

**Artikel Penelitian**

# Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Teh dan Kulit Jeruk Mandarin

## Antioxidant Activity of Combination Extract Tea Leaves and Mandarin's Orange Peel

Siska Febdian Nitami<sup>1</sup>, Rifki Febriansah<sup>1\*</sup>, Muhamad Salman Fareza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Jalan Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta, Indonesia 55183

<sup>2</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto, Indonesia 53122

E-mail : [rifki.febriansah@umy.ac.id](mailto:rifki.febriansah@umy.ac.id)

### Abstrak

Senyawa antioksidan berperan penting terhadap kesehatan dan dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit kronis. Kemampuan utama dari senyawa antioksidan adalah kemampuannya dalam menangkap suatu radikal bebas. Daun teh dan kulit jeruk memiliki potensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sifat antioksidan dari kombinasi ekstrak daun teh dan kulit jeruk mandarin dengan metode DPPH. Kombinasi ekstrak etanolik kulit jeruk mandarin dan daun teh terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 83,00 µg/mL.

Kata kunci: antioksidan, kombinasi ekstrak, daun teh, kulit jeruk mandarin

### Abstract

Antioxidant compounds play an important role in health and can reduce the risk of chronic disease. The main ability of antioxidant compounds is their ability to capture a free radical. Tea leaves and orange peel have potential as natural antioxidants. This study aims to determine the antioxidant properties of a combination of tea leaves extract and orange peel with the DPPH method. The combination of ethanolic extract of mandarin orange peel and tea leaves has been shown to have a strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 83.00 µg/mL.

Keywords: antioxidant, extracts combination, tea leaves, orange peel

### PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan merupakan kelompok senyawa yang berperan penting terhadap kesehatan. Hal ini disebabkan senyawa antioksidan dapat berperan dalam mengurangi risiko penyakit kronis. Kemampuan utama dari senyawa antioksidan adalah kemampuannya dalam menangkap suatu radikal bebas (Kuntorini dan Astuti, 2010). Senyawa antioksidan seringkali digunakan sebagai bahan tambahan pangan seperti penambahan antioksidan sintetik BHA (*buthylated hydroxy toluene*), TBHQ (*tertiary*

*butyl hydroquinone*), dan PG (*propyl gallate*). Penggunaan antioksidan sintetik berdasarkan hasil penelitian dapat menyebabkan penyakit kerusakan hati serta memiliki efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia (Puspitasari dan Sumantri, 2019). Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif antioksidan lainnya yang lebih aman bagi kesehatan yang salah satunya bersumber dari alam. Bahan alam yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan yaitu teh (*Camellia sinensis*) dan jeruk mandarin (*Citrus reticulata*).

Daun teh banyak mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang memiliki sifat antioksidan seperti katekin, (-)epigallocatekin, (-)epigallocatekin galat, (-)epikatekin galat, epikatekin, dan katekin (Pereira *et al.*, 2014). Selain itu, konsumsi teh juga telah diketahui memiliki korelasi dapat menurunkan kejadian terjadinya penyakit kronis seperti kardiovaskular dan kanker (Tang *et al.*, 2015). Selain itu, penelitian sebelumnya juga telah melaporkan kombinasi dari ekstrak daun teh dengan zat aktif lainnya dapat meningkatkan bioaktivitasnya. Kombinasi ekstrak daun teh dengan asam askorbat diketahui dapat mencegah proses melanosis (titik hitam) yang merupakan fenomena fenol akan teroksidasi menjadi kuinon secara mekanisme biokimia oleh enzim polifenoloksidase (Nirmal dan Benjakul, 2010). Simonetti *et al* (2004) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak glikolik daun teh hijau dengan BHA dapat meningkatkan kemampuan antibakteri dari ekstrak daun teh. Selain daun teh, salah satu bahan alam lainnya yang kaya akan kandungan zat antioksidan adalah jeruk mandarin (*Citrus reticulata*).

Jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) merupakan buah hasil pertanian yang sering digunakan oleh industri makanan yang pada umumnya dibuat sebagai minuman atau jus segar. Kulit jeruk kering menurut dalam Chinese Pharmacopeia sering digunakan secara tradisional sebagai penambah energi (Tumbas *et al.*, 2010). Kulit jeruk, yang jumlahnya setengah massa dari buah jeruk, seringkali tidak termanfaatkan dan menjadi limbah pada proses tersebut. Hal tersebut sangat disayangkan melihat potensi dari kulit jeruk yang memiliki kandungan bioaktif sebagai antioksidan alami seperti asam fenolik dan flavonoid (Tumbas *et al.*, 2010). Secara umum kandungan antioksidan alami pada kulit jeruk lebih banyak dibandingkan pada buahnya (Awad *et al.*, 2001). Penelitian terkait kombinasi ekstrak daun teh dan kulit jeruk khususnya sebagai antioksidan hingga kini belum ada yang melaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan sifat antioksidan dari kombinasi ekstrak daun teh dengan kulit jeruk. Sifat antioksidan ditentukan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Daun teh (*Camellia sinensis*) yang diperoleh dari daerah Merapi Kaliurang Yogyakarta dan kulit jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) dari daerah Bantul Yogyakarta. Etanol 70% (Bratachem®), aquadest (Bratachem®), DPPH, lempeng KLT silika gel GF<sub>254</sub>, amoniak (Bratachem®), butanol (Bratachem®), kontrol rutin Vitamin C (Bratachem®), heksan (Bratachem®).

### **Ekstraksi dengan metode maserasi**

Kulit jeruk mandarin dan daun teh dicuci, dikeringkan, kemudian digiling halus. Massa serbuk yang digunakan yaitu 309,03 gram serbuk simplisia dau teh dan 500 gram kulit jeruk mandarin. Masing-masing serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 70% selama 5 hari dan diremaserasi selama 2 hari dalam etanol 70%. Berikutnya yaitu tahap penyaringan menggunakan kain disusul penyaringan menggunakan kertas saring dan didapatkan ekstrak cair. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C

dengan kecepatan putaran 60 rpm, lalu ditimbang untuk dihitung rendemen masing-masing ekstrak.

### **Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Analisis kandungan kimia metode KLT dengan fase gerak berupa butanol:asam asetat:air dengan perbandingan 7:2:1. Sampel ekstrak etanolik kulit jeruk mandarin dan daun teh dilarutkan, kemudian ditotolkan 5-8 kali pada fase diam silika gel GF<sub>254</sub>. Pembanding yang digunakan yaitu senyawa rutin. Fase gerak butanol, asetat dan air dimasukkan ke dalam *chamber* dan tunggu beberapa saat sampai jenuh. Plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* dan ditunggu hingga fase gerak terelusi sempurna. Setelah proses elusi, plat dikeringkan lalu diamati dibawah sinar tampak, UV 254, dan UV 366 nm. Untuk reaksi warna, uji identifikasi flavonoid dilanjutkan dengan diberi uap amoniak, tunggu hingga 15 menit. Diamati perubahan warna bercak pada KLT.

### **Uji antioksidan metode DPPH**

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan melarutkan 15,8 mg serbuk DPPH ke 100 mL metanol p.a dalam labu takar. Larutan di *vortex* selama 30 detik kemudian dibungkus menggunakan aluminium foil. Sebanyak 20 mg kombinasi ekstrak etanolik kulit jeruk mandarin dan daun teh (1:1) ditambahkan dengan 2 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan induk tersebut dibuat seri kadar 5 ; 7,5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 30 µg/mL. Aktivitas antioksidan ekstrak dibandingkan dengan antioksidan vitamin C. Sebanyak 5 mg vitamin C pro analisis dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas sebagai larutan induk. Kemudian dibuat seri kadar vitamin C 0,5 ; 1 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30 µg/mL.

Larutan uji kemudian dipipet sebanyak 0,2 mL kemudian ditambahkan 3,8 larutan DPPH 0,05 mM dalam metanol. Campuran kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Serapan kemudian diukur dengan alat spektrofotometer UV-tampak pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai kontrol positif digunakan larutan uji vitamin C dengan perlakuan yang sama dengan sampel uji.

### **Analisis data**

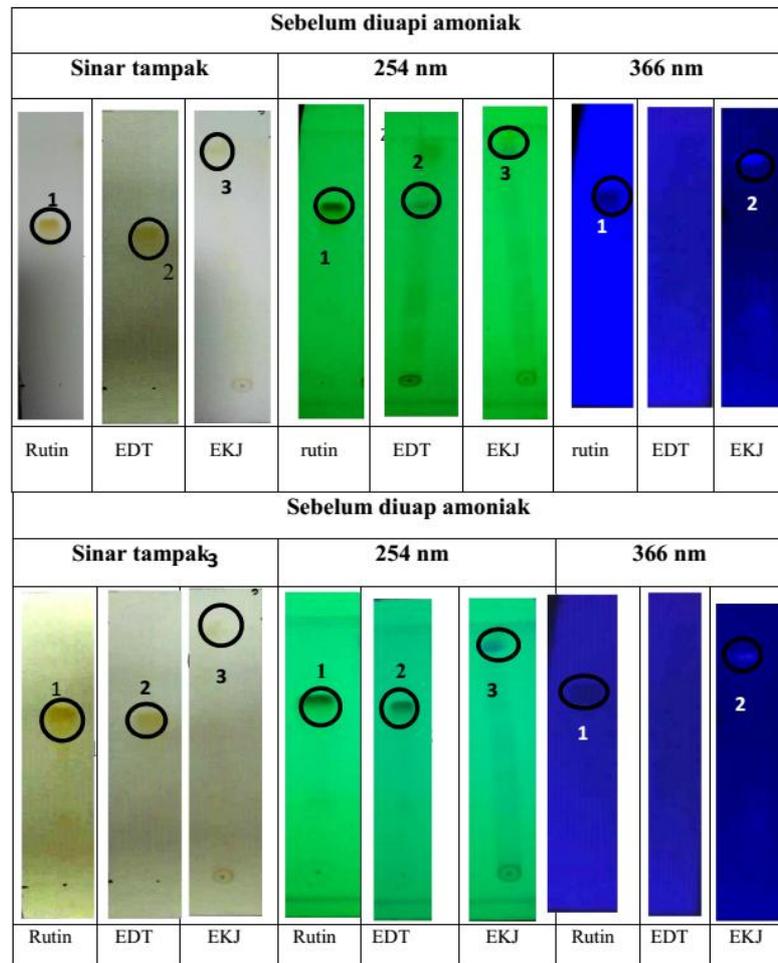
Perhitungan IC<sub>50</sub> dilakukan dengan cara mengonversi absorbansi sampel menjadi bentuk persen antioksidan. Nilai IC<sub>50</sub> bisa diperoleh dengan memasukkan nilai IC<sub>50</sub> sebagai y dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari hubungan  $x = \text{kadar}$ , dan  $y = \% \text{ antioksidan}$ .

## **HASIL**

### **Ekstraksi dan uji kromatografi lapis tipis**

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian yaitu metode maserasi. Ekstrak kental yang di dapat dari penelitian ini sebanyak 27,3 gram ekstrak teh (rendemen 5,46%) dan 26,4 gram ekstrak kulit jeruk (rendemen 5,28%). Secara makroskopis kedua ekstrak berwarna hitam dengan bau yang khas.

Pemisahan untuk mengetahui senyawa flavonoid dalam ekstrak dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Lempeng KLT yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dengan fase gerak yang butanol:asam asetat:air (perbandingan 7:2:1). Pembanding senyawa flavonoid yaitu senyawa rutin. Bercak pada plat KLT diamati di bawah sinar tampak, lampu UV 254, dan UV 366 nm.



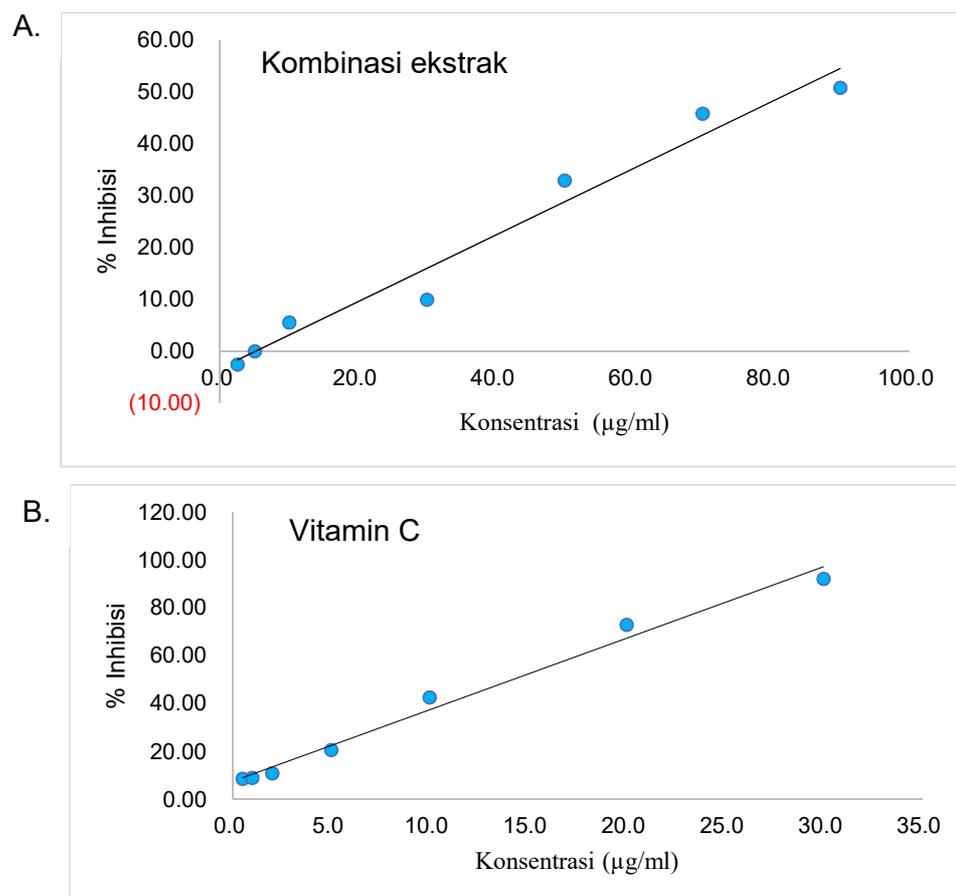
Gambar 1. Hasil KLT ekstrak daun the (EDT), ekstrak kulit jeruk (EKJ), dan standar rutin (flavonoid)

Tabel 1. Nilai Rf hasil KLT

Nomor Bercak	Rf	Sebelum di Uap Amoniak		
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,62	Kuning	Meredam	Ungu Tua
2	0,65	Kuning	Meredam	-
3	0,87	Kuning	Meredam	Ungu Tua

Nomor Bercak	Rf	Setelah di Uap Amoniak		
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,62	Kuning	Meredam	Ungu Tua
2	0,65	Kuning	Meredam	-
3	0,87	Kuning	Meredam	Ungu Muda



**Gambar 2. Aktivitas antioksidan senyawa uji.** (A) kombinasi ekstrak daun teh (EDT) dan ekstrak kulit jeruk mandarin (EKJ), (B) vitamin C. Grafik hasil uji aktivitas antioksidan kombinasi EDT dan EKJ terhadap DPPH menghasilkan persamaan  $y = 0,6427x - 3,3458$  dengan  $R^2 = 0,9698$  dan nilai  $IC_{50}$  83 µg/mL. Grafik hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C terhadap DPPH menghasilkan persamaan  $y = 2,9913x + 7,5319$  dengan  $R^2 = 0,9859$  dan nilai  $IC_{50}$  14,2 µg/mL.

Hasil pengamatan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning terang pada plat rutin (plat 1). Pengamatan pada sinar UV 254 nm, sampel rutin dan ekstrak kulit jeruk meredam pendaran silika GF254, sedangkan pengamatan pada sinar UV 366 nm terlihat warna ungu tua.

Kromatogram sampel menunjukkan nilai  $R_f$  pada bercak sampel ekstrak dauh teh (EDT) yaitu 0,65, dan untuk senyawa rutin yaitu 0,62. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa sampel EDT mengandung senyawa flavonoid. Pada sampel ekstrak kulit jeruk (EKJ) menunjukkan nilai  $R_f$  0,87, sedangkan pembanding senyawa rutin memiliki  $R_f$  0,62. Sampek EKJ juga mengandung flavonoid karena nilai  $R_f$  masih berkisar antara 0,1 – 0,99. Hasil KLT pada kedua ekstrak dengan nilai  $R_f$  dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.

#### Uji antioksidan kombinasi ekstrak

Aktivitas antioksidan pada ekstrak etanolik kulit jeruk dan daun teh dilakukan dengan penangkapan radikal bebas DPPH dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Pembandingan yang dipilih dalam uji ini yaitu vitamin C. Panjang serapan dibaca pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH dan hasil panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 514 nm. Berdasarkan hasil yang didapat dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji dan kontrol positif, maka penangkapan suatu radikal bebas DPPH akan semakin besar. Hasil perhitungan menunjukkan nilai  $IC_{50}$  untuk kombinasi ekstrak etanolik kulit jeruk dan daun teh yaitu  $IC_{50}$  83,00  $\mu\text{g/mL}$  sedangkan untuk vitamin C yaitu 14,2  $\mu\text{g/mL}$  (Gambar 2).

## PEMBAHASAN

Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dan uji warna menunjukkan ekstrak daun teh dan ekstrak kulit jeruk mandarin mengandung senyawa flavonoid. Nilai  $R_f$  pada ekstrak kulit jeruk mandarin berbeda 0,25 dari  $R_f$  rutin, tetapi ini masih dalam rentang 0,1-0,99 yang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pelarut, suhu, struktur kimia, dan senyawa-senyawa lain yang sedang dipisahkan, serta sifat dari penyerapan dan derajat aktivitasnya, jumlah cuplikan yang digunakan serta teknik yang digunakan (Sastrohamidjojo, 2007).

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Pengujian dengan metode DPPH karena metode ini adalah metode sederhana, cepat, mudah dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk digunakan sebagai evaluasi aktivitas antioksidan. Nilai  $IC_{50}$  untuk kombinasi ekstrak etanolik kulit jeruk dan daun teh yaitu  $IC_{50}$  83,00  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil nilai  $IC_{50}$  memperlihatkan bahwa kombinasi ekstrak daun teh dengan kulit jeruk termasuk dalam rentang kategori kuat yaitu 50-100 ppm (Kartikasari *et al.*, 2018). Aktivitas antioksidan kuat ini diduga disebabkan adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak tersebut.

## KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak etanolik kulit jeruk mandarin dan daun teh memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  83,00  $\mu\text{g/mL}$ .

## REFERENSI

- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit ITB, Bandung.
- Awad, M. A., de Jagar, A., van der Plas, L. H., *et al.*, 2001, Flavonoid and Chlorogenic Acid Changes In Peel of 'Elstar' and 'Jonagold' Apples During Development and Ripening, *Sci. Hortic.*, 90:69-83. doi: [10.1016/S0304-4238\(00\)00255-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00255-7)
- Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan kedua. penerbit ITB, Bandung.
- Kartikasari, D., Hairunisa, Ropiqa, M., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazyl) Serta Aplikasinya Pada Krim Antioksidan, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2): 205-214. doi: [10.36387/jiis.v3i2.169](https://doi.org/10.36387/jiis.v3i2.169)
- Kuntorini, E.V. dan Astuti, M. D., 2010, Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.), *Sains dan Terapan Kimia*, 4(1):15-22. doi: [10.20527/jstk.v4i1.2043](https://doi.org/10.20527/jstk.v4i1.2043)
- Nirmal, N. P dan Benjakul, S., 2010, Effect of Green Tea Extract in Combination with Ascorbic Acid on the Retardation of Melanosis and Quality Changes of Pasific White Shrimp During Iced Storage, *Food. Bioprocess Technol.*, 5:2941-2951. doi: [10.1007/s11947-010-0483-5](https://doi.org/10.1007/s11947-010-0483-5)

Pereira, V. P., Knor, F. J., Velloso, J. C. R., *et al.*, 2014, Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Green, Black, and White Teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae, *Rev Bras Pl Med*, 16(3):490-498. doi: [10.1590/1983-084X/13\\_061](https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_061)

Puspitasari A. D. dan Sumantri, 2019, Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Menggunakan Metode ABTS, *Majalah Farmasi dan Farmakognosi*, 23(2):48-51. Doi: [10.20956/mff.v23i2.6978](https://doi.org/10.20956/mff.v23i2.6978)

Sastrohamidjojo, H, 2007, *Kromatografi Edisi II Cetakan Keempat*, Yogyakarta: Liberty.

Simonetti, G. Simonetti, N., Villa, A., 2004, Increased Microbial Activity of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Combination with Butylated Hydroxyanisole, *J Chemother*, 16(2):122-127. doi: [10.1179/joc.2004.16.2.122](https://doi.org/10.1179/joc.2004.16.2.122)

Tang, J., Zheng, J. S., Fang, L., *et al.*, 2015, Tea Consumption and Mortality of All Cancers, CVD and All Causes: A Meta-analysis of Eighteen Prospective Cohort Studies, *Br J Nutr*, 114:673-683. doi: [10.1017/S0007114515002329](https://doi.org/10.1017/S0007114515002329)

Tumbas, V. T., Cetkovic, G. S., Djilas, S. M., *et al.*, 2010, Antioxidant Activity of Mandarin (*Citrus reticulata*) Peel, *APTEFF*, 40:195-203. doi: [10.2298/APT1041195T](https://doi.org/10.2298/APT1041195T)



**Akses Terbuka** Artikel ini dilisensikan di bawah Creative Commons Lisensi Internasional Attribution 4.0, yang memungkinkan penggunaan, berbagi, adaptasi, distribusi, dan reproduksi dalam media atau format apa pun, selama Anda memberikan kredit yang sesuai kepada penulis asli dan sumbernya, memberikan tautan ke lisensi Creative Commons, dan menerangkan jika perubahan telah dilakukan. Gambar atau materi pihak ketiga lainnya dalam artikel ini termasuk dalam lisensi Creative Commons artikel, kecuali dinyatakan sebaliknya dalam batas kredit untuk materi tersebut. Jika materi tidak termasuk dalam lisensi Creative Commons artikel dan penggunaan yang Anda maksudkan tidak diizinkan oleh peraturan perundang-undangan atau melebihi penggunaan yang diizinkan, Anda harus mendapatkan izin langsung dari pemegang hak cipta. Untuk melihat salinan lisensi ini, kunjungi <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.id>.

© The Author(s) 2020