

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN METANOL KULIT BUAH JERUK SAMBAL (*Citrus microcarpa* Bunge)

Mulyani Wulandari<sup>1\*</sup>, Nora Idiawati<sup>1</sup>, Gusrizal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H.Hadari Nawawi  
Email: mulyani.wulandari@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) dikenal secara luas di Kalimantan Barat. Buah jeruk ini biasa dikonsumsi dalam bentuk jus dan digunakan sebagai bumbu masak, sedangkan kulitnya digunakan sebagai pelengkap masakan tertentu. Penelitian tentang uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui potensi kulit buah jeruk sambal sebagai sumber senyawa antioksidan telah dilakukan. Kulit buah jeruk sambal dimaserasi dengan pelarut metanol dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar kemudian dipartisi secara berturut-turut dalam *n*-heksana dan etil asetat sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana kulit buah jeruk sambal mengandung senyawa steroid, sedangkan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol mengandung flavonoid, polifenol dan alkaloid. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol menunjukkan bahwa nilai  $EC_{50}$  berturut-turut untuk ketiga ekstrak adalah 162,16  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori lemah); 134,02  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori sedang) dan 94,01  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori kuat). Dibandingkan dengan asam askorbat ( $EC_{50}=18,74 \mu\text{g/mL}$ ), ketiga ekstrak tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Aktivitas antioksidan kuat ekstrak metanol diduga karena adanya senyawa flavonoid dan polifenol sesuai dengan hasil pengujian fitokimia.

Kata kunci : *Citrus microcarpa* Bunge, Uji aktivitas antioksidan, DPPH

### PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron pada senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (radikal bebas). Antioksidan dapat meredam atau mengurangi dampak negatif radikal bebas dengan cara mengikatnya lalu mengubahnya menjadi tidak berbahaya bagi tubuh (Iskandar, 2004).

Penggunaan antioksidan sintetis pada saat ini mulai dibatasi karena diduga dapat menimbulkan penyakit kanker. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif lain yaitu antioksidan alami yang bersumber dari bahan alam. Antioksidan alami ini dapat diperoleh pada tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan, tak terkecuali tanaman buah jeruk.

Berdasarkan penelitian yang telah ada, ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa flavonoid hesperidin dan naringin yang diketahui bersifat antikarsinogenesis dan antitumorigenesis (Pratiwi, dkk., 2008). Ekstrak aseton dari kulit jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) mengandung flavonoid hesperidin dan narirutin (Tumbas, et al., 2010). Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Golongan

flavonoid yang bersifat antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, dan kalkon (Kumalaningsih, 2006).

Analisis fitokimia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dan lemon (*Citrus limon*) (Kumar, et al., 2011) dengan menggunakan beberapa pelarut yang berbeda kepolaran menunjukkan adanya senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, tanin dan saponin. Kulit jeruk manis aktif sebagai antibakteri dan antioksidan (Wijiastuti, 2011).



Gambar 1 Buah jeruk sambal

Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi, terdapat kemungkinan adanya senyawa yang sama pada kulit buah tanaman jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) yang berpotensi

sebagai antioksidan. Tanaman ini banyak terdapat di Kalimantan Barat. Buahnya biasa dikonsumsi dalam bentuk jus dan digunakan sebagai bumbu masak, sedangkan kulitnya jarang dikonsumsi namun dapat digunakan sebagai pelengkap masakan tertentu. Oleh karena itu, maka dilakukan pengujian skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan fitokimia ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah jeruk sambal yang berpotensi sebagai antioksidan dan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah jeruk sambal yang ditinjau dari nilai EC<sub>50</sub>.

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ayakan, blender, neraca analitik Ohaus PAJ1003, peralatan gelas, *rotary evaporator*, seperangkat alat destilasi dan spektrofotometer ultraungu-sinar tampak type Genesys 6.

Bahan-bahan yang digunakan adalah asam askorbat, asam sulfat, asam klorida, besi (III) klorida, DPPH, metanol, etil asetat, gelatin, *n*-heksana, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Lieberman-Buchard, pereaksi Wagner dan pita magnesium.

### Preparasi Sampel

Sampel buah jeruk sambal diperoleh dari salah satu pasar di Pontianak, Kalimantan Barat. Buah dibersihkan dan dipisahkan dari kulitnya menggunakan pisau. Kulit kemudian dipotong kecil-kecil, dikeringanginkan selama beberapa minggu dan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

### Maserasi dan Partisi

Serbuk kulit jeruk ditimbang sebanyak 1 kg, lalu dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring. Filtrat hasil maserasi hari pertama, kedua, dan ketiga digabung lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar pekat. Ekstrak kasar kemudian dipartisi secara berturut-turut dengan *n*-heksana dan etil asetat. Partisi dilakukan berulang sebanyak 4 kali. Hasil partisi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ketiga ekstrak tersebut.

## Pengujian Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kulit jeruk (*n*-heksana, etil asetat dan metanol) dan asam askorbat dibuat larutan hingga diperoleh masing-masing larutan sampel dan pembanding dengan berbagai konsentrasi yaitu 5, 10, 25, 50 dan 100 µg/mL. Peredaman radikal bebas dari DPPH diuji menurut metode yang digunakan oleh Parwata dkk (2010) dan Soeksmanto dkk (2007).

Larutan uji (larutan sampel dan larutan pembanding) masing-masing dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,004% yang baru dibuat, kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer ultraungu-tampak pada panjang gelombang 525 nm dengan blanko metanol. Pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak dua kali.

Persen peredaman radikal bebas dihitung menggunakan rumus:

$$(\%) \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{sampel+DPPH}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100\%$$

Keterangan: A<sub>DPPH</sub> adalah absorbansi DPPH

A<sub>sampel+DPPH</sub> adalah absorbansi sampel ditambah DPPH

Grafik hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman dibuat untuk selanjutnya dilakukan perhitungan nilai EC<sub>50</sub> berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh. EC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi ekstrak yang menyebabkan pengurangan aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai EC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Kandungan Fitokimia Kulit Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge)

Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid (Mg+HCl pekat), polifenol (FeCl<sub>3</sub>), alkaloid (pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf), tanin (gelatin), saponin (uji busa), steroid dan terpenoid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat+asetat anhidrat) pada ekstrak kulit buah jeruk sambal. Hasil pengujian fitokimia ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah jeruk sambal ditampilkan pada Tabel 1.

Uji flavonoid memberikan hasil yang positif terhadap ekstrak etil asetat yang ditandai dengan perubahan warna larutan yang semula hijau menjadi jingga yang menunjukkan adanya senyawa flavon. Ekstrak metanol juga

memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan perubahan warna larutan dari hijau menjadi merah yang menunjukkan adanya senyawa flavonol.

Uji fitokimia terhadap senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf menunjukkan hasil yang positif terhadap ekstrak etil asetat kulit jeruk sambal sedangkan untuk ekstrak metanol hanya positif terhadap pereaksi Dragendorf. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak etil asetat terdapat jenis alkaloid yang lebih banyak dibanding ekstrak metanol.

Tabel 1 Hasil pengujian fitokimia ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah jeruk sambal

Fitokimia	Ekstrak		
	<i>n</i> -Heksana	Etil asetat	Metanol
Flavonoid	-	+	+
Polifenol	-	+	+
Alkaloid			
(Mayer)	-	+	-
(Wagner)	-	+	-
(Dragendorf)	-	+	+
Steroid	+	-	-
Terpenoid	-	-	-
Tanin	-	-	-
Saponin	-	-	-

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa ekstrak metanol dan etil asetat kulit buah jeruk sambal mempunyai banyak senyawa fitokimia dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksana. Kandungan senyawa fitokimia yang berbeda pada masing-masing ekstrak menyebabkan nilai aktivitas antioksidan yang berbeda pula.

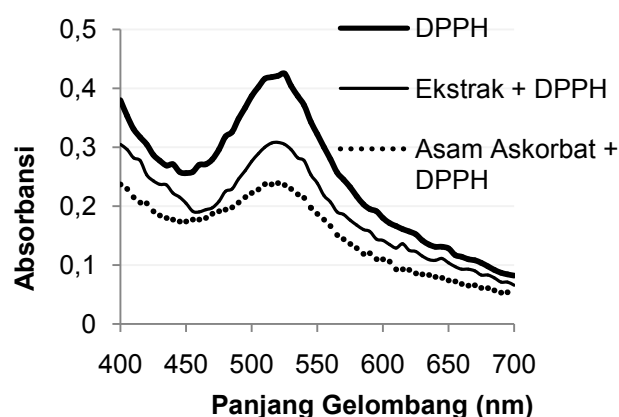
**Pengujian Aktivitas Antioksidan**

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak sampel kulit jeruk sambal didasarkan pada kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH dilakukan secara spektrofotometri ultraungu-tampak. Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan larutan perbandingan yaitu asam askorbat karena asam askorbat merupakan antioksidan yang sangat kuat dan sering digunakan sebagai larutan perbandingan dalam pengukuran aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pereaksi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang direaksikan dengan larutan uji (sampel dan

pembanding) dengan ditandai peluruhan warna ungu pada DPPH. Perubahan warna tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer yang dinyatakan dengan % peredaman lalu diplotkan terhadap konsentrasi. Kemudian nilai EC<sub>50</sub> dihitung dari regresi linear yang diperoleh.

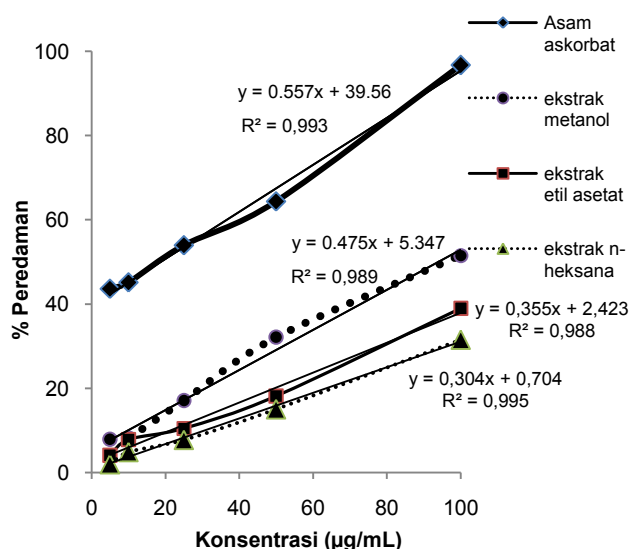
Pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel kulit jeruk sambal dan larutan perbandingan asam askorbat dengan konsentrasi 10 µg/mL untuk mengetahui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Ekstrak metanol yang dipilih karena mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding ekstrak lain. Kurva penurunan absorbansi larutan DPPH oleh ekstrak metanol dan asam askorbat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2 Kurva penurunan absorbansi larutan DPPH oleh ekstrak metanol kulit jeruk sambal dan asam askorbat pada konsentrasi 10 µg/mL

Gambar 2 menunjukkan perbedaan kemampuan antara ekstrak metanol kulit jeruk sambal dan asam askorbat dalam menangkap radikal bebas DPPH. Berdasarkan kurva tersebut dapat dilihat bahwa dengan adanya penambahan ekstrak metanol menyebabkan absorbansi DPPH menurun sebagai akibat dari reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan dari ekstrak metanol. Begitupun halnya dengan asam askorbat. Namun, asam askorbat memberikan penurunan absorbansi yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol.

Larutan uji yang telah diukur absorbansinya kemudian dihitung nilai persen peredamannya. Kurva hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3 Kurva hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman

Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa dari keempat larutan uji yaitu asam askorbat sebagai larutan perbandingan dan ketiga ekstrak, asam askorbat mempunyai persen peredaman yang paling besar yang diikuti secara berturut-turut dari yang besar hingga yang terkecil yaitu ekstrak metanol, etil asetat dan *n*-heksana. Besarnya persen peredaman pada asam askorbat menunjukkan bahwa asam askorbat mempunyai kemampuan peredaman radikal yang lebih besar dibanding ketiga ekstrak.

Kurva hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman dibuat untuk selanjutnya dilakukan perhitungan nilai  $EC_{50}$  berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh dengan memasukkan angka 50 pada persamaan garis ( $y=50$ ). Nilai  $EC_{50}$  untuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit jeruk sambal serta asam askorbat ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Nilai  $EC_{50}$  untuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit jeruk sambal dan asam askorbat

Bahan Uji	Nilai $EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Ekstrak <i>n</i> -heksana kulit jeruk	162,16
Ekstrak etil asetat kulit jeruk	134,02
Ekstrak metanol kulit jeruk	94,01
Asam askorbat	18,74

Nilai  $EC_{50}$  yang paling kecil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya paling besar karena semakin kecil nilai  $EC_{50}$  maka aktivitas antioksidannya semakin besar. Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa dibandingkan dengan asam askorbat, ketiga ekstrak mempunyai nilai  $EC_{50}$

yang lebih besar yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ketiga ekstrak lebih kecil dibanding asam askorbat.

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $EC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/mL}$ , kuat untuk  $EC_{50}$  bernilai 50-100  $\mu\text{g/mL}$ , sedang jika  $EC_{50}$  bernilai 100-150  $\mu\text{g/mL}$  dan lemah jika  $EC_{50}$  bernilai 151-200  $\mu\text{g/mL}$  (Supiyanti, dkk., 2010). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol tergolong sebagai senyawa antioksidan kategori kuat, ekstrak etil asetat tergolong sebagai senyawa antioksidan kategori sedang, sedangkan untuk ekstrak *n*-heksana tergolong antioksidan kategori lemah. Ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibanding ekstrak *n*-heksana diduga karena adanya senyawa flavonoid dan polifenol sesuai dengan hasil pengujian fitokimia.

Penelitian yang dilakukan oleh Tumbas, *et al* (2010) menunjukkan bahwa ekstrak aseton kulit buah jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) mempunyai nilai  $EC_{50}$  sebesar 179  $\mu\text{g/mL}$ . Apabila dibandingkan dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol, etil asetat dan *n*-heksana kulit buah jeruk sambal menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ketiga ekstrak kulit buah jeruk sambal lebih besar dibanding dengan ekstrak aseton kulit buah jeruk mandarin.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kulit buah jeruk sambal mengandung banyak senyawa fitokimia yaitu flavonoid, polifenol dan alkaloid (ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol) sedangkan ekstrak *n*-heksana kulit buah jeruk sambal hanya mengandung senyawa steroid. Kulit buah jeruk sambal memiliki aktivitas antioksidan yang baik ditunjukkan dari nilai  $EC_{50}$  untuk ekstrak metanol sebesar 94,01  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori kuat), ekstrak etil asetat sebesar 134,02  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori sedang) dan ekstrak *n*-heksana sebesar 162,16  $\mu\text{g/mL}$  (antioksidan kategori lemah). Namun jika dibandingkan dengan asam askorbat ( $EC_{50}=18,74$   $\mu\text{g/mL}$ ), aktivitas antioksidan ketiga ekstrak jauh lebih rendah. Adanya aktivitas antioksidan yang kuat terhadap ekstrak metanol dikarenakan adanya senyawa flavonoid dan polifenol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Iskandar, J., 2004, Menuju Hidup Sehat & Awet Muda, Bhuana Ilmu Populer, Jakarta.
- Kumalaningsih, S., 2006, Antioksidan Alami, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Kumar, A., Narayani, M., Subanthini, A dan Jayakumar, A., 2011, Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Citrus Fruit Peels-Utilization of Fruit Waste, *International Journal of Engineering Science and Technology*, 3(6): 5414-5421.
- Parwata, O. A., Ratnayani, K dan Listya, A., 2010, Aktivitas Antiradikal Bebas serta Kadar Beta Karoten pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata L.*), *Jurnal Kimia*, 4(1): 54-62.
- Pratiwi, D., Hastuti, N., Armandari, I., Nur, W.N., Ikawati, M., Riyanto, S dan Meiyanto, E., 2008, Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia* (Cristm.) Swingle) Meningkatkan Ekspresi P53 pada Sel Payudara Tikus Galur Spague Dawley Terinduksi 7,12-Dimetil benzene [A] Antrasena, Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI, Yogyakarta.
- Soeksmanto, A., Hapsari, Y dan Simanjuntak, P., 2007, Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae), *Biodiversitas*, 8(2), 92-95.
- Supiyanti, W., Wulansari, E.D dan Kusmita, L., 2010, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*), *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), 64-70.
- Tumbas, V.T., Cetkovic, G.S., Djilas, S.M., Brunet, J.M.C., Vulic, J.J., Knez, Z and Skerget, M., 2010, Antioxidant Activity of Mandarin (*Citrus reticulata*) Peel, *APTEFF*, 41, 195-203.
- Wijastuti, L., 2011, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Multiresisten serta *Brine Shrimp Lethality Test*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, (Skripsi).