

Combination of Kaffir Lime Leaves and Bastard Cedar Leaves Effect On Their Antioxidant Activity

Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* Dc.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidannya

Arina Nisyaa Nadhira^{1*}, Safira Maharani¹, Fransisda Aulia Zatsyia¹, dan Ika Trisharyanti Dian Kusumowati¹

¹ Universitas Muhammadiyah Surakarta

*email korespondensi : k100150149@student.ums.ac.id



Abstract: Antioxidants can inhibit the activity of free radicals, and its contained in a variety of plants which containing phenolic derivatives, hydroxyamic acid derivatives, and organic acids. *Guazuma ulmifolia* L. and *Citrus hystrix* Dc. have a high antioxidant activity. The combination of both extract is expected to result in higher antioxidant activity. To find out the antioxidant activity of the combination of *Guazuma ulmifolia* L. (Jati belanda leaf) and *Citrus hystrix* Dc (Jeruk purut leaf) ethanol extract, we held antioxidant activity assay. Determination of antioxidant activity used DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) method with UV-Vis spectrophotometer (max: 516,5 nm). From the test conducted, the antioxidant activity of jeruk purut leaf is smaller than the jati belanda leaf. This can be seen from IC₅₀ value of each extract respectively, 494.46 µg/mL and 359.24 µg/mL. The antioxidant activity of the combination of jeruk purut leaf and jati belanda leaf extract has lower antioxidant activity compared with its sole extract. In the anova analysis of each different ratios of the combination concentration, there was no such average difference known with P-value >0.05 (P-value: 0.99).

Keywords: Jeruk Purut Leaf, Jati Belanda Leaf, DPPH, Antioxidant, Ethanol Extract.

Abstrak: Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat radikal bebas, dan terdapat dalam berbagai macam tumbuhan yang mengandung senyawa turunan fenolik, turunan asam hidrosiamat, dan asam organik. *Guazuma ulmifolia* L. dan *Citrus hystrix* Dc. sama-sama memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Kombinasi kedua ekstrak tumbuhan tersebut diharapkan akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Guazuma ulmifolia* L. (daun jati belanda) dan *Citrus hystrix* Dc (daun jeruk purut), maka dilakukan uji antioksidan. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) dengan alat spektrofotometer UV-Vis (λ_{maks} : 516,5 nm). Dari uji yang dilakukan, diketahui aktivitas antioksidan daun jeruk purut lebih kecil dari daun jati belanda. Hal ini terlihat dari nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak secara berturut-turut, yaitu 494,46 µg/mL dan 359,24 µg/mL. Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun jati belanda memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Pada analisis anova dari masing-masing perbandingan konsentrasi kombinasi yang berbeda, tidak ada perbedaan rata-rata aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai P-value >0,05 (P-value: 0,99).

Kata Kunci : Daun Jeruk Purut, Daun Jati Belanda, DPPH, Antioksidan, Ekstrak Etanol.

1. Pendahuluan

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA di samping penyebab lain seperti virus. Bila sudah menyebabkan rantai DNA terputus di berbagai tempat, kerusakan tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu bahkan bisa menyebabkan kanker (Suryo, 2008). Secara kimiawi antioksidan alami yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan terutama berasal dari golongan senyawa turunan fenol seperti flavonoid, turunan senyawa asam hidroksiamat, kumarin, tokoferol dan asam organik (Khaira, 2010).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kusumowati *et al.* (2012), daun jati belanda memiliki efek antioksidan dan skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun jati belanda memiliki kandungan flavonoid. Tanaman lain yang sama mempunyai aktivitas antioksidannya yaitu jeruk purut. Daun jeruk purut memiliki efek antioksidan eksogen. Daun jeruk purut mengandung sitronelal yang merupakan antioksidan kuat, sehingga dapat dijadikan alternatif antioksidan eksogen untuk penghambat proses penuaan (*antiaging*). Skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun jeruk purut mengandung fenol, flavonoid, terpenoid (Zuhria *et al.*, 2017). Dengan aktivitas masing-masing tanaman tersebut, diharapkan menghasilkan aktivitas antioksidan kombinasi yang baik.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas (pyrex), corong buchner, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis (UV Mini SHIMADZU), waterbath, oven, mikropipet (Socorex), kuvet, *sonicator*. Bahan yang digunakan yaitu ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun jati belanda, etanol 96%, etanol p.a., DPPH, aqua bidestilata, dan alumunium foil.

2.2. Metode

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH. DPPH (1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) adalah radikal bebas yang stabil. Saat menerima hidrogen dari donor yang sesuai, larutan akan kehilangan warna ungu tuanya (λ_{max} 515-517 nm) (Villano *et al.*, 2007). DPPH stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Gurav *et al.*, 2007).

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun jati belanda dibuat dengan metode maserasi. Kedua ekstrak diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH, baik ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi. Ekstrak yang diperoleh dijabarkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun jati belanda

Ekstrak	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak kental (gram)	Randemen (%)
Daun Jeruk Purut	50,06	6,23	12,44
Daun Jati Belanda	200,70	10,88	5,42

3.1. Uji DPPH

Sebelum dilakukan uji DPPH, perlu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum pada alat spektrofotometer. Larutan DPPH 0,4 mM 1 mL ditambah etanol p.a. hingga tanda batas pada labu ukur 5,0 mL, diinkubasi selama 30 menit. Serapan DPPH diukur pada panjang gelombang 400 hingga 800 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu sebesar 516,5 nm. Prinsip uji aktivitas antioksidan dengan DPPH yaitu dengan mereaksikan sampel dengan reagen DPPH untuk melihat kemampuan penghambatan sampel terhadap DPPH sebagai senyawa radikal.

3.1.1. Ekstrak Kombinasi

Masing-masing ekstrak daun jeruk purut dan daun jati belanda diambil dari larutan stok 1%, ditambah 1 mL larutan DPPH dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga tanda batas labu takar 5,0 mL. Labu takar dilapisi alumunium foil supaya larutan tidak terkena cahaya dan terhindar dari degradasi. Larutan diinkubasi selama 30 menit, terlindungi dari cahaya, dan dibaca absorbansinya. Parameter yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel yaitu nilai % antiradikal. Semakin besar nilai % antiradikal maka sampel memiliki antioksidan yang semakin besar.

Tabel 2. % antiradikal kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan daun jati belanda

Volume Ekstrak Daun Jeruk Purut (%)	Volume Ekstrak Daun Jati Belanda (%)	Antiradikal±SD
120 µL (0,024%)	0 (0%)	64,75% ± 0,15
40 µL (0,008%)	80 µL (0,016%)	54,78% ± 0,09
60 µL (0,012%)	60 µL (0,012%)	50,98% ± 0,17
80 µL (0,016%)	40 µL (0,008%)	44,96% ± 0,29
0 µL (0%)	120 µL (0,024%)	78,76% ± 0,12

Berdasarkan hasil, diketahui bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tunggal lebih baik dibandingkan kombinasinya. Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun jeruk purut dan

daun jati belanda semakin meningkat ketika jumlah ekstrak daun jati belanda dalam konsentrasi yang lebih banyak.

3.1.2 Ekstrak Tunggal

Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak tunggal yaitu :

Tabel 3. IC₅₀ ekstrak daun jeruk purut

Seri Konsentrasi (dari stok 1%)	% Antiradikal ± SD	IC ₅₀
1250 µg/mL	84,69% ± 0,10	494,46µg/mL
625 µg/mL	78,42% ± 0,10	
312,5 µg/mL	48,35% ± 0,00	
156,25 µg/mL	26,852% ± 0,10	
78,125 µg/mL	10,897% ± 0,10	

*Y = 598,112 x + 20,871

* r = 0,8925

Tabel 4. IC₅₀ ekstrak daun jati belanda

Seri Konsentrasi (dari stok 1%)	% Antiradikal ± SD	IC ₅₀
1250 µg/mL	92,262% ± 0,00	359,24µg/mL
625 µg/mL	88,318% ± 0,10	
312,5 µg/mL	67,188% ± 0,10	
156,25 µg/mL	28,646% ± 0,10	
78,125 µg/mL	12,798% ± 0,00	

*Y = 626,635 x + 27,489

* r = 0,837

Figure 1. Hubungan konsentrasi daun jeruk purut terhadap % antiradikalnya



Figure 2. Hubungan konsentrasi daun jati belanda terhadap % antiradikalnya



4. Kesimpulan

Aktivitas antioksidan ekstrak tunggal daun jeruk purut dan daun jati belanda dalam penelitian termasuk lemah berdasarkan nilai IC₅₀. Daun jati belanda aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan daun jeruk purut meskipun keduanya sama-sama lemah. IC₅₀ daun jati belanda sebesar 359,24 µg/mL, dan IC₅₀ daun jeruk purut sebesar 494,46 µg/mL.

Nilai IC₅₀ tersebut menunjukkan konsentrasi penghambatan daun jeruk purut dan daun jati belanda terhadap 50% radikal bebas didalam tubuh.

Kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun jati belanda tidak memiliki aktivitas sinergisme untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dari ekstrak tunggalnya. Terdapat senyawa aktif yang bersifat saling menghambat atau antagonis pada ekstrak. Aktivitas penghambatan radikal bebas dari kombinasi ekstrak yang paling baik ada pada kombinasi ekstrak dengan konsentrasi daun jati belanda yang lebih baik, yaitu ditunjukkan dengan nilai % antiradikal sebesar 54,78%.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada seluruh laboran di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah membantu jalannya penelitian.

We thank to all of laboratory assistants in Faculty of Pharmacy Universitas Muhammadiyah Surakarta for the technical assistant.

Daftar Pustaka

Gurav S., Deshkar N., Gulkari V., Duragkar N. and Patil A., 2007, Free Radical Scavenging Activity of Polygala Chinensis Linn, *Pharmacologyonline*, 2, 245–253.

Jun M., Fu H.Y., Hong J., Wang X., Yang C.S., Ho C.T., 2006, Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobate ohwi*). *J of Food Science*, 22, 2117.

Khaira K., 2010, Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan, *Jurnal Saintek*, 2 (2), 183–187.

Kusumowati, I.T.D., Sudjono T.A., Suhendi A., Dai M. and Wirawati R., 2012, Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (Piper bettle, Sauropus androgynus, Averrhoa bilimbi, dan Guazuma ulmifolia), *Pharmaccon*, 13 (1), 1–5.

Suryo, 2008, *Genetika Manusia*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A.M. and Garcia-Parrilla M.C., 2007, Radical Scavenging Ability of Polyphenolic Compounds Towards DPPH Free Radical, *Talanta*, 71, 230–235.

Zuhria K.H., Danimayostu A.A. and Iswarin S.J., 2017, Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Bentuk Liposomnya, *Majalah Kesehatan FKUB*, 4 (2), 59–68.

Wahyuningsih, 2008, Diversifikasi pertanian menuju pertanian tangguh dalam upaya memantapkan struktur ekonomi pedesaan, *Jurnal Mediagro*, Vol. 4 No. 1, hal 1 – 11.