

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia memiliki SDA (sumber daya alam) yang sangat berlimpah dan mengandung jutaan senyawa kimia. Senyawa kimia berpotensi mengobati penyakit dan ada yang berpotensi sebagai racun. Tumbuhan juga dapat berpotensi sebagai pengobatan penyakit karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi dalam bidang kimia organik terbukti bahwa tumbuh-tumbuhan tertentu mengandung senyawa kimia yang penting bagi kesehatan manusia (Situmeang dkk., 2018).

Salah satu jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan penyakit atau obat tradisional, yaitu jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) yang merupakan salah satu anggota suku jeruk-jerukan (famili Rutaceae). Bentuk buah jeruk purut bulat dengan tonjolan-tonjolan, serta permukaan kulitnya kasar dan tebal. Daun jeruk purut berbentuk khas, yaitu berbentuk oval dan ujung daunnya tumpul serta tangkai daun bersayap lebar yang terlihat seperti dua daun yang berjajar (Rahmi dkk., 2013). Hampir seluruh bagian dari tanaman jeruk purut dapat dimanfaatkan, terutama pada daunnya. Daun jeruk purut dapat digunakan sebagai stimulan dan penyegar (Dalimartha, 2008). Selain itu, daun jeruk purut sering digunakan sebagai bahan utama dalam obat-obatan tradisional. Jeruk purut juga memiliki efek farmakologis sebagai antiseptik dan mempunyai antioksidan yang sangat tinggi sehingga banyak dimanfaatkan dalam kebutuhan sehari-hari, baik dalam medis, industri, maupun rumah tangga (Rahmi dkk., 2013).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang memiliki kandungan senyawa polifenol yang tinggi atau senyawa yang dapat mencegah proses oksidasi molekul lain dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul lain yang reaktif (Tristantini, *et. al.*, 2016). Dengan begitu, tubuh membentuk antioksidan sebagai mekanisme pertahanan alami dari radikal bebas. Namun, apabila jumlah radikal bebas dan antioksidan yang dihasilkan tubuh tidak seimbang,

maka akan menimbulkan kondisi stres oksidatif. Keadaan ini dapat menimbulkan kerusakan mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga organ tubuh. Stres oksidatif merupakan keadaan yang ketika terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Karena itu dibutuhkan tambahan antioksidan yang bersumber dari luar tubuh, atau antioksidan eksogen (Yunanto dkk., 2009). Seperti yang diketahui bahwa alam menyediakan sumber antioksidan yang sangat efektif dan relatif aman, seperti flavonoid, vitamin C,  $\beta$ -karoten dan sebagainya. Hal tersebut menjadikan semakin banyak dilakukannya eksplorasi bahan alami sebagai sumber antioksidan. Antioksidan tersebut dapat menghambat reaksi oksidasi, cara menghambatnya adalah dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga membantu melindungi tubuh (Khaira, 2010).

Radikal bebas atau yang sering disebut *reactive oxygen species* (ROS) merupakan molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Terbentuknya radikal bebas merupakan hasil dari reaksi oksidasi yang terjadi di dalam tubuh. Pada proses oksidasi, terbentuk oksigen reaktif (oksidan). Meskipun semua radikal bebas merupakan oksidan, tetapi tidak semua oksidan bersifat radikal. Oksidan yang bersifat nonradikal misalnya hidrogen peroksida, singlet oksigen, dan hipoklorit. Sedangkan oksidan yang radikal misalnya superoksida anion, peroksil, dan hidroksil (Sinaga, 2016). Dalam mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi stabil. Reaksi tersebut akan terus-menerus berlangsung dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif, seperti DM, hipertensi, dan *stroke* (Aprila, *et.al.*, 2015). Oleh karena itu, tubuh harus dapat memproteksi diri dari radikal bebas dengan antioksidan (Maulana, *et.al.*, 2016).

Berdasarkan penjelasan di atas, bahwa perlu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan, uji senyawa bioaktif, dan identifikasi senyawa metabolit sekunder pada daun *C. hystrix*. Pelarut yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana (non-polar) dan metanol (polar). Pelarut n-heksana dan metanol digunakan dalam ekstraksi untuk mendapatkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (polar dan non-polar). Sarastani *et al.* (2002) ekstraksi menggunakan pelarut dengan polaritas

berbeda dapat menghasilkan ekstrak dengan polaritas yang berbeda pula sesuai dengan sifat kepolaran masing-masing ekstrak. Dalam penelitian ini, pelarut n-heksana sebagai pelarut non-polar lebih dipilih daripada pelarut non-polar lainnya karena bersifat stabil dan mudah menguap, inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain, serta dapat mengekstrak dalam jumlah banyak (Guenther, 1987). Sedangkan, memilih menggunakan pelarut metanol sebagai pelarut polar karena bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non-polar pada sampel yang digunakan (Cordell, 1981).

Penelitian uji aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif daun jeruk purut ini menggunakan 3 metode penelitian, yaitu metode skrining fitokimia, *1,1 difenil-2 pikrilhidrazil* (DPPH) dan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS). Menggunakan metode skrining fitokimia untuk mengidentifikasi metabolit sekunder tertentu yang terkandung dalam bahan alam, metode 1,1 difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH), ekstrak daun jeruk purut dengan perbedaan konsentrasi tertentu dapat diukur aktivitas antioksidannya secara kuantitatif. Parameter yang akan digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan tersebut adalah *inhibition concentration* 50% ( $IC_{50}$ ), yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Alasan menggunakan metode DPPH tersebut karena cepat, sederhana atau tidak memerlukan banyak reagen, serta tidak mahal jika dibandingkan dengan metode uji lainnya. Metode yang lain, yaitu menggunakan nilai analisis GC-MS. GC yang berfungsi sebagai menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif sedangkan MS berfungsi sebagai analisis struktur molekul senyawa analit. Hasil yang akan diperoleh, yaitu berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik.

Beberapa penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya untuk menguji daun jeruk purut, seperti penelitian yang dilakukan oleh Ching dan Mohamed (2001) menyatakan bahwa daun jeruk purut mengandung senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan dan  $\alpha$ -tokoferol. Selain itu, menurut sumber lain daun jeruk purut mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, steroid, dan sebagainya (Dalimartha, 2000). Sedangkan, menurut Ali *et. al.* (2015) daun jeruk purut

menunjukkan hasil ekstrak dari pelarut metanol mengandung golongan senyawa flavonoid yang tertinggi. Berdasarkan penelitian tersebut, tentunya diperlukan pengujian atau penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan daun jeruk purut. Dengan menggunakan dua jenis pelarut berbeda, yaitu pelarut n-heksana dan metanol agar senyawa bioaktif dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut, karena tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan akan dapat menghasilkan ekstrak dengan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami yang berbeda juga. Sehingga penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti, seperti Ching dan Mohamed (2001) yang mendasari dilakukannya penelitian uji aktivitas antioksidan (%) dan nilai  $IC_{50}$  (ppm), senyawa bioaktif serta metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun jeruk purut dengan metode *1,1 difenil-2 pikrilhidrazil* (DPPH), skrining fitokimia, dan metode *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS).

## 1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut :

1. Berapakah potensi aktivitas antioksidan pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol?
2. Apa sajakah metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol?
3. Apa sajakah senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol?

## 1.3 Asumsi Penelitian

Jeruk purut merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, terutama pada daunnya yaitu sebagai penyegar, antibakteri, antikanker, obat tradisional, dan tentunya sebagai antioksidan. Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun jeruk purut memiliki senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan salah satunya flavonoid (Agestiawaji & Sugrani, 2009) dan memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik tergantung pada jenis pelarut yang digunakan (Ismail *et. al.*, 2002). Pada penelitian ini diasumsikan bahwa akan terdapat variasi

kandungan ekstrak pada daun jeruk purut dengan menggunakan 2 pelarut yang berbeda sesuai dengan tingkat kepolaritasan pelarut tersebut, karena senyawa yang dapat terikat sesuai dengan tingkat polaritas pelarutnya akan menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang berbeda pula.

#### 1.4 Hipotesis Penelitian

Jika senyawa pelarut memiliki sifat yang khusus, maka terdapat variasi kandungan ekstrak daun *C. hystrix* dengan menggunakan pelarut yang berbeda.

#### 1.5 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Mengetahui potensi aktivitas antioksidan pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol.
2. Mengetahui metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol.
3. Mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak daun jeruk purut (*C. hystrix*) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol.

#### 1.6 Manfaat Penelitian

Penulis mengharapkan hasil pada penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah dan menambah pengetahuan mengenai aktivitas antioksidan daun *C. hystrix* yang menggunakan pelarut n-heksana (non-polar) dan metanol (polar) dalam menangkal atau menghambat radikal bebas, senyawa bioaktif serta metabolit sekunder yang terkandung pada daun *C. hystrix*. Penelitian ini diharapkan juga dapat menjadi data dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya terhadap antioksidan alami pada daun jeruk purut dan tentunya bermanfaat bagi masyarakat dalam kehidupan.