



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) Di Daerah Labuhanbatu, Sumatera Utara Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

Meliana¹, Ridwanto²

^{1,2}Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan

Corresponding Author : ✉ melianawijayanti15@gmail.com

ABSTRACT

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk kasturi dan untuk mengetahui golongan senyawa dalam daun jeruk kasturi dan juga nilai IC₅₀. Ekstrak didapat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol daun Jeruk kasturi diuji menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil), dan menggunakan spektrofotometri UV - Visible untuk menentukan panjang gelombangnya. Hasil skrining fitokimia bahwa serbuk simplisia daun jeruk kasturi mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tannin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Jeruk kasturi memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang dimana ekstrak etanol daun jeruk kasturi memiliki nilai IC₅₀ sebesar 131,29 ppm. Hasil pengujian aktivasi antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk kasturi memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang. Kasturi Orange Leaves (*Citrus microcarpa Bunge*) including Family Rutaceae, Orang kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) are commonly called squeezed oranges with their small fruit shape. Some research results show in oranges kasturi have substances that can function for the field of health and food, can also provide useful benefits for the pharmaceutical drug industry, and cosmetics. The purpose of this study was to find out the antioxidant activity of kasturi orange leaf ethanol extract and to find out the group of compounds in kasturi orange leaves and also the value of IC₅₀. The extract is obtained by maceration using a 96% ethanol solvent. Kasturi orange leaf ethanol extract is tested using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil) method, and uses UV-Visible spectrophotometry to determine its wavelength. Phytochemical screening results that powder simplisia kasturi orange leaves contain a group of alkaloid compounds, flavonoids, saponins, triterpenoids, and tannins. The results of antioxidant asset testing in dampening DPPH free radicals showed that orange casstury leaf ethanol extract has moderate category antioxidant activity where ethanol extract of kasturi orange leaves has an IC₅₀ value of 131.29 ppm. The results of antioxidant activation testing in dampening DPPH free radicals showed that the ethanol extract of kasturi orange leaves had moderate category antioxidant activity.

Kata Kunci

Ekstrak Daun Jeruk Kasturi (*Citrus Microcarpa Bunge*), Antioksidan, DPPH, Spektrofotometri UV Visible

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Winarsi, 2007).

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya hayati dan keunggulan komperatif untuk menghasilkan berbagai produk pertanian tropis yang tidak dapat dihasilkan negara non-tropis. Diantara berbagai komoditas pertanian khas tropis yang potensial dikembangkan adalah komoditas hortikultura terutama sayuran dan buah-buahan. Kedua komoditas tersebut tergolong komoditas bernilai ekonomi tinggi (high value commodity), sehingga harus diproduksi secara efisien untuk dapat bersaing dipasaran (Budiastuti, 2010).

Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) umumnya disebut jeruk peras dengan bentuk buah nya yang kecil, namun memberikan manfaat yang berguna untuk industri obat-obatan farmasi, dan kosmetik. Selain itu jenis jeruk kasturi juga banyak dipakai sebagai pembersih bau amis pada ikan, sehingga banyak digunakan dalam urusan dapur atau untuk masakan. Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa bunge*) mudah ditanam di segala tempat, baik di dataran rendah maupun di daerah pegunungan. Umumnya diperbanyak dengan biji, walau dengan cangkakan maupun okulasi juga bisa. Tanaman jeruk kasturi sangat menarik, sebab kalau berbuah bisa lebat dan banyak. Beberapa hasil penelitian menunjukkan pada jeruk kasturi memiliki zat yang dapat berfungsi untuk bidang kesehatan dan makanan (Devy et al. 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daunjeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*).
2. Untuk mengetahui ekstrak etanol daunjeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) mempunyai aktivitas sebagai Antioksidandengan menggunakan metode DPPH.
3. Untuk mengetahui nilai IC_{50} Ekstrak etanol daun jeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan. Dilakukan pada bulan Februari 2021 – Juni 2021.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, Antara lain: Seperangkat alat Rotary Evaporator, Corong, Batang Pengaduk, Kertas saring, Pipet Tetes, Spatel, Aluminium foil, Timbangan Analitik, Tabung Reaksi, Tabung Erlenmeyer, Cawan, Gelas Ukur, Gelas Beaker, Tabung Tentukur, mikropipet 10, 100, 1000 μ L.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Daun Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*), Etanol 96%, pereaksi 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH), aquadest. Bahan kimia berkualitas teknis: aquadest, Etanol, Asam sulfat pekat, Asam klorida, klorofom.

Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) yang masih segar. Metode pengambilan sampel dilakukan secara purposif, yaitu mengambil tanaman dengan sengaja dari suatu tempat tanpa membandingkan dengan hasil dari daerah lain.

Skrining Fitokimia

Tujuan skrining fitokimia adalah untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak simplisia daun jeruk kasturi yang meliputi pemeriksaan senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid / triterpenoid (Ditjen POM, 1978).

Alkaloid

2 ml ekstrak etanol daun jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi metanol. Kemudian dipanaskan hingga $\frac{1}{4}$ volume awal dan disaring. Hasil penyaringan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi. Kemudian pada tabung reaksi 1 ditetesi Mayer, tabung reaksi 2 ditetesi Bouchardat, pada tabung reaksi 3 ditetesi Dragendorf. Diamati perubahan warna yang terjadi pada masing-masing tabung dan dicatat hasilnya, pada tabung pada 1 menghasilkan endapan berwarna putih, pada tabung 2 menghasilkan endapan berwarna coklat tua, pada tabung 3 menghasilkan endapan berwarna coklat muda dan pada tabung 4 menghasilkan endapan berwarna merah bata (Depkes RI, 1995).

Flavonoid

1 gram ekstrak etanol daun jeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 ml metanol panas 50%. Setelah itu ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk maka adanya flavonoid (Depkes RI, 1995).

Tanin

Sebanyak 0,5 g sampel ditimbang, disari dengan 10 ml aquades selama 15 menit lalu disaring. Filtratnya diencerkan dengan aquades sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida 10% apabila terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin (Farnsworth, 1966).

Saponin

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Dirjen POM, 1995).

Steroid/terpenoid

Sebanyak 1 gram daun jeruk kasturi, serbuk simplisia dan ekstrak etanol dimaserasi dalam 20 ml n-heksan selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchardat). Terbentuknya warna ungu atau menunjukkan sampel positif terpenoid dan terbentuknya warna hijau menunjukkan sampel positif steroid (Depkes RI, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Aktivitas antioksidan Larutan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi dengan menggunakan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil*) diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel. Berdasarkan hasil pengukuran larutan DPPH dalam methanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 515 nm. Hal ini sesuai dengan ketentuan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi IV (1995), yaitu batas pergeseran yang diperkenankan adalah maksimum sebesar 515,28 nm.

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak simplisia dan ekstrak etanol daun Jeruk kasturi menunjukkan golongan senyawa kimia seperti yang terlihat pada Tabel 3.1 berikut ini.

Tabel 1.

Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk kasturi

No	Pemeriksaan	Ekstrak etanol daun jeruk kasturi
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	+
3.	Saponin	+
5.	Tanin	+
6.	Steroid/Triterpenoid	+

Keterangan :

(-) Negatif : Tidak mengandung senyawa

(+) Positif : Mengandung Senyawa

Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk kasturi menunjukkan bahwa keduanya mengandung senyawa yang sama, yaitu senyawa golongan alkaloid, flavonoid saponin, tanin dan Steroid/Triterpenoid yang menyatakan bahwa daun jeruk kasturi memiliki aktivitas antioksidan.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Panjang gelombang serapan maksimum ditentukan menggunakan larutan kontrol yaitu larutan DPPH yang dilarutkan dalam metanol dengan tujuan untuk mendapatkan serapan DPPH tanpa gangguan serapan dari senyawa - senyawa lain dalam sampel. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH dilakukan pada panjang gelombang visible, yaitu rentang Antara 400 - 800 nm.

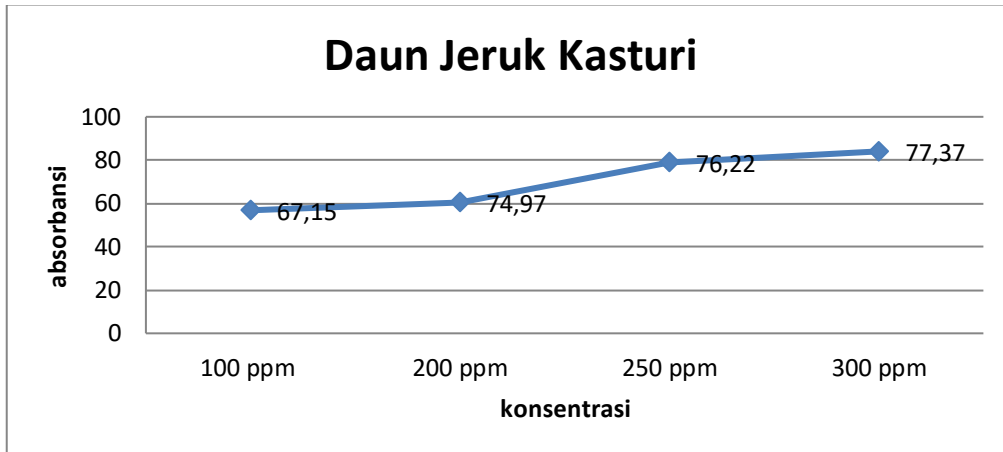
Hasil Penentuan *Operating Time*

Operating time adalah waktu yang tepat untuk mengetahui serapan larutan yang diperiksa pada saat serapan stabil pada kurva *operating time*. Diketahui pada menit beberapa sampel stabil, dari hasil percobaan penentuan *Operating time* menunjukkan pada ekstrak etanol daun jeruk kasturi serapan stabil pada menit ke - 2 dan ke - 4.

Hasil Analisis antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Jeruk Kasturi diperoleh hasil pengukuran absorbansi DPPH pada menit ke -3 dengan penambahan larutan uji dengan konsentrasi 120 ppm, 130 ppm, 140 ppm, dan 150 ppm. Untuk ekstrak etanol daun Jeruk Kasturi yang di bandingkan dengan control DPPH (tanpa penambahan larutan uji), Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara

transfer electron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan akan di tandai warna larutan yang berubah dari ungu tua menjadi kuning terang seiring dengan jumlah konsentrasi larutan uji yang ditambahkan dan absorbansi panjang gelombang maksimumnya akan hilang (molynex,2004).



Persamaan garis regresi konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi (sumbu X) dengan nilai % peredaman (sumbu Y)

Tabel 2.
Hasil analisis peredaman radikal bebas oleh
Ekstrak Etanol daun jeruk kasturi

Jenis Ekstrak	Konsentrasi Larutan uji (ppm)	% Peredaman
	0 (Blanko)	-
Ekstrak Etanol Daun jeruk Kasturi	100	67,15
	200	74,97
	250	76,22
	300	77,37

Dari table diatas disimpulkan bahwa semakin besar konsenterei larutan uji maka semakin meningkat aktivitas peredaman DPPH karena semakin banyak DPPHyang berpasangan dengan atom hydrogen dari ekstrak etanol Daun Jeruk Kasturi sehingga serapan DPPH menurun.

Tabel 3.
Hasil persamaan regrensi linear yang diperoleh dari ekstrak etanol daun daun jeruk kasturi.

Larutan uji	Persamaan regresi
Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi	$Y = 0,2362X + 18,988$

Hasil analisis IC50 yang diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi dapat dilihat pada Tabel 3.4 berikut ini:

Tabel 4.
Nilai IC50 ekstrak etanol daun jeruk kasturi.

Sampel	IC50
Ekstrak Etanol Daun Jeruk Kasturi	131,29

Hasil Karakterisasi Simplisia

Hasil karakterisasi dari serbuk simplisia daun Jeru kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*) dapat dilihat pada Tabel 3.5 dibawah ini :

Tabel 5.
Hasil Karakterisasi serbuk simplisia daun jeruk kasturi (*Citrus microcarpa Bunge*)

No	Parameter	Perolehan Kadar (%)	Persyaratan MMI (%)
1.	Kadar Air	8%	< 10 %
2.	Kadar Abu	3,83%	> 5 %
3.	Kadar Abu tidak larutan Asam	0,08%	>1 %
4.	Kadar Sari larut dalam Air	3,93%	< 5 %
5.	Kadar Sari larut dalam Etanol	4,07%	< 5 %

Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal rentang besarnya kandungan air. Hasil dari penetapan kadar air simplisia ini diperoleh 8% sehingga hal ini sesuai dengan persyaratan pada MMI yaitu < 10% yang merupakan nilai maksimal yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Emilan *et al.*, 2011).

Pemeriksaan kadar sari larut dalam air dan etanol pada serbuk simplisia dilakukan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa yang dapat tersari. Hasil pemeriksaan kadar sari yang larut dalam air 3,93% dan kadar sari larut dalam etanol 4,07%

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Daun jeruk kasturi memiliki aktivitas antioksidan dibuktikan dengan nilai IC50 kedua ekstrak dibawah 50 µg/ml.
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun jeruk kasturi didapat senyawa - senyawa pada daun jeruk kasturi yaitu: Flavanoid, steroid/triterpenoid, saponin dan tanin
3. Hasil penentuan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH secara spektrofotometer visible diperoleh IC50 pada ekstrak simplisia daun jeruk kasturi 131,29 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, Hebert dkk.2014.Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*), Jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), Dan Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. Jurnal Aspirator.Vol 6(1):1-6.
- Amalia 2013.*Uji Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan Dikotil*.Jakarta : jurnal psikologi. Vol 18 No 2.
- Anonim.2012. *Mengetahui Radikal Bebas dan Tipsnya*, <http://mrsupel.blogspot.com/2012/06mengetahui-radikalbebas-dantipsnya.html> diakses tanggal 2 Januari 2012.
- Depkes RI. (1995) *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Cetakan Keenam, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia.Edisi keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 7, 1036, 1061.
- Ditjen POM. (1979). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 516.
- Ditjen POM. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 536, 539 - 540.
- Ditjen POM. (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 970, 1135, 1139, 1192.
- Ditjen POM. (2000). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 1, 10 - 11.
- Fajarwati, Nilam. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Skripsi, Program Study Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Fessenden, R., F. J.1986.Kimia Organik. Jakarta:Erlangga. Edisi Ketiga, Jilid 2.
- Ganjar, LG. dan Rohman, A. (2007).*Kimia Farmasi Analisis* Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Halaman 229 - 234.

- Ginting, D.C.B., (2012). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Beberapa Jenis Kulit Jeruk. Skripsi, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C, (2000). *Free Radical in Biology and Medicine* Oxford University Press. New York. Halaman 34.
- Harbone, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, penentuan Cara modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi II. Bandung: ITB. Halaman 6-7, 102, 147-151, 234-135.
- Hariana, Arief. 2013. 262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Jakarta :Penebar Swadaya
- Ikan, R. (1969). *Nature Product A Laboratory Guide*. Jerussalem: Israel Universities Press
- Imra, Kustiariyah Tarman, Desniar. (2016). *Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Nipah (Nypa fructicans) Terhadap Vibrio.sp. Isolat Kepiting Bakau (Scylla.sp)*. Bogor: IPB.
- Junaidi, L., 2007. *Antioksidan Alami Sumber Kimia dan Teknologi Ekstraksi*. Balai Besar Industri Agro Warta IHP VOL.24 (2).
- Johanes JS, Haris A,K, Rychly D,J, Ergul A. (2005). *Oxidative Stress anf The Use of Antioxidants in Diabetes:Linking Basic Science to Clinical practice*. Cardiovascular Diabetology. Vol 4 (5) : 1-11
- Kumalaningsih, S. (2006).*Antioksidan Alami*. Cetakan I. Surabaya: Trubus Agrisarana. Halaman 4,16 - 25, 53 - 54.
- Kusumawati, P. (2007). *Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan Dari Makroalga dan mikroalga*.Oseana.
- Kurniawati, N. 2010.*Sehat dan Cantik Alami Berkat: Khasiat Bumbu Dapur*. Jakarta: Penerbit Qanita.
- Lenny, S. (2007). *Senyawa Flavonoida, fenil propanoida dan Alkaloida*. Karya ilmiah tidak diterbitkan. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara.
- MEDA. (2018) *Hasil Identifikasi* Medan: Herbarium Medanense, Usu
- Molyneux, P. (2004). *the Used of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarion J. Sei technol.26 (2): 211 - 219.
- Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta
- Najib, Ahnad.(2006). *Ringkasan Materi Kuliah Fitokimia* .Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.
- Ou , B., Huang, D.J., woodill, M.H., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K. (2002). *Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetable Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) And Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study*, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3122-3128.
- Ovani, I. (2013). *Pengembangan Minuman Emulsi Minyak Bekatul Berflavor Kaya Antioksidan Untuk Pencegahan Penyakit Tidak Menular*. Skripsi tidak di terbitkan, Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Phaniendra A, jestadi DB.(2015). *Free Radical : properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases*. Indian Journal of Clinical Biochemistry Vol.30 (1) : 11-26.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. (2001). *Antioxidant activity: Medallion Laboratories analithycal Progress* .Vol. 10 No.2.
- Saleh, Mahmoud A., Shavon Clark., Brooke Woodard., and Suziat Ayomied Deolu-sobogun.(2010). *Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils*. Ethnicity and Disease, Volume 20, Spring 2010
- Steenis, C.G.G.J. Van. (1978). *Flora untuk sekolah di Indonesia* . Cetakan 22, Pradya Praramita, Jakarta, Halaman 495
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet, Kaur Harleem. (2011). *Phytochemical Screening and Extraction: A review*. Internationale Pharmaceutical Scientia vol. 1: issue 1.
- Werdhasari, A., 2014, *Peran Antioksidan bagi kesehatan*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes, Kemenkes RI : Jurnal Biotek Medisiana Indonesia . Vol.3.2.2014: 59-68.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Petensi dan Aplikasi dalam Kesehatan* . Kanisius, Yogyakarta.