan, kemudian hitung persen inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>.

### 2.3. Karakterisasi

#### 2.3.1. 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). Hasil minyak atsiri kulit jeruk purut yang sudah terkumpul, kemudian dihitung persen rendemen menggunakan Persamaan 1 dan total minyak yang dihasilkan.

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

**Persamaan 1.** Persentase rendemen hasil minyak atsiri kulit jeruk purut (Anggraini *et al.*, 2018).

#### 2.3.2. Kecerahan atau warna minyak atsiri

Warna atau kecerahan minyak atsiri merupakan salah satu parameter kualitas dari minyak atsiri. Minyak atsiri dipipet sebanyak 10 ml, dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu disandarkan pada kertas karton putih dan dilakukan pengamatan secara langsung dengan jarak 30 cm. Hasil dinyatakan sesuai dengan warna sampel minyak atsiri yang diamati (Rahman *et al.*, 2019).

#### 2.3.3. Uji berat jenis.

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). Pengujian berat jenis mengacu pada SNI 06-2385-2006 ( Badan Standarisasi Nasional, 2006).

#### 2.3.4. Uji indeks bias

Pengujian menggunakan refractometer abbe digital. Alat ditempatkan pada tempat yang memiliki pencahayaan yang bagus, 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). Pengujian dilakukan di CEOS UII.

#### 2.3.5. Uji rotasi optik

Pengujian menggunakan alat polarimeter (Atago Polax-2L; Japan). Sumber cahaya dinyalakan, kemudian tabung polarimeter 100 mm yang berisi sampel minyak atsiri yang sebelumnya telah bersuhu 25°C ditempatkan di bawah 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).

#### 2.3.6. Penetapan bilangan asam

Minyak atsiri ditimbang sebanyak 4 g dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 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 (Rahman *et al.*, 2019). Bilangan Asam dihitung menggunakan Persamaan 2.

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

**Persamaan 2.** Penetapan bilangan asam dari minyak atsiri kulit jeruk purut (Rahman *et al.*, 2019). 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).

#### 2.3.7. Uji kelarutan dalam alkohol

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 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 (Rahman *et al.*, 2019).

### 2.3.8. Penetapan bilangan ester

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 (Rahman *et al.*, 2019). Bilangan ester dihitung menggunakan Persamaan 3.

$$\text{Bilangan ester} = \frac{56,1 (V_1 - V_0)N}{m}$$

**Persamaan 3.** Penetapan bilangan ester minyak atsiri kulit jeruk purut. (Rahman *et al.*, 2019). 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).

### 2.3.9. 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 instrumen GC-MS tipe (Shimadzu QP2010 SE; Japan) dengan kondisi Tabel 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 1.** Kondisi instrument GC-MS tipe (Shimadzu QP2010 SE; Japan) untuk analiis komponen minyak atsiri kulit jeruk purut.

Komponen	Kondisi
Kolom	Rtx-5MS (5% diphenyl / 95% dimethyl polysiloxane)
Panjang	30m
Diameter	0,25 mm
Tebal	0,25 $\mu$ m
Gas pembawa	Helium
Suhu kolom maksimal	330°C

### 2.3.10. Analisis hasil

Data karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut secara deskriptif dengan membandingkan dengan literatur standar (ISO). 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%).

### 3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  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 GC-MS, dan uji antioksidan metode CUPRAC, yang mana hasil akhir dari penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan standar kualitas dari minyak atsiri kulit jeruk purut untuk mengurangi terjadinya pemalsuan karena belum terdapatnya SNI.

#### 3.1. Pembacaan panjang gelombang dan waktu inkubasi

Hasil pengujian panjang gelombang maksimum minyak atsiri kulit jeruk purut dengan metode CUPRAC menunjukkan nilai panjang gelombang ( $\lambda$ ) sebesar 447 nm (Gambar 1). Penelitian Awaluddin & Sri (2019) menunjukkan panjang gelombang maksimum metode CUPRAC yang didapatkan adalah 452 nm. Pengujian pada penelitian 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  $\alpha$ -tokoferol, serta sering digunakan sebagai pembanding kontrol positif (Haeria *et al.*, 2018).

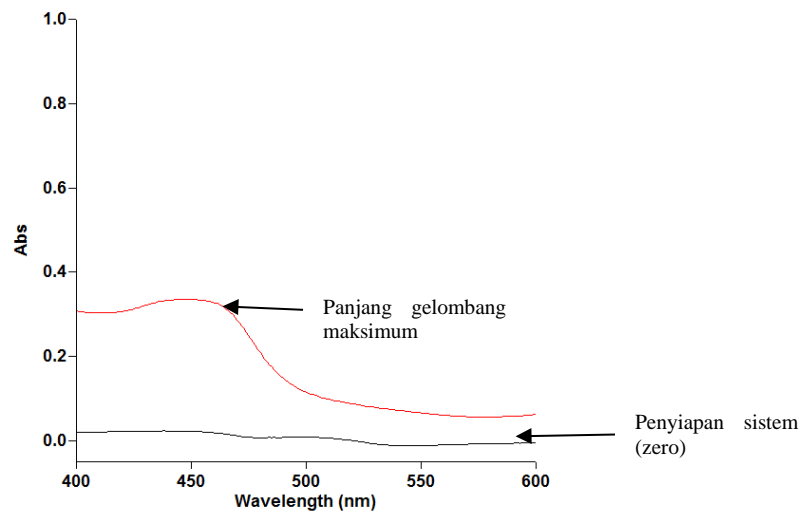
Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui waktu maksimal saat nilai absorbansi stabil dari reaksi antara reagen dengan sampel (Isnindar *et al.*, 2017). Waktu inkubasi yang diperoleh yaitu selama 45 menit (Gambar 2), sedangkan menurut penelitian Awaluddin & Sri (2019), waktu inkubasi yang didapatkan adalah selama 1 jam. Reagen CUPRAC dengan sampel akan berubah warna dari biru menjadi kuning jika sampel memiliki aktivitas antioksidan (Ramadhan *et al.*, 2020).

#### 3.2. Uji antioksidan

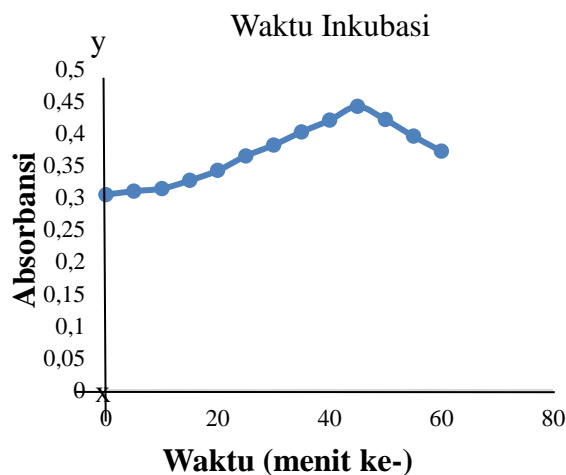
Hasil uji antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dan kontrol positif trolox dapat dilihat pada Tabel 2. Pengujian aktivitas antioksidan metode CUPRAC, nilai  $IC_{50}$  trolox pengujian dari replikasi 1 sampai 3 dengan literatur sama – sama dalam kategori kuat secara berturut – turut yaitu sebesar 52,9741 ppm; 54,3463 ppm; 54,2613 ppm (rata – rata 53,8605 ppm) dan 97,8 ppm



(Awaluddin & Sri, 2019). Nilai IC<sub>50</sub> minyak atsiri kulit jeruk purut dengan pengujian dari replikasi 1 sampai 3 juga dalam kategori yang sama yaitu sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 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). IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm dapat dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat, 50-100 ppm kategori antioksidan kuat, 101-150 ppm kategori antioksidan sedang, dan lebih dari 150-200 ppm kategori antioksidan lemah dan dinyatakan lemah jika > 200 ppm (Antarti & Lisnasari, 2018).



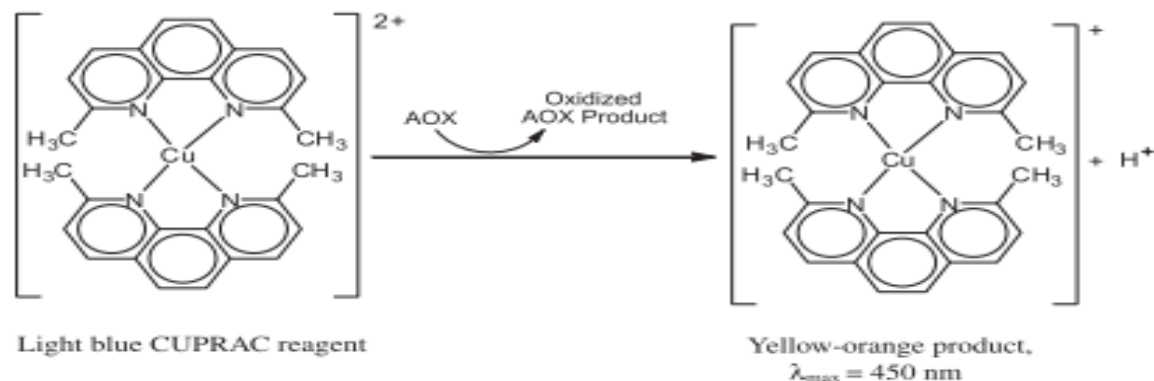
**Gambar 1.** Grafik panjang gelombang minyak atsiri kulit jeruk purut dengan menggunakan metode CUPRAC.



**Gambar 2.** Waktu inkubasi reagen CUPRAC dengan sampel minyak atsiri kulit jeruk purut.

Mekanisme antioksidan metode CUPRAC yaitu dengan kemampuan antioksidan dalam mereduksi kompleks Cu<sup>2+</sup> menjadi Cu<sup>+</sup> (Ramadhan *et al.*, 2020). Mekanisme metode CUPRAC yaitu terjadi reaksi antara bis (neokuproin) tembaga (II) (Cu(Nc)<sub>2</sub><sup>2+</sup>) sebagai pereaksi kromogenik dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron sebagai pendonor elektron (Özyürek *et al.*, 2011). Berdasarkan mekanisme, maka tiga kandungan tertinggi yang berperan

sebagai antioksidan adalah Citronellal, Terpinene-4-ol,  $\alpha$ -Terpineol, karena melakukan donor elektron. Reaksi kimia antara bis (neokuproin) tembaga (II) ( $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ ) sebagai pereaksi kromogenik dengan Citronellal, Terpinene-4-ol,  $\alpha$ -Terpineol sebagai pendonor elektron. Berikut mekanisme reaksi kimia metode CUPRAC yang dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Reaksi antara bis (neokuproin) tembaga (II) ( $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ ) dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron (Özyürek et al., 2011).

**Tabel 2.** Aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dan trolox. \*Rata-rata menunjukkan ada perbedaan signifikan secara statistik ( $p \leq 0,05$ ).

Replikasi	Nilai $\text{IC}_{50}$	
	Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (ppm)	Trolox (ppm)
1	21,5250	52,9741
2	24,3846	54,3463
3	24,3452	54,2613
Rata-rata	23,4182*	53,8605*

### 3.3. Persen rendemen dan organoleptis minyak atsiri kulit jeruk purut

Penyulingan dilakukan selama 7 jam dengan suhu  $100^\circ\text{C}$ . 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% (Badan Standarisasi Nasional, 2014). 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). Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki aroma khas aromatik kulit jeruk purut dan tidak berwarna. Hal ini sesuai atau terstandar dengan parameter minyak atsiri lada hitam yaitu tidak berwarna atau berwarna (kuning, hijau biru). Parameter minyak atsiri lada hitam dapat digunakan karena memiliki kandungan yang hampir sama dengan minyak atsiri kulit jeruk purut yaitu sabinen (6,62%), 2- $\beta$ -pinene (9,54%),  $\beta$ -myrcene (2,62%), 1-phellandrene (2,83%), Limonene (18,20%) dan Linalool (0,12%) (International Organization for Standardization, 2008). Hasil karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 3.

### 3.4. Uji berat jenis

Hasil dan parameter acuan, didapatkan hasil sebesar 0,84029 g/ml pada suhu  $25^\circ\text{C}$ . 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). 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). Penelitian Warsito *et al.* (2017), tiga komponen utama minyak atsiri kulit jeruk purut adalah  $\beta$ -pinene, citronellal dan limonene, berbeda dengan hasil penelitian yaitu  $\beta$ -pinene, limonene, dan sabinene. Ditinjau dari jumlah ikatan rangkap diantara keduanya yaitu pada  $\beta$ -pinene (1 ikatan rangkap), citronellal (2 ikatan rangkap), limonene (2 ikatan rangkap). Hasil penelitian  $\beta$ -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.

**Tabel 3.** Hasil analisis karakteristik dari minyak atsiri kulit jeruk purut.

No.	Jenis Uji	Hasil	Parameter Acuan	Sumber Parameter Acuan	Memenuhi Syarat	
					Ya	Tidak
1	Persen Rendemen	1,8604%	Minimal 1,42%	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut (Badan Standarisasi Nasional, 2014).	Ya	
2	Kecerahan atau Warna	Tidak Berwarna	tidak berwarna atau berwarna kuning, hijau, biru	Parameter dari minyak atsiri lada hitam (International Organization for Standardization, 2008).	Ya	
3	Berat Jenis	0,84028 g/ml pada suhu 25°C	0,837-0,845 g/ml	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut (Khasanah <i>et al.</i> , 2015).	Ya	
4	Indeks Bias	1,4710 pada suhu 20°C	1,4686-1,4763	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi (Roth, 2015; Essence, 2014; Moellhausen, 2009).	Ya	
5	Rotasi Optik	+12,70	+9° sampai +17°	Rata – rata tiga senyawa minyak atsiri kulit jeruk purut tertinggi (Moellhausen, 2008; Essence, 2014; Moellhausen, 2009).	Ya	
6	Bilangan Asam	0,8415	0,82-2,39	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut (Wijaya <i>et al.</i> , 2000).	Ya	
7	Kelarutan dalam Alkohol	larut 1:6 Alkohol 90%	larut 1:6 dalam alkohol 90%	Parameter dari kelarutan kandungan senyawa tertinggi ( $\beta$ -pinene) (Moellhausen, 2008).	Ya	
8	Bilangan Ester	19,635	18,09-33,77	Parameter minyak atsiri daun jeruk purut (Wijaya <i>et al.</i> , 2000).	Ya	

### 3.5. Uji indeks bias

Hasil pengujian indeks bias pada minyak atsiri kulit jeruk purut 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  $\beta$ -pinene (1,47-1,48) (Roth, 2015). Limonene (1,471-1,474) (Essence, 2014). Sabinene (1,465-1,475) (Moellhausen, 2009). Hal 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  $\beta$ -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).

### 3.6. Uji rotasi optik

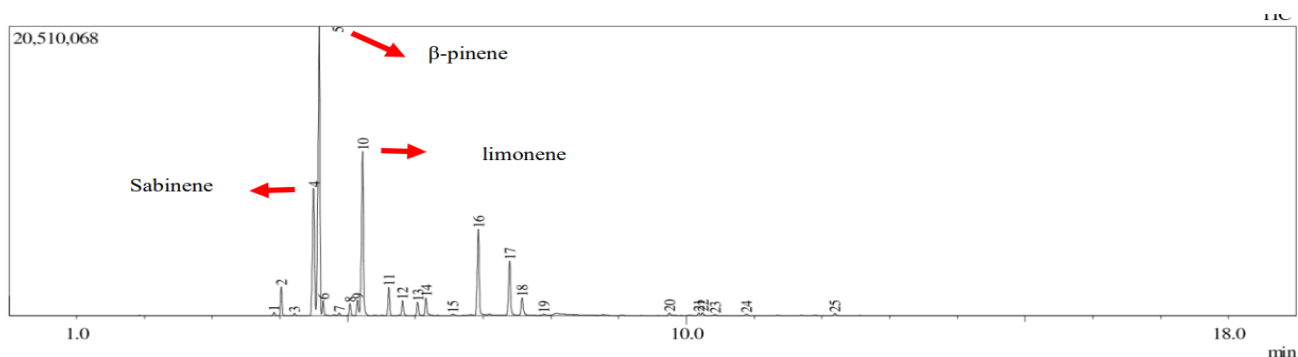
Hasil pengujian rotasi optik pada minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan hasil sebesar +12,70 pada suhu 25°C, yang berarti minyak atsiri kulit jeruk purut memutar bidang polarisasi ke kanan. Parameter yang digunakan adalah rata – rata dari tiga senyawa tertinggi pada minyak atsiri kulit jeruk purut yaitu +9° sampai +17°. Tiga senyawa berturut – turut ialah  $\beta$ -pinene (-20° sampai -16°) (Moellhausen, 2008). Limonene (+96° sampai +104°) (Essence, 2014). Sabinene (-72° sampai -62°) (Moellhausen, 2009). Hasil 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 & Komarayati, 2015). 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 (Ikarini *et al.*, 2021). 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 & Komarayati, 2015).

### 3.7. Penentuan bilangan asam

Hasil pengujian didapatkan bilangan asam minyak atsiri kulit jeruk purut sebesar 0,8415. 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 mengandung golongan aldehid sebesar 9,70%, terdapat pada senyawa citronellal dan cyclopentyl acetone.

### 3.8. Uji kelarutan dalam alkohol

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). 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%.



**Gambar 4.** Hasil spektrum analisis minyak atsiri kulit jeruk purut dengan alat GC-MS.

### 3.9. Penetapan bilangan ester

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 (Rahman *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.

**Tabel 4.** Komponen minyak atsiri kulit jeruk purut dengan GC-MS. Keterangan: Monoterpen Hidrokarbon (MH) = 77,79%; Monoterpen Oksigenasi (MO) = 22,21%; Total tiga senyawa tertinggi (sabinene,  $\beta$ -pinene, limonene) = 65,56%.

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

### 3.10. Analisis komponen minyak atsiri kulit jeruk purut

Analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS menyatakan bahwa minyak atsiri kulit jeruk purut mengandung sekitar 25 komponen yang telah diinterpretasikan berdasarkan Standart Library Wiley yang dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 4. Hasil dari 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).

## 4. Kesimpulan

Minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> rata – rata 23,4182 ppm (kurang dari 50 ppm (sangat kuat)) menggunakan metode

CUPRAC dan terdapat perbedaan signifikansi antara IC50 Minyak atsiri kulit jeruk purut dengan kontrol positif. Tiga senyawa tertinggi yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk purut yaitu  $\beta$ -Pinene, Limonene, Sabinene. Karakteristik minyak atsiri kulit jeruk purut dapat dikatakan sudah sesuai parameter, sehingga dapat digunakan sebagai standar acuan.

### Ucapan Terimakasih

Terima kasih disampaikan untuk Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan dana pada penelitian ini.

### Deklarasi Konflik Kepentingan

“Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini”.

### Daftar Pustaka

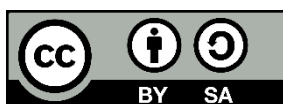
- Agouillal, F., M. Taher, Z., Moghrani, H., Nasrallah, N., dan El Enshasy, H. (2017). A Review of Genetic Taxonomy, Biomolecules Chemistry and Bioactivities of *Citrus hystrix* DC. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 14(1), 285–305. <https://doi.org/10.13005/bbra/2446>
- Anggraini, R., Jayuska, A., dan Alimuddin, A. H. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Asal Sajingan Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(4), 124–133.
- Antarti, A. N., dan Lisnasari, R. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ethanol Daun Family Solanum Menggunakan Metode Reduksi Radikal Bebas DPPH. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(2), 62. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i2.15378>
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., dan Özyurt, D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Awaluddin, N., dan Sri, W. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 7(2), 38–45.
- Badan Standarisasi Nasional. (2006). *Minyak Nilam*. SNI 06-2385-2006. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standarisasi Nasional. (2014). *Alat Penyuling Minyak Atsiri - Bagian 1: Sistem Kukus - Syarat Mutu Dan Metode Uji*. SNI 8028-1:2014. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standarisasi Nasional. (2019). *Peraturan Badan Standardisasi Nasional Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2019 Tentang Skema Penilaian Kesesuaian Terhadap Standar Nasional Indonesia Sektor Kimia*. Jakarta : Badan Standardisasi Nasional.
- Beale, D. J., Morrison, P. D., Karpe, A. V., dan Dunn, M. S. (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), 1339. <https://doi.org/10.3390/molecules22081339>
- Besar RI di Bern Switzerland Swiss, K. (2020). Informasi Pasar Swiss Peluang Ekspor Minyak Atsiri ke Swiss. In *Www.Akses.Ksei.Go.Id* (Edisi Juni, pp. 1–8). Kedutaan Besar RI. <https://akses.ksei.co.id/pusatinformasi/informasipasar>
- Essence, L. (2014). *Safety Data Sheet limonene dextro*. 5(1907), 1–7.
- Haeria, H., Tahar, N., dan Munadiyah, M. (2018). Penentuan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) dengan Metode DPPH, CUPRAC dan FRAP. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 6(2), 88–97.

- Hafiluddin. (2012). Analisa Kandungan Gizi dan Senyawa Bioaktif Keong Bakau (*Telescopium*) di Sekitar Perairan Bangkalan. *Jurnal Rekayasa*, 5, 37–39.
- Hidayati, H. (2012). Destilasi Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Pontianak dan Pemanfaatannya dalam Pembuatan Sabun Aromaterapi. *Biopropal Industri*, 3(2), 39–49.
- Ikarini, I., Harwanto, dan Yunimar. (2021). Karakteristik Fisik dan Identifikasi Senyawa pada Minyak Atsiri dari Limbah Kulit Jeruk. *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 5(2), 131–137. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v5i2.436>.
- Isnindar, I., Wahyuono, S., dan Widayarni, S. (2017). Aktivitas Antioksidan Buah Kopi Hijau Merapi. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2(02), 130. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v2i02.11040>
- International Organization for Standardization. (2008). *ISO 3061:2008. International Standard - ISO. Iso, 2012(second edition)*. [www.iso.org](http://www.iso.org)
- Jailani, A., Sulaeman, R., dan Sribudiani, E. (2015). Karakteristik Minyak Atsiri Daun Kayu Manis (*Cinnamomom burmanii* (Nees & Th. Nees)). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*, 2(2), 1–12.
- Karadag, A., Ozcelik, B., dan Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2, 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Kementerian Perdagangan RI. (2011). Indonesian Essential Oils : The Scents of Natural Life. In *Handbook of Commodity Profile* (Vol. 1st). Jakarta: Indonesian Essential oil
- Khasanah, L. U., Kawiji, K., Utami, R., dan Aji, Y. M. (2015). Pengaruh Perlakuan Pendahuluan terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4(2), 48–55.
- Maryam, S., Pratama, R., Effendi, N., dan Naid, T. (2016). Dengan Metode CUPRIC Ion Reducing Antioxidant Capacity Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia , Makassar. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1), 90–93.
- Moellhausen. (2008). *Technical Datasheet Beta Pinene L-*. Available at <https://www.moellhausen.com/>
- Moellhausen. (2009). *Technical Data Sheet Sabinene*. Available at <https://www.moellhausen.com/>
- Muhtadin, A. F., Wijaya, R., Prihatini, P., dan Mahfud, M. (2013). Pengambilan Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Segar dan Kering dengan Menggunakan Metode Steam Distillation. *Jurnal Teknik ITS*, 2(1), F98–F101.
- Özyürek, M., Güçlü, K., dan Apak, R. (2011). The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652–664. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.016>
- Rahman, A., Rudi, L., dan Wati, M. E. (2019). Analisis Kualitas Minyak Nilam Asal Kolaka Utara sebagai Upaya Meningkatkan dan Mengembangkan Potensi Tanaman Nilam (*Pogostemon* sp.) di Sulawesi Tenggara. *Akta Kimia Indonesia*, 4(2), 133–144.
- Ramadhan, H., Baidah, D., Lestari, N. P., dan Yuliana, K. A. (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. <https://doi.org/10.22236/farmasains.v7i1.4331>
- Roth. (2015). *Safety Data Sheet  $\beta$ -Pinene Pure*. 2006(1907), Available <https://www.carlroth.com>.
- Warsito, W., Noorhamdani, N., Sukardi, S., dan Suratmo, S. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Minyak Jeruk Purut. *Journal of Environmental Engineering and Sustainable Technology*, 4(1), 13–18.
- Warsito, W., Noorhamdani, N., Sukardi, S., dan Suratmo, S. (2018). Assessment of Antioxidant Activity of Citronellal Extract and Fractions of Essential Oils of *Citrus hystrix* DC. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(6), 1119–1125.



<https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i6.19>

- Wibowo, D. P., Rustamsyah, A., dan Kurniawan, Y. (2015). Karakterisasi Dan Aktivitas Repelen Minyak Atsiri (*Cymbopogon nardus* L.), Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides* L.), Nilam (*Pogestemon cablin*), Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Asal Kabupaten Garut Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* Betina. *Makara Sains*, 2(1), 1–6.
- Wibowo, S., dan Komarayati, S. (2015). Sifat Fisiko Kimia Minyak Cupresus (*Cupressus benthamii*) Asal Aek Nauli, Parapat Sumatera Utara. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 33(2), 93–103.
- Widowati, H., Ulfah, M., dan Sumantri. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 11(1), 25–33.
- Wijaya, C. H., Sudiaman, S., dan Hidayat, F. K. (2000). Ekstraksi Minyak Astiri dari Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.) Pada Skala Pilot-Plant. *Journal Teknik Industri Pertanian*, 9, 164–171.
- Yamunadevi, M., Wesely, E. G., dan Johnson, M. (2011). Phytochemical Studies on the Terpenoids of Medicinally Important Plant *Aerva lanata* L. Using HPTLC. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S220–S225. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60159-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60159-7)
- Yanti, R., Wulandari, P., Pranoto, Y., dan Cahyanto, M. N. (2017). Karakterisasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Anti Jamur Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Aspergillus*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(2), 8–15.



© 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).