UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Rezky Yanuarty¹⁾

¹Prodi DIII Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

¹Jl. Wolter Monginsidi No. 106A, Palu Selatan, Sulawesi Tengah

Email: rezkyyanuarty@gmail.com

Abstrak

Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat adalah tanaman daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Biasanya tanaman jeruk nipis digunakan sebagai penambah nafsu makan, penurun panas (antipireutik), diare, menguruskan badan, antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri (Revilla dkk, 2013) . kandungan zat aktif yang dimilikinya. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diketahui mengandung flavonoid seperti Quersetin serta fenolik yang bersifat sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan menentukan total fenolik dari ekstrak daun jeruk nipis. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh ditentukan total fenolik dan uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki kandungan total fenolik sebesar 0,687% dan ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 98,58 µg/mL.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, daun jeruk nipis, total fenol

PENDAHULUAN

Proses penuaan merupakan proses fisiologis yang akan terjadi pada semua makhluk hidup, termasuk semua organ dan kulit (Afifah et al, 2020) proses penuaan memang normal terjadi dan tidak dapat dihindari. Proses penuaan dianggap sebagai siklus yang normal bila datangnya tepat waktu (Cut Fatimah et al, 2008).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah oksidasi lipid. Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid (Lung et al, 2017). Antioksidan dapat diperoleh dari makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senawa fenolik. Antioksidan dari tumbuhan bekerja menghalangi kerusakan oksidatif dengan membentuk kelat dengan senyawa logam katalik dan menangkap oksigen (Lakoro et al, 2020).

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dapat dilakukan dengan cara menyerang dan

mengikat elektron yang berada disekitarnya sehingga dapat memicu terjadinya suatu penyakit (Sunarni et al, 2007).

Secara turun temurun tumbuhan memiliki sifat kandungan yang berbeda tergantung kepada masa tanam, waktu panen, sehingga memiliki aktivitas terapi yang bervariasi sesuai dengan spesies, lokasi geografis dan proses panen (Fahrurroji dan Riza, 2020). Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat adalah tanaman daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Biasanya tanaman jeruk nipis digunakan sebagai penambah nafsu makan, penurun panas (antipireutik), diare, menguruskan badan, antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri (Revilla et al, 2013). Kandungan zat aktif yang dimilikinya daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diketahui mengandung flavonoid seperti Quersetin serta fenolik yang bersifat sebagai antioksidan.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antioksidan dan penentuan total kandungan fenolik dari ekstrak tanaman daun jeruk nipis yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol.

METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 sampai bulan Januari 2021 di laboratorium kimia farmasi dilanjutkan analisis instrument STIFA Pelita Mas Palu.

2. Bentuk penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium.

3. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrofotometri UV-Vis, rak tabung, gelas kimia, cawan porselin, ayakan 40 mesh, pipet tetes, blender, batang pengaduk blender, corong kaca, tabung reaksi, timbangan analitik, wadah maserasi, *waterbath*, *stopwatch*, inkubator, *rotary vaccum* evaporator, gelas ukur, dan labu ukur.

4. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jeruk nipis, aqua destillata, DPPH (2,2-difenil-1-pkrilhidrazin), etanol 96%, kertas label, kertas saring, serbuk magnesium P, asam klorida, kuersetin, natrium nitrat, NaOH, kuersetin dan NaCl

5. Pengambilan Sampel

Sampel daun jeruk nipis diambil di kota palu kecamatan kalukubula. Bagian yang digunakan adalah daun. diidentifikasi di UPT Sumber Daya Hayati Sulawesi Tengah Universitas Tadulako, dengan tujuan untuk mencocokkan ciri morfologis pada tanaman yang diteliti dan mengetahui kebenaran tanaman yang diambil. Sampel yang diambil dibawa ke UPTD untuk mengecek kebenaran dari spesies sampel. Kemudian dibersihkan dari kotoran dan serangga dengan air mengalir.

6. Preparasi Sampel

Sampel daun jeruk nipis dikering anginkan selama $\pm$ 3 hari. Setelah kering sampel diblender, kemudian diayak menggunakan ayakan nomor 40 mesh.

7. Ekstraksi Sampel

Sebanyak 600 gram lalu diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml selama 3 hari. Setelah 3 hari ekstrak kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga diperoleh

filtrat. Selanjutnya dilakukan remaserasi kembali dengan pelarut yang sama, sampai pelarut kelihatan agak jernih. Kemudian dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary Vaccum Evaporator* pada suhu 60°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbatch* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental daun jeruk nipis.

8. Penentuan Total Kandungan Fenolik

Ekstrak etanol daun jeruk nipis diambil sebanyak 0,10 gram lalu ditambahkan 2 ml HCl 4 N. Autoclave selama 2 jam dengan suhu 110°C. Kemudian dinginkan lalu ekstraksi dengan eter dan dimasukkan dalam tabung reaksi 10 ml. Uapkan eter, keringkan dengan gas N₂. Tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%, setelah 5 menit lalu ditambahkan 0,6 ml aluminium klorida 10%, tunggu selama 5 menit. Tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M, kemudian ditambahkan dengan aquades hingga 10 ml menggunakan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, hitung serapan pada panjang gelombang 510 nm

9. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode radikal bebas DPPH 0,004% dibuat dengan cara melarutkan Kristal DPPH 0,004 gram dalam 100 mL etanol p.a. Larutan sampel yang telah dibuat, diencerkan dengan berbagai konsentrasi yaitu 50, 100, 150 dan 200 µg/mL. Selanjutnya, ke dalam tabung reaksi larutan uji ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah 30 menit, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 200 µL etanol p.a dipipet ke dalam kuvet kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3 mL homogenkan dan dibaca pada panjang gelombang 400-600 nm.

c. Pembuatan Larutan Kuersetin Sebagai Pembanding

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku

standar dengan konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm. Sebanyak 1 mL larutan standar 0,4 mM ditambahkan larutan standar kuersetin sampai tanda batas pada labu tentukur 5 mL. kemudian didiamkan ditempat gelap selama 26 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 516 nm (Nihlati et al, 2008).

Nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung % scaveingnya dan nilai IC₅₀. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan % inhibisi dinyatakan dengan persamaan berikut:

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode maserasi. Digunakan metode ini karena cara pengerjaan yang cepat, peralatan yang digunakan sederhana, relative murah dan mudah. Selain itu pemilihan metode ini dengan melihat dari sifat zat aktif flavonoid yang akan ditarik yang tidak tahan akan panas.

Pada saat maserasi serbuk simplisia sebanyak 600 gram diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml. Maserasi dilakukan 3 kali 24 jam kemudian disaring, didapat filtrate pertama, selanjutnya dilakukan remaserasi sampai pelarut kelihatan agak jernih. Kemudian dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary Vaccum Evaporator* pada suhu 60°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbatch* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental daun jeruk nipis. Nilai rendemen ekstrak yang diperoleh yaitu 3%.

2. Penentuan Total Kandungan Fenolik

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 10 ml aquadest dan dipanaskan di atas penangas air kemudian disaring, selanjutnya dilarutkan dalam 1 ml etanol (96%) dengan penambahan serbuk magnesium P lalu dilarutkan ke dalam 19 ml asam klorida pekat. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuknya larutan berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa didalam ekstrak jeruk

nipis mengandung senyawa flavonoid. Penambahan Magnesium P dan HCl bertujuan agar mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna kuning.

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun jeruk nipis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Diperoleh panjang gelombang maksimum kuersetin yaitu 510 nm. Kurva baku kuersetin dengan konsentrasi 1,563; 3,125; 6,25; 12,5 dan 25 ppm. Diperoleh persamaan regresi $y = 0,0113x + 0,0029$ dengan nilai korelasi (r) = 0,9976. Hasil kadar flavonoid total ekstrak daun jeruk sebesar 0,687% b/b.

Tabel 1. Total Kandungan Fenolik

Absorbansi	Fenolik (%)	Rata-rata
0,021	0,81	
0,040	0,70	0,687
0,066	0,55	

Kadar total flavonoid yang diperoleh pada ekstrak daun jeruk nipis lebih rendah dari.

3. Aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jeruk nipis menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen. Untuk uji aktivitas antioksidan DPPH+sampel diperoleh persamaan regresi $y = 0,2787x + 22,525$ dengan nilai korelasi (r) = 0,9951 dan untuk DPPH+kuersetin diperoleh persamaan regresi $y = -2,9066x + 0,35$ dengan nilai korelasi (r) = 0,9978. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan (DPPH + sampel)

Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀
50	0,738	37,45	
100	0,737	48,57	98,58
150	0,737	64,99	
200	0,738	78,42	

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan (DPPH + kuersetin)

Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀
5	0,738	14,78	
10	0,737	28,35	50,12
15	0,737	42,19	
20	0,738	58,61	

Berdasarkan hasil pada tabel diatas, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis terhadap DPPH dan kuersetin memiliki nilai IC_{50} adalah 98,58 $\mu\text{g/mL}$. Diketahui bahwa ekstrak etanol mengandung empat senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut Molyneux (2004) aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, jika nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, jika nilai IC_{50} berada diantara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang dan jika nilai IC_{50} berada diantara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah. Sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki antioksidan dengan aktivitas kuat.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki kandungan total fenolik sebesar 0,687% dan ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 98,58 $\mu\text{g/mL}$.

2. Saran

Dengan hasil penelitian yang sudah diperoleh, sebaiknya dilakukan pengujian seperti uji antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, B.S., Novi. E., Tri Endang. M., Faizal. H & M. Fahrauk. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan dan Anti Penuaan *Ageratum conyzoides* (L) Ekstrak Etanolik. *Pharm Sci Res*. Vol. 7 (3)
- Cut Fatimah. Z., Juliati. Br. T & Herlince. S. (2008). Aktivitas Antioksidan Dan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. ISSN 1907-5537. 3(1)
- Fahrurroji, A dan Riza, H. 2020. Karakterisasi Ekstrak Etanol Buah *Citrus amblycarpa* (L), *Citrus aurantifolia* (S.), dan *Citrus sinensis* (O.). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol.7 No. 2
- Lakoro, J. E., Runtuwene, M. R., & Yamlean, P. V. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penentuan Total Kandungan Fenolik Ekstrak Etanol Daun Nanamuha (*Bridelia monoica* Merr). *PHARMACON*, 9(2), 178-183.
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62.
- Molyneux. P. (2004). The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science*. 26 : 211-219
- Nihlatil. A.P., Rohman. A & T. Hertiani. (2008). Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecth) Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *J. Nat. Med*. 62:207-210.
- Razak, A., Djamal, A., & Revilla, G. (2013). Uji daya hambat air perasan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* s.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), 05-08.
- Sunarni. T., Pramono. S., Asmah. R. (2007). Flavonoid antioksidan penangkap radikal bebas dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. F & Th). *M.F.I*. 18 (3).