

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Metode DPPH

Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Testing Ethanol Extract of Lime Skin (*Citrus aurantifolia*) Using DPPH Method

Ririn Novriyanti*, Novita Eka Kartab Putri, Laode Rijai

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: ririnnovriyanti16@gmail.com

Abstrak

Citrus aurantifolia adalah sejenis tanaman perdu yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Jeruk nipis juga merupakan salah satu tanaman toga yang di gunakan oleh masyarakat, baik untuk bumbu masakan, obat-obatan, dan minuman segar. Tujuan dari penelitian ini yaitu melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit jeruk nipis. Skrining Fitokimia untuk alkaloid ditentukan dengan menggunakan pereaksi Mayer, Dregendorff, Wagner. Terpenoid dan steroid ditentukan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Senyawa tannin ditentukan dengan larutan FeCl_3 1%. Senyawa saponin ditentukan menggunakan aquades dan HCl. Ekstrak kulit jeruk nipis diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 1-1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan kandungan senyawa kimia kulit jeruk nipis positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Sedangkan untuk senyawa saponin dan terpenoid memberikan hasil yang negatif. Aktivitas antioksidan dengan konsentrasi 60; 70; 80; 90; 100 ppm, memberikan hasil berturut-turut yaitu 54.88 %, 56.13 %, 57.58 %, 58.31 %, 59.35 % dengan nilai IC_{50} sebesar 5,81 $\mu\text{g/mL}$. Kulit jeruk nipis memiliki persen aktivitas antioksidan yang baik, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan alami.

Kata Kunci: Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*), Antioksidan

Abstract

Citrus aurantifolia is a type of herbaceous plant that is widely grown and developed in Indonesia. Lime is also one of the toga plants used by the community, both for cooking spices, medicines, and fresh

drinks. The purpose of this study was to carry out phytochemical screening to determine the content of secondary metabolites and to determine the antioxidant activity of lime peel extract. Phytochemical screening for alkaloids was determined using Mayer, Dregendorff, Wagner reagents. Terpenoids and steroids were determined using the Liebermann-Burchard reagent. Tannin compounds were determined with 1% FeCl₃ solution. Saponin compounds were determined using distilled water and HCl. Lime peel extract was obtained by maceration method using 96% ethanol solvent and antioxidant activity test using 1-1-diphenyl-2-picrihydrazil (DPPH) method. The results showed that the chemical compounds of lime peel positively contained flavonoid compounds, alkaloids, and tannins. Meanwhile, saponins and terpenoids gave negative results. Antioxidant activity with a concentration of 60; 70; 80; 90; 100 ppm, gave the results in a row, namely 54.88 %, 56.13%, 57.58%, 58.31 %, 59.35% with an IC₅₀ value of 5.81 g/mL. Lime peel has a good percentage of antioxidant activity, so it can be used as a source of natural antioxidants.

Keywords: Citrus Aurantifolia, Antioxidant

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.637>

1 Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang. Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat perwarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Ada 150.000 metabolit sekunder yang sudah diidentifikasi dan ada 4000 metabolit sekunder “baru” setiap tahun [1].

Tumbuhan merupakan sumber senyawa kimia baik senyawa kimia hasil metabolisme primer seperti karbohidrat, protein, lemak yang digunakan sendiri oleh tumbuhan tersebut untuk pertumbuhannya, maupun sebagai sumber senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan tanin. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, gangguan hama, penyakit tanaman, dan dapat juga digunakan untuk

mengobati berbagai jenis penyakit pada manusia.

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional [2].

Antioksidan berperan aktif dalam menanggulangi kelebihan radikal bebas yang pada umumnya bekerja sebagai penangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami yang berasal dari dalam tubuh seperti enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione dan katalase, sedangkan antioksidan alami yang berasal dari luar tubuh seperti vitamin C, vitamin E, β -karoten, xantofil dan flavonoid [3].

Jeruk nipis adalah sejenis tanaman perdu yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Selain daerah penyebarannya yang sangat luas, jeruk ini juga dapat berbuah terus-menerus sepanjang tahun. Jeruk nipis juga merupakan salah satu tanaman toga yang di gunakan oleh masyarakat, baik untuk bumbu masakan, obat-obatan, dan minuman segar. Pemanfaatan buah jeruk sebagai obat diantaranya sebagai penambah nafsu makan, penurun panas (antipireutik), diare, menguruskan badan, antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan[4].

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat kaca dan alat non kaca, timbangan analitik, oven, rotary evaporator, tabung reaksi, labu ukur, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk, spatel, kertas saring, cawan porselin, pipet ukur, mikropipet, stop watch, spektrofotometer UV-Vis, sonikator, rak tabung, vortex, corong, hotplate, blender, alumunium foil, pipet tetes, gunting dan tissue.

Bahan yang digunakan adalah Aquadest, etanol 96%, logam magnesium, padatan KI (Kalium Iodida), padatan FeCl_3 (Besi(III) Klorida), HCl pa (Asam Klorida), H_2SO_4 pa (Asam Sulfat), padatan $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ (Bismut(III) Nitrat), HNO_3 pa (Asam Nitrat), padatan HgCl_2 (Merkurri(II) Klorida), Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendrof, Pereaksi Wagner, etanol pa.96%, DPPH dan sampel ekstrak kulit jeruk nipis.

2.2 Pengumpulan Bahan dan Pembuatan Serbuk Simplisia

Pengumpulan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari Bayur, Dusun Pinang Seribu Kelurahan Sempaja, Kecamatan Samarinda Utara, Kalimantan Timur. Kulit diambil berwarna hijau tua, tidak rusak, sebanyak 10 kg. Bahan yang telah diperoleh dari pengumpulan, dikupas lalu dipotong berukuran 3x5 cm, dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, tiriskan, kemudian diangin-anginkan di tempat yang teduh atau tidak terkena sinar matahari

langsung dan ditutup dengan kain hitam sampai kering. Simplisia yang sudah kering diblender [5].

2.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Ekstraksi kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 537 gram serbuk kulit jeruk nipis direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter selama 4 x 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat. Maserat kemudian dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental [6].

2.4 Uji Senyawa Metabolit Sekunder

2.4.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mL ekstrak yang dilarutkan dalam etanol kemudian ditambahkan serbuk Mg dan ditetesi HCl pekat 5 tetes. Bila hasilnya berwarna merah atau kuning atau jingga berarti positif mengandung flavonoid.

2.4.2 Uji Alkaloid

Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian hasil yang diperoleh disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian masing-masing 5 ml lalu ditambahkan dengan 3 pereaksi(Mayer, Wagner, Dragendrof). Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi Dragendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga. Positif Alkaloid apabila dua atau tiga bagian terdapat endapan yang dimaksud.

2.4.3 Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 5 mL ekstrak yang dilarutkan dalam etanol ditambahkan dengan pereaksi Lieberman-Bouchard. Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid.

2.4.4 Uji Tanin

Sebanyak 5 mL ekstrak yang dilarutkan dalam etanol ditambahkan dengan pereaksi FeCl₃. Ekstrak yang mengandung Tannin akan berwarna biru atau hijau kehitaman.

2.4.5 Uji Saponin

Ekstrak etanol dari masing-masing sampel ditambahkan 10 ml air suling panas dan dilarutkan terlebih dahulu sambil dipanaskan dalam penangas air kemudian dikocok kuat-kuat. Bila tidak terbentuk buih berarti negatif, namun bila tetap berbuih setelah didiamkan selama 10 menit kemudian ditambahkan HCl 2 N diperoleh buih tersebut tidak hilang, maka positif mengandung saponin [7].

2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

2.5.1 Pembuatan blanko DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 2 mg dan dilarutkan dalam etanol p.a sampai tepat 50 mL.

2.5.2 Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH

Penentuan panjang gelombang (λ) dengan cara mengukur 4,0 mL larutan DPPH pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 515-520 nm untuk mendapatkan absorbansi $\pm$ 0,2-0,8.

2.5.3 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Sebanyak 4,0 mL DPPH dimasukkan tabung reaksi, tambahkan 4,0 mL ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi, kemudian di vortex 2 menit sampai homogen dan diamkan selama 30 menit ditempat gelap, baca absorbansinya pada λ maksimal (517 nm) [8].

Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

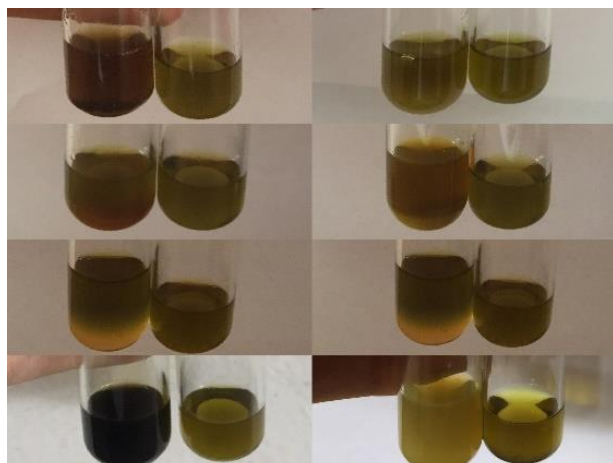
$$\% \text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Abs.Kontrol} - \text{Abs.Sampel})}{\text{Abs.Kontrol}} \times 100\%$$

Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoleh harga IC₅₀ yaitu konsentrasi bahan uji yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal DPPH selama 30 menit (operating time), atau jeda waktu yang dibutuhkan oleh bahan uji untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna [9].

3 Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi menggunakan metode maserasi yang merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut pada temperatur ruangan. Proses maserasi dilakukan dengan merendam potongan kulit jeruk nipis dalam pelarut etanol 96% sampai sampel terendam dan sampel tersebut direndam selama 4×24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan berwarna hijau pekat karena pelarut etanol yang dapat melarutkan pigmen berupa warna hijau dari kulit jeruk nipis. Filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 174 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 32,40% [10].

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{174 \text{ g}}{537 \text{ g}} = 32,40\% \end{aligned}$$

Gambar 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	Reaksi Positif
Flavonoid	Mg+ HCl Pekat	+	Terbentuk warna merah
Alkaloid	Mayer	+	Terbentuk endapan putih
	Wagner	+	Terbentuk endapan coklat
	Dragendrof	+	Terbentuk endapan jingga
Steroid	Liebermann-burchard	+	Terbentuk cincin biru kehijauan
Terpenoid		-	Terbentuk cincin kecoklatan/violet
Tanin	FeCl ₃	+	Terbentuk warna biru kehitaman
Saponin	Aquades+HCl	-	Terbentuk busa stabil

Keterangan: (+) positif, (-) negatif

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Sampel	Konsentrasi Sampel	Rata-Rata Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis	IC ₅₀	Ket.
Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis	60	0,434	54,88	y= bx+a y=0,1112x+48,3577 r =0,9939	5,81 ppm	Sangat Kuat
	70	0,422	56,13			
	80	0,408	57,58			
	90	0,401	58,31			
	100	0,391	59,35			

Absorbansi blanko DPPH = 0,962

4 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka, dapat disimpulkan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk nipis mengandung senyawa falonoid, alkaloid, steroid dan tanin. Ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis juga mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan nilai IC₅₀ sebesar 5,81 µg/ml yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

5 Kontribusi Penulis

Ririn Novriyanti : Melakukan penelitian, pengumpulan data pustaka serta menyiapkan draft manuskrip. Laode Rijai dan Novita Eka

Kartab Putri : Pengarah, pembimbing, serta penyelarasan akhir manuskrip

6 Konflik Kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dari penelitian, penyusunan, dan publikasi artikel ilmiah ini.

7 Daftar Pustaka

- [1] Yuhernita, Juniarti. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 2014, 15 (1) : 1
- [2] Agustina, S., dkk. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. Indonesia *E-Journal of Applied Chemistry*. Vol 4 No 1 Th 2016.2016

- [3] Nugraheni, 2007, *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sunchus arvensis L.) serta Penentuan EC50 dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*, Skripsi, 36-39, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang.
- [4] Haryanto, S. *Sehat dan Bugar Secara Alami*. 2006. Jakarta: Penebar Plus
- [5] Khasanah, Ismiyyatun dkk. 2014. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil)*. Semarang: Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- [6] Nurhaini, R., Arrosyid, M., & Susanti, T. (2021). Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 42-46.
- [7] Arifuddin, Muhammad dkk. 2020. Skrining Fitokimia dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Tumbuhan Antimalaria Asal Indonesia. *J. Sains Kes. Vol 2. No 3*
- [8] Sastrawan, Idza N. S. dkk. 2013. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum Vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains Vol. 13 No. 2*
- [9] Sugara, Barly dkk. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia Pandurata*) Dengan Metode 1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil (DPPH). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*
- [10] Magdalena, Putri N. dkk. 2021. Uji Antelmintik dari Ekstrak Etanol Daun Kadamba (*Mitragyna speciosa*). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*