

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL FRAKSI N-HEKSAN DAN KLOOROFORM DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*)

Fadilah Qonitah, Ahwan

Program Studi Farmasi Fakultas Sains Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta
Email: fadilahqonitah12@gmail.com

ABSTRACT

Free radicals can cause several diseases. Antioxidants are the compounds that can reduce free radicals in the human body. Kaffir lime leaves contain phenolic and flavonoids compounds which have antioxidant activity. This research aimed to evaluate the antioxidant activity and to determine total phenolic contents of fraction n-hexane and chloroform from kaffir lime leaves. The antioxidant activity was determined by radical scavenging assay using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical. The total phenolic content was determined by the spectrophotometric method. The results showed that the antioxidant activity of chloroform fraction (IC_{50} : $302.91 \pm 0.28 \mu\text{g} / \text{mL}$) was higher than the n-hexane fraction (IC_{50} : $714,25 \pm 1,97 \mu\text{g} / \text{mL}$), but the antioxidant activity was lower than vitamin C (IC_{50} : $3,28 \pm 0,12 \mu\text{g} / \text{mL}$). The total phenolic content of chloroform fraction ($4.73 \pm 0,33\%$ w/w EAG) was higher than the n-hexane fraction ($3,18 \pm 0,31\%$ w/w EAG).

Key words: Antioxidants, total phenolic, kaffir lime leaves.

PENDAHULUAN

Beberapa penyakit seperti kanker, diabetes melitus, aterosklerosis, penyakit kardiovaskuler, penuaan, dan penyakit peradangan disebabkan oleh stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan sehingga tidak stabil. Di dalam tubuh radikal bebas akan bereaksi dengan makromolekul dalam sel yang sehat sehingga akan menyebabkan kerusakan sel tersebut.¹

Radikal bebas bersumber dari hasil metabolisme sel normal dalam tubuh atau dapat bersumber dari luar tubuh seperti polusi lingkungan, sinar ultraviolet (UV) dan asap rokok. Reaktifitas dari radikal bebas dapat

dihambat oleh antioksidan di dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi reaksi oksidasi berantai. Antioksidan yang ada di dalam tubuh jumlahnya terbatas maka dibutuhkan antioksidan eksogen dari luar tubuh.²

Antioksidan eksogen terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman dan buah-buahan. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang banyak ditemukan pada tanaman. Banyak penelitian telah melaporkan bahwa ada hubungan antara senyawa fenolik dan polifenol pada tanaman dengan aktivitas antioksidannya.³

Salah satu sumber alam yang dapat

Aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total fraksi n-heksan dan kloroform daun jeruk purut (Citrus hystrix).

dijadikan sebagai antioksidan alami adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*). Daun jeruk purut mengandung alkaloid polifenol, α -tokoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin. Senyawa-senyawa ini bertindak aktif dalam aktivitas antioksidan terutama senyawa flavonoid.⁴ Berdasarkan data tersebut pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total fraksi n-heksan dan kloroform daun jeruk purut

METODE PENELITIAN

Pembuatan Fraksi Sampel

Sebanyak 800 gram simplisia daun jeruk purut yang telah diserbuk, dimaserasi dengan 4 liter etanol 96%. Didiamkan 3 x 24 jam setelah itu disaring dan maserat hasil ekstraksi dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol daun jeruk yang diperoleh kemudian dipartisis dengan corong pisah menggunakan pelarut n-heksan dan kloroform sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi kloroform.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Sejumlah larutan sampel dengan berbagai konsentrasi dimasukkan dalam labu takar 5 mL ditambah dengan 1 mL DPPH 0,4 mM dan ditambah etanol sampai batas tanda. Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai pembanding digunakan vitamin C yang sudah diketahui sebagai antioksidan.⁵ Besarnya

persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ pada penangkapan radikal DPPH diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier seri konsentrasi sampel terhadap persen inhibisi, $y=a+bx$. Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = \frac{50-a}{b}$

Penentuan Kandungan Fenolik Total

Sejumlah fraksi uji dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL, ditambah dengan 0,2 mL reagen Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5-8 menit. Campuran selanjutnya ditambah 2 mL Na₂CO₃ 7% dan ditambah aquades sampai batas tanda. Setelah itu didiamkan selama 68 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 767 nm. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat tiap berat kering subfraksi (%b/b EAG).⁶

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan dan fraksi kloroform daun jeruk purut dilakukan berdasarkan metode peredaman radikal DPPH yang disajikan pada tabel 1. Dalam metode ini efek peredaman radikal DPPH dihitung berdasarkan persentase pemudaran warna ungu dari DPPH menjadi kekuningan. Besarnya aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀ yang merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal DPPH sebesar 50%.⁷

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa fraksi kloroform (IC₅₀: 302,91 ± 0,28 µg/mL) mempunyai aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan (IC₅₀: 714,25 ± 1,97 µg/mL). Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa semakin besar aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dari

Aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total fraksi n-heksan dan kloroform daun jeruk purut (Citrus hystrix).

kedua fraksi tersebut jika dibandingkan dengan vitamin C, aktivitas antioksidannya masih lebih kecil. Hal ini dapat dilihat pada

tabel 1 yang menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari vitamin C sebesar 3,28 ± 0,12 µg/mL.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan fraksi n-heksan dan fraksi kloroform daun jeruk purut dengan metode DPPH

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)			Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Fraksi n-heksan	715,82	714,91	712,04	714,25 ± 1,97
Fraksi kloroform	303,22	302,84	302,66	302,91 ± 0,28
Vitamin C	3,31	3,15	3,39	3,28 ± 0,12

Tabel 2. Kandungan fenolik total fraksi n-heksan dan fraksi kloroform daun jeruk purut

Sampel	Kandungan fenolik total (% EAG)			Rata-rata kandungan fenolik total (%b/b EAG)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Fraksi n-heksan	2,95	3,07	3,53	3,18 ± 0,31
Fraksi kloroform	4,36	4,86	4,97	4,73 ± 0,33

Berdasarkan penelitian aktivitas antioksidan sering kali dihubungkan dengan senyawa-senyawa fenolik yang dikandung oleh tanaman. Senyawa fenolik dapat meredam senyawa radikal karena mempunyai bersifat sebagai pereduksi, pemberi hydrogen, peredam oksigen singlet dan sebagai pengkelat logam.⁸

Pada penelitian ini pengukuran kandungan fenolik total ditentukan dengan metode spektrofotometri dengan reagen folin Folin–cioucalte menggunakan standar atau baku asam galat. Kandungan fenoli total fraksi n-heksan dan kloroform dan jeruk purut dihitung berdasarkan persamaan kurva baku asam galat dan dinyatakan dalam% b/b ekivalen asam galat (% b/b EAG).

Tabel 2 menunjukkan bahwa kandungan fenolik total fraksi kloroform dan fraksi n-heksan masing-masing sebesar 4,73 ± 0,33 % b/b EAG dan 3,18 ± 0,31 % b/b EAG. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fenolik total fraksi kloroform lebih besar daripada fraksi n-heksan. Data ini dapat mendukung terkait hasil penentuan aktivitas antioksidan

yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan fraksi kloroform juga lebih besar dari pada fraksi n-heksan.

KESIMPULAN

Fraksi kloroform daun jeruk purut mempunyai aktivitas antioksidan lebih besar daripada fraksi n-heksan daun jeruk purut dengan nilai IC₅₀ sebesar 302,91 ± 0,28 µg/mL. Akan tetapi aktivitas antioksidan tersebut lebih kecil dibandingkan vitamin C dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,28 ± 0,12 µg/mL. Fraksi kloroform daun jeruk purut mempunyai kandungan fenolik total daripada fraksi n-heksan daun jeruk purut yaitu sebesar 4,73 ± 0,33 % b/b EAG.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ghosh S, Derle A, Ahire M, More P, Jagtap S, Phadataré SD, et al. Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Activity of Medicinal Plants *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*. 2013;8(12):1–18.
2. Sari AK, Ayati R. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D . C) Dengan Metode DPPH (1 , 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). 2018;1(2):69–74.
3. Fidrianny I, Johan Y, Sukrasno. Antioxidant Activities Of Different Polarity

Aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total fraksi n-heksan dan kloroform daun jeruk purut (Citrus hystrix).

- Extracts From Three Organs Of Makrut Lime (*Citrus hystrix* DC) and correlation With Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content. *Asian J Pharm Clin Res.* 2015;8(4):239–43.
4. Rahmi U, Manjang Y, Santoni A. Profil Fitokimia Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm . f .) Merr). 2013;2(2303):109–14.
 5. Sami FJ, Nur S, Ramli N, Sutrisno B. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidan Power). 2006;09(02):683–8.
 6. Chun OK, Kim DO, Lee CY. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *J Agric Food Chem.* 2003;51(27):8067–72.
 7. Karim AA, Azlan A, Ismail A, Hashim P, Abd Gani SS, Zainudin BH, et al. and Tyrosinase Inhibitory Activities of Cocoa Pod Extract. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14(381):1–13.
 8. Abdul Rohman, Sugeng Riyanto. Aktivitas antioksidan, Kandungan Fenolik Total, Dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). *Agritec*, 2007; 27: 147-151.