

STUDI KOMPARASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC) DAN DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) ASAL KOTA TERNATE MENGGUNAKAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH

Virsa Handayani, Tadjuddin Naid, Ria Fitriani Umahsangaji

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email: virsa.handayani@umi.ac.id

ABSTRACT

Citrus (*Citrus hystrix* DC) and lime leaves (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) are a Rutaceae family which contain flavonoids with antioxidant activity. The aim of this study is to compare the antioxidant activity of the citrus and lime leaves using DPPH free radical suppression method. The extraction of citrus and lime leaves by maceration method using ethanol 96 %. The antioxidant assay qualitatively by Thin Layer Chromatography (TLC) used the eluent n-hexane : ethyl acetate (7:3). The antioxidant assay quantitatively used DPPH free radical suppression method measured the absorption at the wavelength 515 nm. The results showed that the IC₅₀ value of the citrus is 228.695 µg/mL. This showed that the potential of the antioxidant activity of the sample is weak; however, the IC₅₀ value of the lime leaves is 335.064 µg/mL. this showed that the antioxidant activity of the sample is not active.

Key words : Antioxidant, citrus and lime leaves, DPPH.

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu kekayaan flora yang dimiliki oleh Indonesia dan yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman pangan maupun obat. Jeruk berasal dari dataran Asia tepatnya dari dataran Cina. Jeruk telah lama dikenal dan dibudidayakan dan merupakan salah satu buah yang sangat digemari oleh masyarakat baik sebagai buah segar maupun olahan. Di Indonesia banyak terdapat varietas jeruk. Diantaranya jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) merupakan jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Bagian utama yang digunakan adalah buah, daun, dan kulit buah. Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) digunakan untuk pengobatan influenza, penambah stamina. Sedangkan

daun dan kulit buah dapat digunakan sebagai stimulan dan penyegar.³

Daun jeruk nipis mengandung flavonoid, seperti poncirin, hesperidin, rhoifolin. Daun jeruk nipis juga mengandung asam sitrat, asam amino (triptofan, lisin), minyak atsiri (sitral, limonene, felandren, tripenol, kamfen), dan vitamin B⁸, glikosida, tanin, dan phlobatannin.⁷ Daun jeruk purut mengandung flavonoid (sianidin, myricetin, peorridin, querctein, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin) dan aktivitas antioksidan, α-tokoferol.² Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman yang dapat berperan sebagai antioksidan.¹⁰ Antioksidan bermanfaat bagi kesehatan selain itu juga bermanfaat untuk produk pangan dalam menjaga mutu dari produk pangan tersebut. Antioksidan merupakan zat yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi atau menetralkir radikal bebas

dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang stabil.¹³

Studi aktivitas antioksidan daun jeruk yang dilakukan Fidrianny *et al* menunjukkan aktivitas antioksidan daun jeruk nipis lebih tinggi dibandingkan daun jeruk purut, jeruk keprok, jeruk bali, dan jeruk lemon yang berasal dari Jawa Barat menggunakan metode DPPH dan FRAP.⁴

Hal diatas yang mendasari dilakukannya penelitian dengan judul "Studi komparasi aktivitas antioksidan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) menggunakan metode DPPH".

METODE PENELITIAN

Pengolahan sampel

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) yang diperoleh dari Kota Ternate dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir kemudian dipotong-potong dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, sampel diserbukkan dan diekstraksi dengan cara maserasi.¹⁴

Ekstraksi

Serbuk daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) masing-masing ditimbang sebanyak 450 gr, kemudian dimasukkan sampel yang akan di sari kedalam bejana maserasi. Dituang secara perlahan etanol 96% sebanyak 1,5 L kedalam bejana maserasi yang berisi serbuk daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC). Kemudian biarkan cairan penyari merendam serbuk simplisia selama 3 hari sesekali dilakukan pengadukan, dilakukan

maserasi 3 kali dengan pelarut 1,5 L. Kemudian disaring kedalam wadah baru sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.¹⁴

Skrining Fitokimia Sampel

Identifikasi alkaloid¹⁵

Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi kemudian ditetesi :

1. HCl 0,5 N dan pereaksi Mayer, jika mengandung alkaloid maka akan menghasilkan endapan kuning.
2. HCl 0,5 N dan pereaksi Bauchardat, jika mengandung alkaloid maka akan menghasilkan endapan coklat.
3. HCl 0,5 N dan pereaksi Dragendorf, jingga mengandung alkaloid akan menghasilkan endapan jingga.

Identifikasi flavonoid

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) diambil sebanyak 1 gr, masing-masing dimasukkan dalam labu erlenmeyer dan ditambah etanol 25 mL. Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan sampai volume pelarut tinggal setengahnya. Filtrat dibagi menjadi dua, tabung pertama blanko dan tabung kedua ditambah beberapa tetes etanol, dikocok kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan teteskan 5 M asam klorida. Bila timbul warna merah maka ekstrak mengandung flavonoid.

Identifikasi saponin¹¹

Sampel sebanyak 20 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan aquades sampai seluruhnya terendam, kemudian panaskan selama 5 menit.

Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut dan Daun Jeruk Nipis Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH

Dinginkan, lalu kocok kuat-kuat sampai berbusa. Timbulnya busa yang stabil selama 5-10 menit menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi fenol¹⁵

Ekstrak etanol cair diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menunjukkan adanya senyawa fenol dalam sampel.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Sampel Secara Kualitatif

Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) masing-masing dilarutkan dengan aseton dan ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan menggunakan eluen n-Heksan : Etil asetat (7:3). Ekstrak yang sudah ditotol pada lempeng KLT dielusi dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil (DPPH) dan dibiarkan mengering dan diamati terdapat noda berwarna kuning pada lempeng.⁵

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Sampel Secara Kuantitatif

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) diuji dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH.

Pembuatan larutan stok DPPH

Serbuk DPPH sebanyak 2,5 mg dilarutkan dengan 100 mL pelarut metanol p.a didalam labu tentukur untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 25 ppm.

Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH.

Larutan stok DPPH 25 ppm dipipet 4 mL lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30

menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal.

Pengukuran daya antioksidan ekstrak sampel.

Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu cukupkan volumenya hingga 10 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 130 ppm, dan 140 ppm dimana masing-masing dipipet 0,25 mL, 0,5 mL, 0,6 mL, 0,65 mL dan 0,7 mL kemudian dicukupkan dengan metanol p.a sampai volume akhir 5 mL. dan dilakukan seri pengenceran pada sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dengan seri konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm dimana masing-masing dipipet 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL, 0,6 mL dan 0,7 mL kemudian dicukupkan dengan metanol p.a sampai volume akhir 5 mL. Seri konsentrasi yang telah dibuat masing-masing dipipet 0,5 mL, lalu ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH 25 ppm. Larutan campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

Pengukuran daya antioksidan sampel pembanding kuersetin

Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu cukupkan volumenya hingga 10 mL, kemudian dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, kemudian dicukupkan dengan metanol p.a sampai volume akhir 5 mL. Seri konsentrasi yang telah

dibuat masing-masing dipipet 0,5 mL, lalu ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH 25 ppm. Larutan campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Radikal bebas adalah suatu molekul yang relatif tidak stabil dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan molekul kimia yang sangat reaktif dan disebut-sebut sebagai penyebab dari penuaan dini, kanker, penyempitan pembuluh darah (aterosklerosis), penyakit gangguan paru, hati, ginjal, katarak, rematik dan diabetes sering dikaitkan dengan radikal bebas.⁷

Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi atau menetralkan radikal bebas.¹³

Penelitian ini menggunakan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) yang diekstraksi dengan metode meserasi yang merupakan salah satu metode ekstraksi secara

dingin. Metode ekstraksi yang digunakan adalah meserasi karena metode ini merupakan metode ekstraksi dengan cara dingin sehingga dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang termolabil.¹⁶

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) yang akan diekstraksi ditimbang sebanyak 450 g kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96 % sebanyak 1,5 L. Penggunaan pelarut etanol dalam proses ekstraksi dikarenakan lebih aman dalam penanganan dibandingkan pelarut organik lainnya seperti metanol dan aseton. Pelarut etanol memiliki aktivitas yang tinggi untuk menarik senyawa, bergantung pada konsentrasi pelarut etanol sendiri.¹

Hasil ekstrak etanol kental yang diperoleh pada daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) seperti pada tabel 1.

Hasil dilakukan uji skrining dengan metode tabung pada sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle), kedua sampel mengandung fenol, flavonoid, dan saponin dan pada sampel tidak mengandung alkaloid seperti pada Tabel 2.

Tabel 1. Data persen (%) rendamen sampel

Sampel	Berat sampel segar (g)	Berat ekstrak (g)	Rendamen ekstrak (%) b/b
Daun jeruk purut	450 g	50,9073	11,313
Daun jeruk nipis	450 g	44,5056	9,908

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT. Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen n-

Heksan : etil asetat (7:3). Setelah lempeng KLT dielusi kemudian disemprot dengan DPPH. Bercak noda yang memberikan perubahan warna menjadi kuning setelah disemprotkan dengan DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan⁵.

Tabel 2. Data hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle)

Sampel	Identifikasi	Hasil pengamatan
Ekstrak etanol daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC) dan daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i> (christm) Swingle)	Fenol	+
	Flavonoid	+
	Saponin	+
	Alkaloid	-

Keterangan : (+) = positif; (-) = negatif.

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan terdapat bercak kuning latar ungu pada lempeng KLT yang telah di semprotkan menggunakan DPPH.

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) adalah metode yang paling sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan reagen DPPH. Pengujian antioksidan dengan DPPH akan menghasilkan nilai IC₅₀ (*Inhibitor concentration*) yang menyatakan seberapa besar konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas (DPPH) sebanyak 50 %.¹²

Sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 130 ppm dan 140 ppm sedangkan pada sampel daun jeruk nipis

(*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm. Pada pengujian ini digunakan pembanding kuersetin. Kuersetin dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm selanjutnya dibuat pengenceran dengan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Lalu dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya dilakukan perhitungan persen inhibisi (% inhibisi) dan nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*) dari masing-masing sampel dan pembanding.

Hasil yang diperoleh pada pengukuran pembanding, nilai IC₅₀ kuersetin yaitu 5,087 µg/mL ini menunjukkan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Sedangkan pada sampel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki nilai IC₅₀ 228,695 µg/mL, ini menunjukkan sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki aktivitas antioksidan lemah dan pada sampel ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) memiliki nilai IC₅₀ 335,064 µg/mL, ini menunjukkan pada sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle).

Dari data diatas menunjukkan bahwa sampel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) tidak memiliki aktivitas antioksidan

Adapun faktor kesalahan yang mungkin terjadi pada saat pengambilan sampel dan pengolahan. Kemungkinan faktor kerugian metode maserasi juga dapat menyebabkan beberapa senyawa hilang pada saat proses ekstraksi.¹⁶

Hal lain yang mungkin terjadi yaitu akibat pengeringan. Pengeringan bahan pangan seringkali dilakukan agar suatu bahan dapat disimpan lebih lama, namun proses pengeringan dapat menyebabkan kerusakan senyawa-senyawa di dalamnya, termasuk senyawa antioksidan alami. Beberapa penelitian pada tumbuhan mengenai aktivitas antioksidan dengan membandingkan sampel yang masih segar dan sampel yang telah dikeringkan, menunjukkan aktivitas antioksidan sampel yang masih segar lebih baik dibandingkan sampel yang telah dikeringkan.

KESIMPULAN

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki aktivitas antioksidan dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) tidak memiliki aktivitas antioksidan. Ada perbedaan aktivitas antioksidan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle), dimana aktivitas antioksidan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) lebih tinggi dengan nilai IC₅₀ 228,695 µg/mL dibandingkan daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (christm) Swingle) yang tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 335,064 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chew KK, Khoo MZ, Ng SY, Thoo YY, Wan Aida WM and Ho CW. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Int. Food Res Journal.* 2011;18(4):1235-1427.
2. Ching LS and Mohamed S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. *Journal of Agricultural and food Chemistry.* 2001;49(6):3101-3105.
3. Dalimartha S. *Atlas tumbuhan obat Indonesia*, vol. 2. Jakarta : Niaga Swadaya, 2008.
4. Fidrianny I, Amaliah A and Sukrasno. Antioxidant Activities Evaluation of Citrus Leaves Extracts from West Java-Indonesia Using DPPH and Frap Assays. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.* 2016;8(4):611-618.
5. Handayani V, Ahmad AR and Sudir M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) RM Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci and Res.* 2016;1(2):86-93.
6. Inggrid M and Santoso H. Aktivitas Antioksidan Dan Senyawa Bioaktif Dalam Buah Stroberi, Research Report-Engineering Science. 2015;2.
7. Khaira K. Menangkal Radikal Bebas Dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek.* 2010;2(2):183-187.
8. Latief A. *Obat Tradisional*. Jakarta : EGC, 2012.
9. Nweke FU. Effect of *Citrus aurantifolia* Leaf Extract on Mycelial Growth and Spore Germination of Different Plant Pathogenic Fungi. *Advances in Life Science and Technology Journal.* 2015;31:4-9.
10. Redha A. *Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis* (Skripsi). Pontianak : Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak, 2013.
11. Runtuwene MRJ dan Paendong J. Kajian Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Pinang Yaki Areca *Vestiaria Giseke*. *Chem. Prog.* 2011;4(2):80-84.
12. Salamah N, dan Widyasari E. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaçiana.* 2015;5(1):25-34.

13. Sembiring E, Sangi MS, dan Suryanto E. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari biji jagung (*Zea mays L.*). *Chem. Prog.* 2016;9(1):14-20.
14. Suradji SI, Najib A, dan Ahmad AR. Studi Komparasi kadar flavonoid total pada bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*) asal Kabupaten Luwu Utara Provinsi Sulawesi Selatan dan Kabupaten Kediri Provinsi Jawa Timur. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016;3(2):175-181.
15. Syarif RA, Muhajir, Ahmad AR, dan Malik A. Identifikasi golongan senyawa antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH ekstrak etanol daun *Cordia myxa L.* *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2015;2(1):83-89.
16. Tetti M. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014; 7(2):361-367.