

KAJIAN PENGARUH JENIS PELARUT DAN LAMA MASERASI TERHADAP
KARAKTERISTIK DAN STABILITAS EKSTRAK JERUK LIMAU (*Citrus
amblycarpa*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI PADA MAKANAN
*Effect of Solvent Type and Maceration Time on Characteristics and Stability of Lime Orange Extract
(Citrus amblycarpa) as Natural Antioxidants in Foods*

Putu Julyantika Nica Dewi¹⁾, G. P. Ganda Putra²⁾, dan Lutfi Suhendra²⁾

¹⁾ Mahasiswa Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian,
Universitas Udayana

²⁾ Dosen Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas
Udayana

Diterima 04 Desember 2021 / Disetujui 01 Februari 2022

ABSTRACT

Lime is a natural ingredient that contains bioactive compounds such as antioxidants (vitamin C, palmitate, polyphenols), essential oils, and high antibacterial properties. The bioactive compounds are obtained by extraction using the maceration method. This study aims to determine the effect of the type of solvent and the time of maceration on the characteristics and stability of the extract of lime (*Citrus amblycarpa*) as a natural antioxidant in food, and to determine the type of solvent and the most effective maceration time. Extraction of lime using 3 types of solvents (ethanol, methanol, and acetone) and 3 periods of maceration, namely (2 hours, 4 hours, and 6 hours). The variables observed in the first stage were: yield, vitamin C, total phenol, antioxidant capacity), effectiveness index test. The second stage of research was carried out by storing lime extract in a temperature variation treatment consisting of 6 levels (S1 = 0oC, S2 = 20oC, S3 = 40oC, S4 = 60oC, S5 = 80oC and S6 = 100oC) then observed the trend rate of vitamin C content. The effectiveness index test showed that the methanol solvent treatment and 6 hours maceration time were able to produce the best lime extract characteristics with yields of 35.08%, vitamin C of 7,580.90 mg AAE / 100g, total phenol of 6,484.54 mg GAE / 100g, and the antioxidant capacity of 4,928.79 mg GAEAC / 100g. The higher the storage temperature, the lower the vitamin C content of the lime extract. Changes in vitamin C content to the effect of temperature are shown by regression $y = -11.433x + 7518.6$, with a correlation coefficient (r) -0.9251. The highest vitamin C content at 0oC was 7338.47 mg AAE / 100g and the lowest at 100oC was 6163.59 mg AAE / 100g. The results of the study concluded that the type of solvent treatment and maceration time affected the characteristics of the lime extract.

Keywords: lime, types of solvents, maceration time, vitamin C, total phenols, antioxidant capacity

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki kekayaan alam yang melimpah. Salah satu kekayaan alam Indonesia yaitu tumbuhan. Beberapa jenis tanaman sudah dimanfaatkan sejak dulu sebagai bahan tambahan pangan

untuk mendapatkan kandungan antioksidan dan memperbaiki cita rasa.

Antioksidan yang ditambahkan dalam makanan dapat mencegah kerusakan bahan-bahan yang mudah teroksidasi. Lemak dalam makanan merupakan salah satu bahan yang mudah rusak dan mengalami ketengikan karena teroksidasi, sehingga mutu makanan menjadi turun. Antioksidan digolongkan

*Korespondensi Penulis:

Email: gandaputra@unud.ac.id

menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis yang umum digunakan adalah butylated hydroxyl anisole (BHA), butylated hydroxyl toluene (BHT), propyl gallate (PG) dan tert-butyl hydroquinone (TBHQ). Antioksidan sintetis tidak baik jika dikonsumsi secara terus menerus karena reaksinya yang dapat berfungsi sebagai promotor penyakit kanker (carcinogenesis), maka penggunaan antioksidan sintetis mulai dihindari dan digantikan dengan antioksidan alami.

Jeruk limau merupakan salah satu bahan alami yang mengandung senyawa bioaktif seperti antioksidan (vitamin C, palmitat, polifenol), minyak atsiri, dan antibakteri yang tinggi. Jeruk limau hampir mirip dengan jeruk nipis dilihat dari klasifikasinya. Menurut penelitian Syamsuhidayat dan Hutape (1991), jeruk nipis memiliki kandungan flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Komponen minyak atsirinya adalah siral, limonene, feladren, dan glikosida hedperidin. Sari buah jeruk nipis mengandung minyak atsiri limonene dan asam sitrat 7%. Buah jeruk mengandung zat bioflavonoid, pectin, enzim, protein, lemak dan pigmen (karoten dan klorofil) (Sethpakdee, 1992). Berdasarkan beberapa penelitian, buah jeruk nipis memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid dalam jumlah yang banyak baik dalam bentuk C atau O-glikosida. Flavonoid jeruk dapat diklasifikasikan menjadi flavonon, flavon dan flavonol (Hertog et al., 1993; Bronner and Beecher 1995).

Karakteristik ekstrak jeruk limau dipengaruhi oleh jenis pelarut dan waktu ekstraksi yang tepat. Jeruk limau mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar (Gillespie dan Paul, 2001). Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip like dissolve like yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Pelarut

yang bersifat polar diantaranya adalah etanol, metanol, aseton dan air (Sudarmadji et al., 1997). Menurut penelitian sebelumnya mengenai efektivitas ekstrak kulit jeruk mandarin, didapatkan pelarut yang paling efektif untuk menghasilkan ekstrak kulit jeruk mandarin dengan karakteristik terbaik yaitu pelarut etanol 96% (Adiyasa et al., 2015). Adiyasa et al., (2015) membandingkan proses ekstraksi menggunakan metode soxhlet dengan perbandingan 3 pelarut yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 96%. Hasilnya menunjukkan bahwa etanol 96% merupakan pelarut yang paling efektif untuk menghasilkan concrete minyak atsiri kulit jeruk mandarin dengan karakteristik rendemen 47,69%, nilai kesukaan terhadap aroma 5,20 (antara suka dengan sangat suka) dan kekuatan aroma 3,90. Selain itu penelitian Rafsanjani dan Putri (2015) juga membandingkan proses ekstraksi menggunakan metode ultrasonik bath dengan perbandingan 3 pelarut yaitu etanol, etil asetat dan air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik yaitu 91,24%. Penelitian Verdiana et al., (2018) tentang pengaruh jenis pelarut (aquades, aseton 70%, etanol 70%, metanol 70%) pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (linn.) burm f.) menunjukkan bahwa pelarut etanol 70% menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 52,72% dan nilai IC50 sebesar 471,33 mg/L, diikuti dengan rendemen 37,68 %, vitamin C 227,90 mg AAE/g ekstrak dan total flavonoid 7,14 mg QE/g ekstrak. Wulandari et al., (2013) meneliti tentang aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat dan methanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus microcarpa bunge*) dengan metode ekstraksi, dari hasil penelitian ditemukan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol mengandung flavonoid, polifenol dan alkaloid, sedangkan ekstrak n-heksana kulit buah jeruk sambal mengandung

senyawa steroid. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dari nilai EC50 yang terbaik yaitu pada ekstrak metanol dengan nilai EC50 sebesar 94,01 µg/mL (antioksidan kategori kuat), ekstrak etil asetat sebesar 134,02 µg/mL (antioksidan kategori sedang) dan ekstrak n-heksana sebesar 162,16 µg/mL (antioksidan kategori lemah). Hasil penelitian Ulfa et al., (2014) pelarut yang paling baik untuk mengekstrak senyawa antioksidan lamun dugong adalah pelarut aseton dibandingkan methanol dan n-heksan. Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dari lamun dugong adalah fenolik, karotenoid, steroid, triterpenoid dan alkaloid. Ekstraksi dengan pelarut aseton pada penelitian Anam et al. (2014) juga memiliki kemampuan cukup bagus dalam mengekstraksi senyawa antioksidan pada biomassa serbuk *Spirulina platensis* dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan relatif tinggi yaitu nilai IC50 sebesar 64,712 ppm. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, belum ada penelitian lebih lanjut mengenai jenis pelarut polar terbaik dengan metode maserasi yang dapat menghasilkan ekstrak jeruk limau dengan kandungan antioksidan tertinggi.

Selain jenis pelarut, lama maserasi juga berpengaruh terhadap karakteristik ekstrak jeruk limau. Semakin lama waktu maserasi maka semakin banyak zat yang terlarut (Kawiji et al., 2015). Menurut penelitian Damanik et al., 2014, kandungan katekin terbaik didapatkan pada ekstrak daun gambir dengan metode maserasi selama 6 jam sebesar 87,14%. Sedangkan penelitian Meutia et al., (2015), menunjukkan perbedaan senyawa yang dominan di setiap waktu maserasi, pada lama maserasi 2 jam didominasi oleh komponen volatil geranyl acetate, 4 jam didominasi oleh komponen volatil citronellol dan 6 didominasi oleh D-limonene. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, belum ada penelitian lebih lanjut yang menjelaskan lama maserasi terbaik yang dapat menghasilkan ekstrak jeruk limau dengan

rendemen dan kandungan antioksidan tertinggi.

Penelitian ini perlu dilakukan karena hingga saat ini pengolahan jeruk limau menjadi ekstrak jeruk limau dengan metode maserasi masih belum dikembangkan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kajian pengaruh jenis pelarut dan lama maserasi terhadap karakteristik dan stabilitas ekstrak jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) sebagai antioksidan alami pada makanan, dan menentukan jenis pelarut dan lama maserasi yang paling efektif.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yaitu jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) yang di dapatkan dari pasar Batu Kandik. Bahan kimia yang digunakan yaitu 1) pelarut untuk ekstraksi : etanol teknis, metanol teknis dan aseton teknis yang didapat dari toko bahan kimia dan akuades. 2) bahan kimia untuk analisis yaitu : etanol, aquades, metanol, H₂SO₄ 0,6N, asam askorbat, reagen Na-fosfat, ammonium molibdat, asam sulfat, asam galat, larutan Follin-cioccalteu phenol, Na₂CO₃ 5%, DPPH, Silica gel 60 F254.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : gelas ukur, labu ukur, beaker glass (Pyrex), erlenmayer, ayakan 40 mesh, aluminium foil, tisu, botol sampel, pisau, cawan petri, corong, kertas saring kasar, kertas saring Whatman No.1, rotary evaporator (Janke dan Kunkel RV 06 – ML), spektrofotometer (Turner SP - 870), Centrifuge (EC HN-S II 0-9000 rpm), Vortex (Thermolyne), Oven (Blue M), Inkubator (Mettler, model 500), Waterbath, timbangan analitik (SHIMADZU), pipet volume, pipet micro, pipet tetes, dan kertas label.

Metode

Pembuatan Bubuk Jeruk Limau

Penelitian dimulai dengan penyiapan bubuk jeruk limau. Buah jeruk limau dicuci dan ditiriskan, diiris dengan ukuran $\pm 0,5$ cm dengan tujuan untuk mempermudah pengeringan dan penghancuran. Potongan buah jeruk limau dioven pada suhu 60 ± 5 °C hingga renyah dan kadar air $\pm 13,25\%$. Jeruk limau yang telah dioven selanjutnya dihancurkan menggunakan blender dengan kecepatan sedang hingga berbentuk bubuk dan diayak dengan ukuran 40 mesh.

Pembuatan Ekstrak Jeruk Limau

Proses ekstraksi buah jeruk limau dilakukan secara maserasi, yaitu dengan menimbang 50 g serbuk buah jeruk limau dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, lalu ditambahkan pelarut (sesuai perlakuan yaitu etanol, methanol dan aseton) sebanyak 300 ml (1:6) (Paulucci et al., 2012). Bahan bercampur pelarut dimaserasi sesuai perlakuan (2, 4, dan 6 jam) dan dilakukan pengadukan setiap 2 jam selama 2 menit. Setelah selesai, dilakukan penyaringan pertama menggunakan kertas saring kasar dan penyaringan kedua menggunakan kertas Whatman No. 1. Larutan hasil penyaringan (filtrat) yang masih bercampur dengan pelarut selanjutnya dipisahkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dan tekanan 100 mBar, dan didapatkan ekstrak jeruk limau. Proses evaporasi dihentikan jika pelarut sudah tidak menetes. Ekstrak jeruk limau dikeluarkan

dari labu evaporasi dengan menggunakan spatula.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati yaitu kadar air (Sudarmadji, 1997), rendemen (Sudarmadji et al. 1989), vitamin C (Vuong et al., 2014), total fenol (Sakanaka et al., 2005), kapasitas antioksidan metode DPPH (Yun, 2001), dan stabilitas terhadap suhu (trend vitamin C pada perlakuan terbaik)

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian tahap I kemudian dianalisis dengan sidik ragam dan apabila terdapat pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati, analisis dilanjutkan dengan analisis Tukey. Penentuan perlakuan terbaik menggunakan uji indeks efektivitas (De Garmo et al., 1984). Perlakuan terbaik dilanjutkan ke penelitian tahap II yaitu uji stabilitas ekstrak jeruk limau terhadap suhu. Data yang diperoleh dari penelitian tahap II dianalisis menggunakan regresi korelasi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan lama maserasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) sedangkan interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap rendemen ekstrak jeruk limau (Lampiran 1). Hasil rerata dari rendemen ekstrak disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata rendemen ekstrak jeruk limau (%)

Jenis Pelarut	Lama Maserasi (Jam)			Rerata
	2	4	6	
Etanol	26,37	28,69	31,27	28,78 \pm 2,30 ^b
Metanol	33,93	34,47	35,08	34,49 \pm 0,65 ^a
Aseton	13,72	14,18	15,24	14,38 \pm 1,02 ^c
Rerata	24,67 \pm 9,15 ^b	25,78 \pm 9,37 ^b	27,20 \pm 9,45 ^a	

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata tiap baris atau kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,01$)

Tabel 2 menunjukkan nilai rata - rata rendemen ekstrak jeruk limau pada perlakuan jenis pelarut berkisar antara 14,38% sampai 34,49%. Pelarut metanol menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 34,49% yang berbeda nyata dengan perlakuan pelarut etanol yaitu 28,78% dan pelarut aseton yaitu 14,38%. Jumlah rendemen yang diperoleh pada saat proses ekstraksi dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut. Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung pada ekstrak jeruk limau mempunyai kepolaran yang mendekati nilai kepolaran pelarut metanol, sehingga pelarut methanol dapat mengekstrak lebih banyak dibandingkan pelarut etanol dan aseton. Hal ini sesuai dengan penelitian Verdiana et al., (2018) yang meneliti tentang pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon yang menunjukkan bahwa metanol merupakan pelarut yang menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 40,61% yang berbeda sangat nyata dengan pelarut etanol yaitu 37,68%, aseton 36,25% dan aquades 34,32%. Penelitian Mardawati et al., (2008) menyatakan bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen ekstrak kulit manggis yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi yang sama. Hal yang sama juga terjadi pada ekstrak biji barley, rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan pelarut metanol dibandingkan etanol dan aseton (Liu dan Yao, 2007). Terjadinya proses ekstraksi yaitu dengan mengalirnya pelarut ke dalam sel yang menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan yang terkandung dalam sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya (Voight, 1994). Daya suatu

pelarut dalam melarutkan bahan berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Harborne (1987) menyatakan bahwa tumbuhan banyak mengandung senyawa fenolik, senyawa fenolik ini memiliki sifat yang cenderung larut dalam pelarut polar. Selain itu, metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada bahan (Salamah dan Widyasari, 2015).

Berdasarkan Tabel 2. Nilai rata – rata rendemen ekstrak jeruk limau pada perlakuan lama maserasi berkisar antara 24,68% sampai 27,20%. Lama maserasi 6 jam menghasilkan rendemen yang paling tinggi yaitu 27,20% yang berbeda nyata dengan lama maserasi 4 jam yaitu 25,78% dan lama maserasi 2 jam yaitu 24,68%. Semakin lama waktu maserasi, semakin lama kontak antara bahan dan pelarut sehingga semakin banyak senyawa yang diekstrak. Hal ini didukung oleh penelitian Amelinda et al., (2018) yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan karena waktu kontak antara sampel dengan pelarut semakin lama yang menyebabkan banyak senyawa terekstrak hingga kondisi kesetimbangan tercapai. Penelitian Yuliantari et al., (2017) juga menyebutkan bahwa pada umumnya kelarutan zat akan meningkat seiring meningkatnya waktu ekstraksi.

Vitamin C

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan lama maserasi berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) sedangkan interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kandungan vitamin C ekstrak jeruk limau (Lampiran 2). Hasil rerata dari vitamin C ekstrak jeruk limau disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata vitamin C ekstrak jeruk limau (mg AAE/100g)

Jenis Pelarut	Lama Maserasi (Jam)			Rerata
	2	4	6	
Etanol	5311,92	5846,83	6915,67	6024,81 ± 1102^{ab}
Metanol	6149,89	6966,26	7580,90	6899,01 ± 843^a
Aseton	4844,97	5550,57	5833,98	5409,84 ± 569^b
Rerata	5435,59 ± 776^b	6121,22 ± 1063^{ab}	6776,85 ± 884^a	

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata tiap baris atau kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$)

Tabel 3 menunjukkan nilai rata - rata vitamin C ekstrak jeruk limau pada perlakuan jenis pelarut berkisar antara 5.409,84 mg AAE/100g sampai 6.899,01 mg AAE/100g. Pelarut metanol memiliki kandungan vitamin C tertinggi yaitu 6.899,01 mg AAE/100g yang berbeda nyata dengan perlakuan pelarut etanol yaitu 6.024,81 mg AAE/100g dan pelarut aseton yaitu 5.409,84 mg AAE/100g. Penelitian ini menunjukkan bahwa pelarut yang kepolarannya lebih tinggi mampu mengekstrak vitamin C dengan lebih efektif. Tingkat kepolaran masing – masing pelarut dapat dilihat dari konstanta dielektrik, semakin tinggi konstanta dielektrik suatu pelarut maka pelarut semakin polar. Konstanta dielektrik masing - masing pelarut yaitu etanol 24,3, metanol 32,6, dan aseton 20,7. Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut yang kepolarannya lebih tinggi mampu mengekstrak vitamin C dengan lebih efektif pada ekstrak jeruk limau. Menurut Zumdahl (2007) vitamin C memiliki banyak ikatan polar O-H dan C-O sehingga membuat vitamin C bersifat polar dan dapat terekstrak dengan baik oleh pelarut metanol yang memiliki tingkat kepolaran lebih tinggi dibandingkan etanol dan aseton.

Berdasarkan Tabel 3. Nilai rata – rata vitamin C ekstrak jeruk limau pada perlakuan lama maserasi berkisar antara 5.435,59 mg AAE/100g sampai 6.776,85 mg AAE/100g. Lama maserasi 6 jam menghasilkan rendemen yang paling tinggi yaitu 6.776,85 mg AAE/100g yang berbeda nyata dengan perlakuan lama maserasi 4 jam yaitu 6.121,22 mg AAE/100g dan lama maserasi 2 jam yaitu 5.435,59 mg AAE/100g. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi maka semakin banyak senyawa vitamin C yang terekstrak. Penelitian ini sejalan dengan pernyataan Kemit et al., (2015) yaitu semakin lama waktu maserasi maka kesempatan kontak antara bahan dan pelarut semakin besar sehingga hasilnya akan terus meningkat sampai pada titik jenuh dari pelarut tersebut.

Total Fenol

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) sedangkan perlakuan lama maserasi dan interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kandungan total fenol ekstrak jeruk limau (Lampiran 3). Hasil rerata dari total fenol ekstrak jeruk limau disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata total fenol ekstrak jeruk limau (mg GAE/100g)

Jenis Pelarut	Lama Maserasi (Jam)			Rerata
	2	4	8	
Etanol	4292.43	4304.31	4934.05	4510,26 ± 525 b
Metanol	5955.55	6239.88	6484.54	6227,66 ± 577 a
Aseton	4822.59	5162.91	5306.58	5097,36 ± 821 ab
Rerata	5023,52 ± 905 a	5235,70 ± 1139 a	5575,06 ± 900 a	

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata tiap baris atau kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$)

Tabel 4 menunjukkan nilai rata - rata total fenol ekstrak jeruk limau pada perlakuan jenis pelarut berkisar antara 4.510,26 mg GAE/100g sampai 6.227,66 mg GAE/100g. Pelarut metanol memiliki kandungan total fenol tertinggi yaitu 6.227,66 mg GAE/100g tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan pelarut aseton yaitu 5.097,36 mg GAE/100g dan berbeda nyata dengan pelarut etanol yaitu 4.510,26 mg GAE/100g. Penelitian ini menunjukkan bahwa pelarut metanol merupakan pelarut terbaik yang dapat menghasilkan total fenol tertinggi. Total fenol pada ekstrak jeruk limau memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama dengan pelarut metanol sehingga pelarut metanol lebih efektif dalam melarutkan senyawa fenol yang terdapat dalam jeruk limau dibandingkan dengan pelarut etanol dan aseton yang tingkat kepolarannya berada dibawah metanol. Suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harbone, 1987). Menurut Eskin et al., (2001), metanol merupakan pelarut yang paling baik dalam mengekstrak senyawa fenol. Hal ini sejalan dengan penelitian Savitri et al., (2017) metanol merupakan pelarut yang paling efektif dalam melarutkan senyawa fenol yang terdapat dalam *Sargassum polycystum* dibandingkan dengan pelarut etanol, aseton, isopropil alkohol dan etil asetat. Zulharmitta et al., (2010) juga menyatakan bahwa perbandingan pelaut metanol : air menghasilkan senyawa fenol

tertinggi yaitu 73,4584 mg/g dibandingkan dengan pelarut etanol : air dan aseton : air pada herba miniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Berdasarkan Tabel 4. Nilai rata – rata total fenol ekstrak jeruk limau pada perlakuan lama maserasi berkisar antara 5.023,52 mg GAE/100g sampai 5.575,06 mg GAE/100g, tetapi perlakuan lama maserasi tidak berbeda nyata. Lama maserasi 6 jam menghasilkan total fenol yang cenderung paling tinggi yaitu 5.575,06 mg GAE/100g dibandingkan dengan perlakuan lama maserasi 4 jam yaitu 5.235,70 mg GAE/100g dan lama maserasi 2 jam yaitu 5.023,52 mg GAE/100g. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Devi dan Arumughan (2007) bahwa waktu maserasi berpengaruh terhadap rendemen ekstrak senyawa fitokimia termasuk senyawa fenolik. Semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan semakin banyak senyawa fenol yang larut kedalam pelarut sampai titik tertentu.

Kapasitas Antioksidan

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) sedangkan perlakuan lama maserasi dan interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau (Lampiran 4). Hasil rerata dari kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau (mg GAEAC/100g)

Jenis Pelarut	Lama Maserasi (Jam)			Rerata
	2	4	8	
Etanol	3248.06	3396.93	3427.95	3357,64 ± 428 b
Metanol	4314.10	4447.10	4928.79	4563,33 ± 327 a
Aseton	4103.90	4252.03	4328.91	4228,28 ± 341 a
Rerata	3888,69 ± 593 a	4032,02 ± 514 a	4228,55 ± 806 a	

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata tiap baris atau kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$)

Tabel 5 menunjukkan nilai rata - rata kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau pada perlakuan jenis pelarut berkisar antara 3.357,64 mg GAEAC/100g sampai 4.563,33 mg GAEAC/100g. Pelarut metanol memiliki kapasitas antioksidan tertinggi yaitu 4.563,33 mg GAEAC/100g dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan pelarut aseton yaitu 4.228,28 mg GAEAC/100g, tetapi kedua perlakuan tersebut berbeda nyata dengan pelarut etanol yaitu 3.357,64 mg GAEAC/100g. Penelitian ini menunjukkan bahwa pelarut metanol dan aseton merupakan pelarut terbaik yang dapat menghasilkan kapasitas antioksidan tertinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian Suryani et al., (2015) yang menyatakan bahwa jenis pelarut terbaik untuk menghasilkan kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah pelarut metanol dan aseton.

Berdasarkan Tabel 4. Nilai rata – rata total fenol ekstrak jeruk limau pada perlakuan lama maserasi berkisar antara 3.888,69 mg GAEAC/100g sampai 4.228,55 mg GAEAC/100g, tetapi perlakuan lama maserasi tidak berbeda nyata. Lama maserasi 6 jam menghasilkan kapasitas antioksidan yang cenderung paling tinggi yaitu 4.228,55 mg GAEAC/100g dibandingkan dengan perlakuan lama maserasi 4 jam yaitu 4.032,02 mg GAEAC/100g dan lama maserasi 2 jam yaitu 3.888,69 mg GAEAC/100g. Penelitian ini

menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi semakin banyak senyawa antioksidan yang terekstrak sehingga kapasitas antioksidan semakin tinggi. Nilai kapasitas antioksidan merupakan nilai kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas, semakin tinggi kapasitas antioksidan maka semakin baik kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Hal ini sejalan dengan penelitian Almey et al., (2010) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka senyawa antioksidan yang terdapat pada suatu ekstrak akan semakin meningkat.

Senyawa antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dari radikal bebas dengan cara menetralkan radikal bebas tersebut.

Uji Indeks Efektivitas

Uji indeks efektivitas digunakan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam menghasilkan ekstrak jeruk limau. Penentuan perlakuan terbaik menggunakan uji indeks efektivitas menurut De Garmo et al., (1984). Semua variable diurutkan menurut prioritas dan kontribusi terhadap hasil. Proses pengurutannya dilakukan oleh para ahli (orang yang sangat mengerti karakteristik produk yang di uji). Hasil perhitungan uji indeks efektivitas dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil pengujian indeks efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik ekstrak jeruk limau

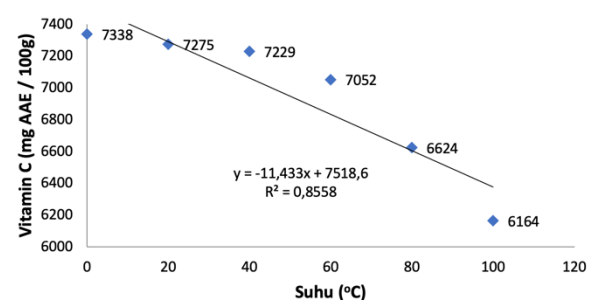
Perlakuan	Variabel				Jumlah	
	Total Fenol	Kapasitas Antioksidan	Vitamin C	Rendemen		
	(BV)	2.60	3.80	3.60	2.00	12.00
	(BN)	0.22	0.32	0.30	0.17	1.00
P1W1	Ne	0.00	0.00	0.18	0.59	
	Nh	0.00	0.00	0.05	0.10	0.15
P1W2	Ne	0.01	0.09	0.37	0.70	
	Nh	0.00	0.03	0.11	0.12	0.26
P1W3	Ne	0.29	0.11	0.76	0.82	
	Nh	0.06	0.03	0.23	0.14	0.46
P2W1	Ne	0.76	0.63	0.49	0.95	
	Nh	0.16	0.20	0.15	0.16	0.67
P2W2	Ne	0.89	0.71	0.78	0.97	
	Nh	0.19	0.23	0.23	0.16	0.81
P2W3	Ne	1.00	1.00	1.00	1.00	
	Nh	0.22	0.32	0.30	0.17	1.00
P3W1	Ne	0.22	0.49	0.00	0.00	
	Nh	0.05	0.16	0.00	0.00	0.20
P3W2	Ne	0.38	0.58	0.25	0.02	
	Nh	0.08	0.18	0.08	0.00	0.34
P3W3	Ne	0.44	0.62	0.35	0.07	
	Nh	0.10	0.20	0.11	0.01	0.41

Keterangan :
Ne : nilai efektivitas
BV : bobot variabel
Nh : nilai hasil (*Ne* x *BN*)
BN : bobot normal

Hasil uji indeks efektivitas menunjukkan bahwa jumlah nilai hasil (*Nh*) tertinggi sebesar 1,00 diperoleh dari perlakuan P2W3 yaitu pelarut metanol dengan lama maserasi 6 jam, sehingga perlakuan P2W3 merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak jeruk limau yang menghasilkan rendemen sebesar 35,08%, vitamin C sebesar 7.580,90 mg AAE/100g, total fenol sebesar 6.484,54 mg GAE/100g, dan kapasitas antioksidan sebesar 4.928,79 mg GAEAC/100g

Stabilitas Terhadap Suhu (Trend Vitamin C)

Perubahan kandungan vitamin C mengalami penurunan seiring bertambahnya suhu. Trend nilai kandungan vitamin C pada berbagai suhu dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik perubahan kandungan vitamin C pada variasi suhu (0°C, 20°C, 40°C, 60°C, 80°C, 100°C)

Gambar 6 menunjukkan nilai rata-rata vitamin C ekstrak jeruk limau pada perlakuan suhu penyimpanan. Suhu 0°C memiliki kandungan vitamin C tertinggi yaitu 7338 mg AAE/100 g dan suhu 100°C memiliki kandungan vitamin C terendah yaitu 6164 mg AAE/100 g. Hasil analisis korelasi dari variasi suhu terhadap kandungan vitamin C menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yaitu semakin tinggi perlakuan suhu yang digunakan, maka semakin kecil kandungan vitamin C ekstrak jeruk limau, dengan nilai regresi $y = -11.433x + 7518.6$, koefisien determinasi sebesar $R^2 = 0.8558$, dan koefisien korelasi sebesar $r = -0.9251$. Nilai koefisien determinasi ($R^2 = 0.8558$) menunjukkan bahwa perubahan kandungan vitamin C ekstrak jeruk limau dipengaruhi oleh variable suhu sebesar 85.58%, sedangkan sisanya sebanyak 14,42% dipengaruhi oleh faktor lain. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan menunjukkan korelasi yang kuat karena korelasi (r) yang dihasilkan mempunyai nilai antara 0,75 – 0,99 (Sarwono, 2006). Korelasi negatif merupakan korelasi antara dua variabel (variasi suhu dan kandungan vitamin C) yang berjalan berlawanan yang berarti jika variabel X mengalami kenaikan maka variabel Y mengalami penurunan atau sebaliknya.

Penyimpanan ekstrak jeruk limau pada suhu rendah dapat menghambat oksidasi, aktivitas enzim dan reaksi metabolisme. Pada keadaan penyimpanan rendah, aktivitas metabolisme menjadi rendah sehingga laju oksidasi menurun yang dapat menghambat penurunan kadar vitamin C. Pada suhu tinggi ikatan molekul-molekul penyusun vitamin C terputus sehingga vitamin C menjadi terurai (rusak). Vitamin C merupakan vitamin larut air, pada proses pemanasan terjadi penguapan sehingga vitamin C ikut menguap bersama air. Semakin tinggi suhu maka semakin banyak

vitamin C yang terdegradasi oleh panas sehingga terjadi penurunan kandungan vitamin C. Penurunan ini dikarenakan vitamin C merupakan jenis vitamin yang mudah teroksidasi karena mengandung senyawa gugus fungsi hidroksi (OH) yang sangat reaktif. Vitamin C memiliki sifat tidak stabil, mudah teroksidasi jika terkena udara (oksigen) dan proses ini dapat dipercepat oleh panas. El-Ishaq dan Obirinakem (2015) menyatakan bahwa, vitamin C mudah rusak ketika dimasak dan diolah serta terkena udara dan cahaya. Selain itu, penurunan kandungan vitamin C juga disebabkan oleh aktivitas asam askorbat oksidase pada saat penyimpanan yang dapat merombak asam askorbat di dalam bahan. Dimana terjadinya proses respirasi dan oksidasi vitamin C menjadi asam L-dehidroaskorbat dan mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan vitamin C sehingga vitamin C mengalami kerusakan (Rachmawati et al., 2009).

Hal ini sejalan dengan penelitian Hok et al., (2007) yang menyatakan bahwa semakin tinggi suhu maka konsentrasi vitamin C pada pembuatan pasta tomat semakin turun. Pada penelitian ini pasta tomat diberikan perlakuan suhu 40°C, 60°C dan 80 °C dan terjadi penurunan vitamin C yang signifikan. Penelitian Patty et al., (2016) juga menyatakan bahwa pada penyimpanan suhu kamar selama 10 hari kandungan vitamin C buah gandaria mengalami penurunan 35,05%, sedangkan pada suhu dingin hanya 21,03%. Yuda dan Suena (2016) pada penelitiannya yaitu penyimpanan tablet vitamin C pada suhu 5°C, 27°C dan 48°C juga menyatakan bahwa suhu penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kadar asam askorbat dalam tablet vitamin C.

KESIMPULAN

1. Jenis pelarut berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen dan kapasitas antioksidan, dan berpengaruh nyata terhadap vitamin C dan total fenol ekstrak

jeruk limau. Lama maserasi berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, berpengaruh nyata terhadap vitamin C, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap total fenol dan kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau. Interaksi antara kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, vitamin C, total fenol, dan kapasitas antioksidan ekstrak jeruk limau.

2. Perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak jeruk limau yaitu dengan perlakuan pelarut metanol dan lama maserasi 6 jam yang menghasilkan rendemen sebesar 35,08%, vitamin C sebesar 7.580,90 mg AAE/100g, total fenol sebesar 6.484,54 mg GAE/100g, dan kapasitas antioksidan sebesar 4.928,79 mg GAEAC/100g.
3. Stabilitas ekstrak jeruk limau terhadap suhu menunjukkan semakin tinggi suhu penyimpanan maka semakin rendah kandungan vitamin C ekstrak jeruk limau. Perubahan kandungan vitamin C terhadap pengaruh suhu ditunjukkan dengan regresi $y = -11.433x + 7518.6$, dengan koefisien korelasi (r) sebesar -0.9251 . Kandungan vitamin C tertinggi pada suhu 0oC yaitu 7338,47 mg AAE/100g dan terendah pada suhu 100oC yaitu 6163,59 mg AAE/100g.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyasa, I. K. G. P., L. P. Wrasati., N. M. Wartini. 2015. Efektivitas jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap karakteristik concrete minyak atsiri kulit jeruk mandarin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri* 3 (4) : 21 – 29.
- Almey, A. A. A., A. J. Khan, S. I. Zahir, M. K. Suleiman, M. R. Aisyah, and K. K. Rahim. 2010. Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of aromatic plants leaves. *Journal of Int Food Res* 17 : 1077-1084
- Anam, C., T.W. Agustini dan Romadhon. 2014. Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi spirulina platentis serbuk sebagai antioksidan dengan metode soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(4):106-112.
- Amelinda, E., I. W. R. Widarta., dan L. P. T. Darmayanti. 2018. Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak temulawak. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7 (4) : 165 – 174.
- Boelens, M. H. 1997. Production, chemistry and sensory properties of natural isolates in flavor and fragrance. K. A. D. Swift. *The royal society of chemistry* : 77 – 79.
- Bronner, W. E., dan G. R. Beecher. 1995. Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit concentrates. *J Chromatogr* 705 : 247-256.
- Damanik, D. D. P., N. Surbakti, dan R. Hasibuan. 2014. Ekstraksi katekin dari daun gambir (*Uncaria gambir roxb*) dengan metode maserasi. *Jurnal Teknik Kimia USU* 3 (2) : 10-14
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan dan C.R. Canada.1984. *Engineering Economy*. 7th ed. Mac. Millan Publishing Company, New York.
- Devi, R.R and C. Arumughan. 2007. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment. *Bioresource Technol*. 98 : 3037-3043
- El-Ishaq, A. dan S. Obirinakem. 2015. Effect of Temperature and Storage on Vitamin C Content in Fruits Juice. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*. Chemistry/Biochemistry Unit,

- Federal Polytechnic, Damaturu Nigeria, 1(2): 17-21
- Eskin, N.A.M., and R. Przybylski. 2001. Antioxidants and Shelf Life of Foods. CRC Press LLC, Florida.
- Gillespie, R. J. dan Paul. 2001. Chemical Bonding and Molecular Geometry. Oxford University Press, London.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hertog M. G. L., P. C. H. Hollman, dan B. V. D. Putte. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. *J Agric Food Chem* 41: 1242-1246.
- Hok, K. T., W. Setyo, W. Irawaty, dan F. E. Soetaredjo. 2007. Pengaruh suhu dan waktu pemanasan terhadap kandungan vitamin a dan c pada proses pembuatan pasta tomat. *Widya Teknik*. 6 (2) : 111 – 120
- Kawiji., L. U. Khasanah., R. Utami., N. T. Aryani. 2015. Ekstraksi maserasi oleoresin daun jeruk purut. *AGRITECH* 35 (2) : 178 – 184.
- Kemit, N., I W.R. Widarta dan K.A. Nociantri. Pengaruh jenis plarut dan waktu maserasi terhadap kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill). *E. Jurnal Itepa Universitas Udayana*. 1 : 130 - 141
- Liu, Q dan H. Yao. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extract. *Food Chemistry*. 107: 732-737.
- Mardawati, E., C.S. Achyar dan H. Marta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Meutia, Y. R., N. I. A. Wardyanie, Rienoviar, T. Mahardini, dan I. Wirawan. 2015. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap komponen volatil yang terlibat pada ekstraksi andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). *Journal of Agro-based Industry*. 32 (1) : 9-15
- Patty, A. A., P. M. Papilaya, dan P. M. J. Tuapattinaya. 2016. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kandungan vitamin A dan vitamin C buah gandaria (*Bouea macrophylla* griff) serta implikasinya pada pembelajaran biologi. *Biopendix*. 3 (1) : 09 - 17
- Paulucci, V. P., R. O. Couto, C. C. C. Teixeira, and L. A. P. Freitas. 2012. Optimization Of The Extraction Of Curcumin From *Curcuma Longa* Rhizomes. *Faculdade De Ciencias Farmaceuticas De Ribeirao Preto. Universidade de Sao Paulo, Brazil*.
- Rafsanjani, M. K., dan W. D. R. Putri. 2015. Karakterisasi ekstrak kulit jeruk bali menggunakan metode ultrasonic bath (kajian perbedaan pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (4) : 1473-1480.
- Rachmawati, R. M. R. Defiani, dan N. L. Suriani. 2009. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kandungan vitamin c pada cabai rawit putih. *Jurnal Biologi*. 13 (2): 36-40

- Sakanaka, S., Y. Tachibana, Okad dan Yuki. 2003. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinocha-cha). *Food Chemistry*. 89 : 569-575.
- Salamah, N. dan E. Widyasari. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1- pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1): 25-34
- Sarwono, J. 2006. Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Savitri, I., L. Suhendra, dan N. M. Wartini. 2017. Pengaruh jenis pelarut pada metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Management Agroindustri*. 5 (3): 93-101. ISSN: 2503-488X.
- Sethpakdee, S. 2002. Citrus aurantifolia. *Adible Fruit and Nut: Porsea Sent Resources of South East Asia*. 2: 126128.
- Sudarmadji, C. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Suryani, N. C., D. G. M . Permana, dan A. Jambe. 2015. Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktifitas antioksidan ekstrak daun mataoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal ITEPA*. 5 (1).
- Syamsuhidayat, S., dan J. R. Hutape. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Depkes RI, Jakarta.
- Ulfa, F.S., A.D Anggo dan Romadhon. 2014. Uji potensi aktivitas antioksidan dengan metode ekstraksi bertingkat pada lamun dugong (*Thalassia hemprichii*) dari perairan Jepara. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(3):32-39.
- Verdiana, M., I. W. R. Widarta, dan I. D. G. M. Permana. 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.
- Voigh, R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Vuong, Q. V., S. Hirun, T. L. K.Chuen, C. D Goldsmith, M. C. Bowyer, A.C. Chalmers, P. A. Phillip, and C. J. Scarlett. 2014. Physicochemical composition, antioxidant and anti-proliferative capacity of a lilly pilli (*Syzygium paniculatum*) extract. *J Herb Med* 4 : 134 – 140
- Wulandari, M., N. Indriawati, dan Gusrizal. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus microcarpa bunge*). *JKK* 2 (2) : 90-94.
- Yuda, P. E. S. K. dan N. M. D. S. Suena. 2016. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap kadar tablet vitamin C yang diukur menggunakan metode spektrofotometri uv-vis. *Medicamento*. 2 (1) : 23 - 27
- Yuliantari, N. W. A., I. W. R. Widarta., dan I. D. G. M. Permana. 2017. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak menggunakan ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*. 4 (1) : 35 – 42.

- Yun, L. 2001. Free radical scavenging properties of conjugated linoic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 3452-3456.
- Zulharmitta, D. Erika, H. Rivai. 2010. Penentuan pengaruh jenis pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dan daya antioksidan dari herba miniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmasi Higea* 2 (1) : 37-45
- Zumdahl, S.S. 2007. *Chemical Principles*. Cengage Learning, Boston