

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya atau kehilangan elektron, sehingga apabila dua radikal bebas bertemu, mereka bisa memakai bersama elektron tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen (Asri, 2014). Radikal bebas yang mengambil elektron dari DNA dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbullah sel-sel mutan. Bila mutasi ini terjadi berlangsung lama dapat menjadi kanker. Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Sistem pertahanan tubuh dari radikal bebas adalah antioksidan (Hariyatmi, 2004).

Senyawa antioksidan dapat berupa senyawa alam maupun senyawa sintetik. Senyawa antioksidan sintetik sudah mulai ditinggalkan karena memiliki sifat karsinogenik dan antioksidan yang berasal dari alam mulai memegang peranan penting karena tersedia dalam jumlah yang melimpah dan mempunyai efek samping yang rendah dibanding antioksidan sintetik (Kumalaningsih, 2006). Senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alam banyak ditemukan di dalam kulit buah pada tumbuhan, salah satunya adalah kulit jeruk bali. Kulit jeruk bali merah mengandung senyawa bioaktif diantaranya tanin dan flavonoid (Rafsanjani dkk, 2015). Flavonoid tergolong senyawa metabolit sekunder yang dikenal sebagai *radical scavenger* (Cutler, 2000). Flavonoid mempunyai konsentrasi tinggi yang terdapat dalam buah-buahan dan sayuran yang cenderung ditemukan pada daun,

kulit dan biji. Setiap metode pengolahan hampir selalu membuang bagian-bagian ini (Clayton, 2008). Khasanah dkk (2014) telah melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode DPPH, hasil penelitian menunjukkan antioksidan yang kuat ditunjukkan dengan IC_{50} sebesar 54,458 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian oleh Rafsanjani dkk, (2015) mengenai pengaruh perbedaan pelarut terhadap aktifitas antioksidan ekstrak kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) menggunakan tiga pelarut yaitu etanol 96 %, etil asetat, dan air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang paling baik adalah etanol 96 % dengan aktivitas antioksidan sebesar 91,24%, dan total fenol sebesar 2673,25 $\mu\text{g/mL}$.

Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini berbeda dengan yang dilakukan oleh Rafsanjani (2015) yaitu pada metode ekstraksi menggunakan metode ultrasonic bath, sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi perkolasi. Metode perkolasi dipilih karena senyawa flavonoid tidak tahan terhadap pemanasan dan untuk mencegah kerusakan komponen senyawa-senyawa oleh suhu yang tinggi, selain itu metode perkolasi memiliki beberapa keuntungan salah satunya adalah tidak terjadi kejenuhan dikarenakan pelarut yang diganti secara terus menerus sampai warna pelarut yang awalnya pekat menjadi lebih jernih sehingga dihasilkan ekstrak yang banyak (Harbone, 1987). Penelitian Prayogo (2017) tentang perbandingan metode ekstraksi menyatakan bahwa metode yang paling baik dalam ekstraksi adalah menggunakan metode perkolasi dengan hasil rendemen 32%.

Metode ekstraksi perkolasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Pemilihan pelarut etanol diketahui mampu melarutkan senyawa flavonoid. Etanol bersifat polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat kurang polar dari aglikon flavonoid. Aglikon flavonoid dapat larut dalam pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat semi polar dari aglikon flavonoid (Harbone, 1987). Jenis aglikon flavonoid yang bersifat semi polar adalah flavonon dan flavonol (Markham, 1988). Penelitian Burhan (2017) menyatakan bahwa uji aktivitas antioksidan hasil fraksi etil asetat kulit batang kemiri dengan metode DPPH menunjukkan IC_{50} sebesar 28,748 ppm yang termasuk dalam antioksidan sangat kuat.

Penelitian ini dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan air, n-heksan dan etil asetat dengan tujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain atau untuk memisahkan senyawa sesuai dengan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1988).

Salah satu senyawa flavonoid yaitu kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat, dilihat dari nilai IC_{50} sebesar 3,17 $\mu\text{g/mL}$ diuji menggunakan metode DPPH (Ahmad dkk., 2017). Senyawa flavonoid memiliki sifat sebagai antioksidan karena mampu menangkal radikal bebas DPPH. Larutan radikal bebas DPPH berwarna ungu, karena memiliki atom nitrogen yang tidak berpasangan. Reaksi

DPPH dengan atom hidrogen yang terdapat pada flavonoid dapat membuat larutan DPPH yang berwarna ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah (*Citrus maxima* Merr) menggunakan metode DPPH. Untuk mengetahui kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl_3 (Manik, dkk 2014).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka perumusan masalahnya adalah:

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah memiliki aktivitas antioksidan ?
2. Seberapa besar kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui adanya aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah.
2. Mengetahui besarnya kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah dan informasi secara langsung mengenai manfaat kulit jeruk bali merah (*Citrus maxima* Merr) yang mengandung antioksidan yang baik bagi tubuh.

E. Tinjauan Pustaka

1. Antioksidan

a. Definisi antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang dapat ditimbulkan. Penggunaan senyawa antioksidan berkembang seiring dengan semakin bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker (Pokorny dkk, 2001).

b. Penggolongan antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 golongan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

1. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan *glutathione peroxidase* (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga dengan antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi

senyawa yang lebih stabil. Antioksidan ini bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Pokorny dkk, 2001).

2. Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang berfungsi menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin (Anies, 2006).

3. Antioksidan tersier dapat memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contohnya seperti enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktase. Adanya enzim-enzim perbaikan DNA seperti halnya berguna untuk mencegah penyakit kanker (Anies, 2006).

2. Jeruk Bali Merah

a. Klasifikasi Jeruk Bali Merah

Tanaman jeruk bali merah dapat dilihat pada Gambar 1 sebagai berikut :



Gambar 1. Tanaman Jeruk Bali Merah (Dokumentasi Pribadi)

Kedudukan Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr) dalam sistematika tanaman (taksonomi) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Sub class : Rosidae

Ordo : Sapindales

Family : Rutaceae

Genus : Citrus

Species : *Citrus maxima* Merr (Tjitrosoepomo, 2004)

Kulit buah jeruk terdiri menjadi tiga lapisan, yaitu kulit luar, kulit bagian tengah dan kulit bagian dalam. Kulit jeruk bali merah dapat dilihat pada Gambar 2 sebagai berikut :



Gambar 2. Kulit Jeruk Bali Merah (Dokumentasi Pribadi)

b. Morfologi

Habitus berupa perdu dengan tinggi 5-15 m. Batang berkayu, tegak, berbentuk bulat, bercabang dan berwarna hijau kecoklatan. Daun tunggal dengan pertulangan menyirip. Daun berwarna hijau, berbentuk bulat telur atau elips, ujungnya meruncing, tepi rata dan pangkal membulat. Panjang daun 5-20 cm, lebar daun 2-12 cm. Bunga tunggal dan berbentuk tabung, berada di ketiak daun. Kelopak bunga berbentuk piala, berwarna putih kekuningan atau hijau kekuningan. Benang sari berbentuk silindris dan berwarna putih. Putik berbentuk silindris dan berwarna hijau muda. Mahkota bunga berwarna putih atau putih kekuningan. Buah buni, kulitnya setebal 1,5-2 cm, berdaging putih atau merah hijau. Biji berbentuk bulat telur atau elips, panjang 7-10 mm, tebal 5-7 mm, berwarna putih kekuningan. Akarnya berupa akar tunggang dan berwarna putih kekuningan (BPOM RI, 2008).

c. Kandungan Kimia

Sebagian besar komponen Jeruk Bali terletak pada kulitnya, diantaranya terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, likopen, vitamin C, pektin dan tanin. Salah satu kandungan kimia dalam kulit Jeruk Bali adalah flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆,

artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1998).

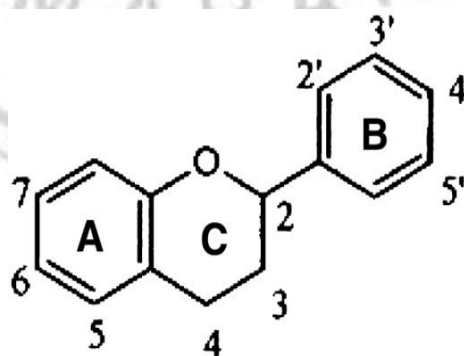
d. Khasiat Tanaman

Genus Citrus memiliki 16 spesies anggota Citrus, salah satunya adalah *Citrus maxima* (Setiawan, 2003). Senyawa yang terkandung didalamnya salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan jenis Citrus yang memiliki manfaat sebagai antiperoksidatif, antioksidan, antibakteri, antivirus dan antikanker (Harborne, 1996).

3. Flavonoid

a. Pengertian dan karakteristik senyawa flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol, etanol, butanol, dan etil asetat. Struktur kimia pada flavonoid sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid sebagian besar banyak ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat di ekstrak dengan etanol metanol maupun air.

b. Peran flavonoid sebagai antioksidan

Aktivitas flavonoid sebagai antioksidan sudah tidak diragukan lagi. Menurut Shahidi dan Naczki dalam bukunya berjudul *Food Phenolics : Sources, Chemistry, Effects and Applications* (1995), flavonoid berperan sebagai antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas (*free radical scavengers*) dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini akan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim sehingga tak merusak lipida, protein, dan DNA yang menjadi target kerusakan seluler. Flavonoid dapat menghentikan tahap awal reaksi dengan melepaskan suatu atom hidrogen kemudian berikatan dengan satu radikal bebas. Selanjutnya dengan mekanisme seperti itu, radikal peroksi dapat dihancurkan atau distabilkan oleh resonansi dari gugus hidroksil yang membuat energi aktivitasnya berkurang (IKAPI, 2008).

4. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu metode

dingin meliputi maserasi dan perkolasi serta metode panas yang meliputi metode sokletasi, refluks, dekokta, infusa, dan digesti (BPOM RI, 2013). Apabila senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman tahan terhadap pemanasan maka dapat dilakukan metode ekstraksi cara panas. Apabila senyawa aktif tidak tahan terhadap pemanasan maka dilakukan metode ekstraksi cara dingin. Pemilihan metode yang sesuai akan mempengaruhi hasil.

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi adalah menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), dilanjutkan terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolasi) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000). Keuntungan metode perkolasi lebih tepat menjadi topik pembahasan untuk aplikasi industri atau perbanyakan rendemen atau *scaling up*.

Jenis senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman memiliki struktur kimia berbeda dan akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman. Apabila telah diketahui senyawa aktif yang terkandung di dalam simplisia maka akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Salah satu pelarut umum yang digunakan dalam ekstraksi adalah metanol dan etanol. Penggunaan pelarut golongan alkohol dapat menarik hampir semua metabolit sekunder yang terdapat di dalam simplisia. Jenis komponen yang dapat terekstraksi adalah komponen yang polar, semi-polar hingga non-polar (Otsuka, 2006). Keuntungan etanol sebagai penyari adalah lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, etanol dapat bercampur dengan baik dengan air pada segala perbandingan (Depkes RI, 1986).

5. Fraksinasi

Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker SD dkk., 2006).

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenisnya senyawa menjadi fraksi yang berbeda tergantung pada jenis tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

6. Spektrofotometri Sinar Tampak

Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Spektrofotometri digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Sinar radiasi monokromatik akan melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap sinar radiasi tersebut (Harmita, 2006). Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan antara absorban dengan konsentrasi larutan analit berbanding terbalik dengan transmitan. Rumus Lambert-Beer (Rohman, 2007) adalah sebagai berikut :

$$A = abc$$

Keterangan A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

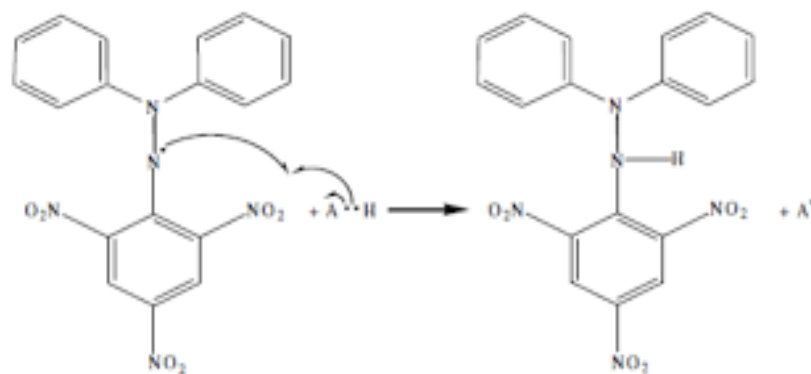
Hukum Lambert-Beer tersebut memiliki beberapa pembatasan (Rohman, 2007), yaitu :

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang yang sama.
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- d. Tidak terjadi fluoresensi atau fosforisensi.
- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

7. Metode DPPH

Metode yang sering digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah metode pengikatan DPPH. Tujuan metode ini yaitu untuk mengetahui parameter konsentrasi yang mampu memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Metode DPPH menggunakan senyawa radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*. Pengamatan metode DPPH dilakukan terhadap terjadinya perubahan warna dari larutan sampel yang semula berwarna ungu menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena sampel mengandung antioksidan yang mampu menangkap dan mengikat radikal bebas sehingga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Gugus kromofor dan aoksokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring perubahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari

antioksidan(Molyneux,2004). Mekanisme penangkapan radikal (Dehpourdkk., 2009) ditunjukkan pada reaksi di bawah ini:



DPPH ox (ungu)

DPPH yellow (kuning)

Gambar 4. Reaksi Penangkapan Radikal DPPH oleh Antioksidan(AH= Antioksidan, ox=Oksidasi, red= Reduksi)

8. IC_{50} (*Inhibition Concentration*)₅₀

Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah IC_{50} (*inhibition concentration*) merupakan konsentrasi larutan substrat yang menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu Y, sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$Y = bx + a$$

Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan.Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas suatu antioksidan (Molyneux, 2004).Spesifitas daya antioksidan menurut Blois (1958) dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Spesifitas Daya Antioksidan

Nilai IC ₅₀	Keterangan
IC ₅₀ < 50 ppm	Sangat kuat
50 ppm > IC ₅₀ < 100 ppm	Kuat
100 ppm > IC ₅₀ < 150 ppm	Sedang
150 ppm > IC ₅₀ < 200 ppm	Lemah
IC ₅₀ > 200 ppm	Sangat lemah

F. Landasan Teori

Konsentrasi tertinggi flavonoid dalam buah-buahan dan sayuran cenderung ditemukan pada daun, kulit, dan biji, tetapi setiap metode pengolahan hampir selalu membuang bagian-bagian ini (Clayton, 2008). Kulit jeruk bali merah mengandung senyawa flavonoid dan tanin (Rafsanjani dkk., 2015). Salah satu senyawa flavonoid yaitu kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat, dilihat dari nilai IC₅₀ sebesar 3,17 µg/mL diuji menggunakan metode DPPH (Ahmad dkk., 2017).

Uji aktivitas antioksidan kulit jeruk bali dengan pelarut yang berbeda menunjukkan persentase aktivitas antioksidan pada pelarut etil asetat sebesar 48,70 %, pelarut etanol 96% sebesar 90,39 % (Rafsanjani dkk, 2015). Pelarut etanol diketahui mampu melarutkan senyawa flavonoid. Etanol bersifat polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat kurang polar dari aglikon flavonoid. Aglikon flavonoid dapat larut dalam pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat semi polar dari aglikon flavonoid (Harbone, 1987). Jenis aglikon flavonoid yang bersifat semi polar adalah flavonon dan flavonol (Markham, 1988).

Khasanah dkk (2014) telah melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode DPPH, hasil penelitian menunjukkan antioksidan yang kuat ditunjukkan dengan IC_{50} sebesar 54,458 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian Burhan (2017) menyatakan bahwa uji aktivitas antioksidan hasil fraksi etil asetat kulit batang kemiri dengan metode DPPH menunjukkan IC_{50} sebesar 28,748 ppm yang termasuk dalam antioksidan sangat kuat.

G. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas maka hipotesis yang diambil dalam penelitian ini adalah:

1. Fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah (*Citrus maxima* Merr) memiliki aktivitas antioksidan.
2. Fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit jeruk bali merah (*Citrus maxima* Merr) memiliki kandungan flavonoid total.