

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Antioksidan ialah zat kimia sebagai penghambat terbentuknya radikal bebas melalui pencegahan reaksi oksidasi yang terjadi pada rantai radikal bebas tersebut, penghambatan berlangsungnya oksidasi, dan penurunan laju lipidperoksida (Li'aini, Wibawa, dan Lugrayasa, 2021). Manfaat antioksidan yaitu menetralkan dan meminimalisir adanya gangguan yang diakibatkan oleh radikal bebas serta melakukan pencegahan atas sejumlah penyakit kanker, kardiovaskular, arthritis, diabetes mellitus serta percepatan proses penuaan (Lobo *et al.*, 2010; Maesaroh, Kurnia, dan Al Anshori, 2018; Rahmi, 2017; Werdhasari, 2014). Perolehan antioksidan dapat melalui bahan sintetis dan bahan alam sekalipun.

Antioksidan sintesis misalnya PG (propyl gallate), TBHQ (tert-butylhydroquinone), dan BHA (butylated hydroxytoluene). Antioksidan ini memiliki kekurangan seperti kerusakan hati, dan penggunaan jangka panjang mampu mengakibatkan rusaknya hati, mempunyai sifat karsinogenik dan toksik bagi tubuh (Puspitasari dan Sumantri, 2019; Werdhasari, 2014). Oleh karenanya, penggunaan zat ini dari bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Salah satu contoh antioksidan dari bahan alam berasal dari tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle), jeruk purut (*Citrus hystrix* DC), juga jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr).

Citrus hystrix DC (Keluarga Rutaceae) atau jeruk purut merupakan herba aromatik yang banyak digunakan dalam masyarakat Asia Tenggara. *Citrus hystrix* DC berasal dari kawasan Indocina seperti India, Nepal, Filipina, Bangladesh, Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Piyachaturawat *et al.*, 1985; Astuti dan Ajiningrum, 2019; Bhagawan, Ekasari, dan Agil, 2024). Daun jeruk purut mengandung senyawa metabolit sekunder seperti steroid, flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Ali *et al.*, 2015; Buakaew *et al.*, 2021; Tunjung *et al.*, 2016). Dari senyawa-senyawa tersebut, senyawa flavonoid

menunjukkan efek antioksidan yang kuat, secara aktif terlibat dalam aktivitas antioksidan (Rahmi, Manjang, Adlis, 2013; Wijaya, Adrianto, dan Silitonga, 2023).

Jeruk nipis dengan nama latinnya: *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) famili Rutaceae ialah salah satu jenis tanaman yang termasuk dalam genus Citrus. Jeruk nipis menyebar ke dalam Asia tenggara dan india. aunnnya mengandung metabolit sekunder diantaranya ialah tanin, flavonoid, alkaloid, dan steroid (Bawekes, Yudistira, dan Rumondor, 2023; Chriscensia *et al.*, 2020). Jeruk nipis memiliki aktivitas biologis yaitu antibakteri, antioksidan, antikanker, antikolestrol, antidiabetik dan antiinflamasi (Chriscensia *et al.*, 2020).

Jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr) adalah umum tersebar luas dan dibudidayakan di Cina hingga Asia Tenggara. Daun jeruk bali mengandung senyawa fitokimia di antaranya ialah steroid, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Jeruk bali memiliki aktivitas biologisnya antioksidan, analgesik, antidiabetes, antiinflamasi (Nazeer *et al.*, 2022) dan sitotoksik (Maritha dan Handoko, 2021).

Metode analisis yang dipilih oleh peneliti sebagai sarana pengujian mengenai aktivitas zat antioksidan ialah metode FRAP dan ABTS. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ialah metode sederhana dan membutuhkan waktu yang singkat serta tidak memerlukan peralatan khusus untuk pengukuran (Jayanthi dan Lalitha, 2011; Sukweenadhi *et al.*, 2020). Akan tetapi, terdapat kekurangan tertentu terkait dengan pengujian tersebut. Salah satu keterbatasan tersebut adalah ketidakstabilan reagen, sehingga memerlukan persiapan dan penggunaan segera. Tak hanya itu, metode tersebut juga kurang spesifik karena dapat mendeteksi senyawa dengan potensi reduksi Fe^{3+}/Fe^{2+} rendah yang belum tentu memiliki sifat antioksidan (Choirunnisa, Fidrianny, dan Ruslan, 2016; Jayanthi dan Lalitha, 2011; Sukweenadhi *et al.*, 2020). ABTS ialah metode yang umumnya berfungsi dalam menguji aktivitas antioksidan melibatkan penggunaan senyawa 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) yang mana merupakan senyawa yang

menghasilkan radikal bebas (Kurniawati and Sutoyo, 2021; Oliveira *et al.*, 2014). Metode ini berperan sebagai substrat dari enzim peroksidase yang dapat teroksidasi akibat peroksida kation yang bersifat radikal (Kurniawati dan Sutoyo, 2021). Namun perlu diperhatikan bahwa metode ini memiliki kerentanan tinggi dalam menghadapi gangguan penerangan atau cahaya. Untuk memfasilitasi produksi radikal ABTS^{•+} diperlukan masa inkubasi selama 12 hingga 16 jam dengan situasi tanpa pencahayaan memerlukan biaya yang mahal (Maryam *et al.*, 2016; Kurniawati dan Sutoyo, 2021). Metode lain untuk menganalisis aktivitas aktioksidan menggunakan metode DPPH.

DPPH ialah radikal bebas buatan yang memiliki kemampuan dapat mudah terlarut di dalam zat polar, misalnya metanol dan juga etanol (Malik, Ahmad, dan Najib, 2017). Ini menunjukkan dua mekanisme reaksi yaitu sumbangan atom hidrogen dan sumbangan elektron. Sebagai radikal, DPPH memperoleh pasangan elektron dengan menerima atom hidrogen dari senyawa antioksidan (Apak, Gorinstein and Schaich, 2013; Malik, Ahmad, and Najib, 2017). Penggunaan DPPH sebagai metode pengujian antioksidan sangat menguntungkan, sederhana, cepat, terjangkau, dan sensitivitasnya dalam menentukan aktivitas antioksidan (Boligon, 2014; Purwanti, Leni, Dasuki dan Imawan, 2019). Untuk menganalisis metode DPPH menggunakan instrumen spektrofotometri UV-vis.

Spektrofotometri UV-Vis merupakan instrumen analisis yang mampu mengukur penyerapan sampel terhadap sinar dengan gelombang ultraviolet dan juga sinar tampak suatu sampel, khususnya panjang gelombang dan intensitasnya. Teknik ini mampu mendorong elektron pada bagian kulit paling luar menuju tingkatan energi yang lebih besar, sebab energi yang ditimbulkan dari sinar-sinar tersebut yang mencukupi (Surasa, 1993; Suhartati, 2017). Instrumen spektrofotometri UV-Vis memiliki beberapa keunggulan, antara lain kemampuannya menganalisis zat organik dan anorganik, selektivitasnya, akurasi tinggi dengan kesalahan relatif 1%-3%, analisis cepat dan tepat, serta kemampuan menentukan kuantitas zat kecil (Suhartati, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Herlina tentang uji antioksidan yang dikandung oleh infused water yang terbuat dari jeruk lemon, nipis, juga kalamsia menggunakan pelarut etanol pa melalui metode DPPH menyatakan bahwa aktivitas zat antioksidan yang terkandung pada minuman-minuman tersebut sangat kuat yang mana ditunjukkan oleh nilai IC_{50} dari minuman yang terbuat dari lemon yaitu 27,46 $\mu\text{g/ml}$, minuman yang terbuat dari nipis yaitu 24,39 $\mu\text{g/ml}$, infused water jeruk kalamsia yaitu 28,96 $\mu\text{g/ml}$ (Herlina, Mulyani, dan Wulandari, 2022). Berdasarkan penelitian Handayani tentang studi yang membandingkan antara aktivitas antioksidan yang ada di dalam daun jeruk purut dengan nipis melalui penggunaan metode perendaman radikal bebas DPPH memberikan pernyataan bahwa ekstra daun jeruk purut maupun nipis menggunakan pelarut etanol 96% mengandung saponin, fenol, flavonoid. Setelah melalui penelitian, didapatkan aktivitas antioksidannya dari ekstrak jeruk purut juga daun jeruk nipis memiliki nilai IC_{50} yaitu 228,695 $\mu\text{g/ml}$ dan 335,064 $\mu\text{g/ml}$ (Handayani, Naid, dan Umasangaji, 2020).

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian tentang analisis aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr menggunakan metode DPPH dengan instrumen spektrofotometri UV-Vis dapat dikembangkan. Penggunaan DPPH karena metode ini sederhana, cepat dan selektif. IC_{50} menjadi parameter untuk menentukan nilai antioksidan yang terdapat pada ekstrak kombinasi *Citrus hystrix* DC (jeruk purut), *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle (jeruk nipis) serta *Citrus maxima* (Burm) Merr (jeruk bali).

B. Batasan Masalah

Berlandaskan pemaparan fenomena yang telah disajikan sebelumnya, penelitian yang diadakan hanya berfokus dalam beberapa aspek berikut:

1. Tanaman yang menjadi objek penelitian kali ini ialah *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr

yang telah dideterminasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

2. Teknik ekstraksi yang diterapkan pada penelitian kali ini ialah remaserasi.
3. Metode uji aktivitas antioksidan yang diaplikasikan pada penelitian kali ini yaitu metode DPPH.

C. Rumusan Masalah

1. Bagaimana kandungan fitokimia yang terdapat dalam ekstrak *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr dengan menggunakan metode DPPH ?
3. Apakah terjadi perbedaan yang signifikan antara kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr dengan pembanding vitamin C menggunakan uji statistika dengan metode *One Way Anova*?

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Guna mengkaji bagaimana aktivitas dari zat antioksidan yang terkandung di dalam kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui senyawa fitokimia yang dikandung oleh ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr.
- b. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr untuk analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

- c. Untuk mengetahui terjadi perbedaan yang signifikan antara ekstrak tunggal daun *Citrus hystrix* DC, ekstrak tunggal daun *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, ekstrak tunggal daun *Citrus maxima* (Burm) Merr, kombinasi ekstrak daun dari ketiga jenis Citrus tersebut dan pembanding vitamin C menggunakan uji statistika dengan metode *One Way Anova*.

E. Kegunaan Penelitian

Berdasarkan perolehan hasil dan juga pembahasan penelitian, peneliti berharap pihak-pihak terkait dapat memperoleh berbagai kegunaan, yang mana berupa:

1. Kegunaan bagi peneliti

Mendapat informasi mengenai kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr menggunakan metode DPPH.

2. Kegunaan bagi peneliti lainnya

Sebagai sumber referensi untuk proses pengkajian pustaka yang dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam menyelenggarakan penelitian berikutnya mengenai potensi antioksidan kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr untuk terapi.

3. Kegunaan bagi masyarakat

Memberikan wawasan dan pengetahuan bagi para masyarakat tentang khasiat yang dimiliki oleh ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr.

4. Kegunaan bagi ilmu pengetahuan

Sebagai referensi skrining fitokimia sekaligus aktivitas antioksidan pada kombinasi ekstrak daun *Citrus hystrix* DC, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle dan *Citrus maxima* (Burm) Merr.