

UJI POTENSI MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI

Dwi Rizki Febrianti*, Novia Ariani
Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin
Email: dwirizkyfeby@gmail.com

ABSTRAK

Komponen minyak atsiri daun jeruk purut adalah sitronelal, sitronelol, linalol, geraniol dan komponen yang di dalamnya berpotensi dijadikan sebagai sumber antioksidan alami yang dapat menghambat radikal bebas. Komponen tersebut juga diduga memiliki potensi sebagai antibakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu penyebab penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, meningitis pada bayi dan pneumonia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi minyak atsiri jeruk purut sebagai antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Minyak atsiri didapatkan melalui proses destilasi uap air. Hasil penelitian menunjukkan pada uji aktivitas antioksidan minyak atsiri daun jeruk purut memiliki nilai IC₅₀ sebesar 75,77 µg/ml termasuk dalam kategori antioksidan kuat. Minyak atsiri daun jeruk purut juga memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dengan semakin besar volume minyak atsiri semakin besar zona hambatnya.

Kata kunci : *Citrus hystrix* D. C., Antioksidan, *Escherichia coli*

ABSTRACT

The identified major compounds from Kaffir lime peels oil were sabinene, β-pinene, limonene, α-pinene, There has a good potential for antioxidant and antimicrobial. This is important because more than 50% antimicrobial drugs discovered a few decades of natural product. the number pathogens that are resistant to commercial drugs has increased. kaffir lime is one of the compounds from natural sources to be expected to have great anti-microbial activities.

kaffir lime leaves (720 g) were collected from the plantation to hydrodistillation for 7 hours to obtain the essential oil. all hydrodistilled-essential oil were tested for antioxidant and antimicrobial activity against pathogens (E. coli). The essential oil has a good activity as antioxidants with IC₅₀ 75,77 µg/mL. essential oils of kaffir lime leaves were presented antimicrobial activity against E. coli. The essential oil showed weak antimicrobial activity.

Keywords: *Kaffir Lime, Leaves, Antioxidant, Antimicrobial*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan obat yang berasal dari tanaman akan memberikan keuntungan dibandingkan dengan

obat-obat sintesis, karena biaya pengobatan akan lebih murah, efek samping yang lebih sedikit dan lebih aman digunakan dalam jangka waktu yang panjang¹. Tanaman ini berasal

dari genus Citrus merupakan tanaman penghasil minyak atsiri. Dalam perdagangan internasional dikenal sebagai kaffir lime². Komponen minyak atsiri daun jeruk purut adalah sitronelal, sitronelol, linalol, geraniol dan komponen lain. Komponen-komponen tersebut diketahui dapat memiliki aktivitas antioksidan³. Pada penelitian yang dilakukan oleh warsito⁴ menyatakan bahwa minyak jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan dan berdasarkan latar belakang di atas dari daun jeruk purut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian aktivitas antioksidan pada minyak atsiri daun jeruk purut dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

Penelitian tentang potensi tanaman obat di Indonesia masih sangat terbatas dibandingkan dengan negara lain, namun beberapa tahun terakhir banyak peneliti mengembangkan bahan herbal sebagai sumber obat yang memiliki efek antibakteri, baik itu antibakteri gram negatif ataupun positif. Salah satu bakteri yang sering di jumpai pada masyarakat adalah bakteri *Escherichia coli*.²

METODE PENELITIAN

1. Destilasi Minyak Atsiri Jeruk Purut

720 gram daun jeruk purut segar di sortasi basah lalu cuci dengan air mengalir dan di tiriskan, daun di remas lalu di peram selama 1 hari pada suhu ruang setelah itu dirajang kecil $\pm 0,5$ cm masukkan ke dalam labu alas bulat kemudian tambahkan air hingga seluruh daun terendam.

Lakukan destilasi dengan alat pemanasan dengan suhu 80° - 100° C, destilasi di hentikan ketika volume minyak atsiri yang keluar tidak bertambah selama 30 menit, minyak atsiri yang di dapat di simpan dalam botol tertutup rapat berwarna gelap dan terlindung dari cahaya⁵.

2. Uji Antioksidan

A. Penentuan *Operating time*

2000 μ L larutan DPPH (40 ppm) dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 400 μ L etanol Baca absorbansinya pada λ 517 nm tiap 1 menit selama 1 jam dan tentukan *operating time* dengan melihat absorbansi paling stabil dengan rentan absorbansi 0,2-0,8⁶.

B. Penentuan Panjang Gelombang DPPH

2000 μL larutan DPPH (40 ppm) dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 400 μL etanol ukur serapan panjang gelombang 400-800 nm, didapatkan panjang gelombang maksimal DPPH⁶.

C. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Konsentrasi minyak atsiri 40 μL , 50 μL , 60 μL , 70 μL , 80 μL , 90 μL , 100 μL . Kemudian ditambahkan larutan DPPH 40 ppm. Setelah campuran dikocok, divortex, diinkubasi dengan hasil OT 1 menit Larutan diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Didapat absorbansi kemudian hitung presentasi aktivitas antioksidan kemudian direplikasi 3x⁶.

D. Perhitungan Persentase Aktivitas Antioksidan

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

E. Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku yaitu menentukan antara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dengan persentase hambatan sebagai sumbu y. Kemudian, ditarik garis

linear sehingga didapatkan persamaan $y = bx + a$.

F. Perhitungan IC_{50} (*Inhibitor Concentration*)

Selanjutnya setelah didapatkan % aktivitas antioksidan dilakukan perhitungan IC_{50} dimana kedalam persamaan $y = bx + a$ dimasukkan y bernilai 50 dan kemudian didapatkan nilai IC_{50} dari perhitungan nilai x⁷.

3. Uji Antibakteri

A. Sterilisasi Alat

bahan dan alat yang tidak tahan pemanasan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. alat tahan pemanasan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam. Pengerjaan uji mikrobiologi dilakukan secara aseptis di dalam lemari LAF (*Laminary Air Flow*) yang sebelumnya telah disinari dengan lampu UV yang dinyalakan 15 menit sebelum digunakan⁸.

B. Pembuatan Media Uji

5 gram Nutrient Agar (NA) dilarutkan dalam 250 ml aquadest kemudian dimasukkan dalam labu erlenmeyer lalu dipanaskan hingga homogen, tutup mulut erlenmeyer dengan menggunakan aluminium foil, sterilkan.

C. Pembuatan standar (Mc. Farland 0,5)

9,95 ml larutan H₂SO₄ 1% lalu campur dengan 0,05 ml BaCl₂ 1% dalam tabung reaksi lalu homogenkan. Kekeruhan suspensi bakteri uji sama dengan kekeruhan suspensi standar, konsentrasi suspensi bakteri adalah lebih dari 1,5x10⁸ CFU/ml⁹.

D. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Sebanyak 2 ose bakteri murni ditambah 2 ml NaCl 0,9% disuspensikan di tabung reaksi steril dan homogenkan. Bandingkan dengan kekeruhan standar 0,5 Mc Farland⁸.

E. Proses Uji Aktivitas Antibakteri

Uji Aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode paper disk , dilakukan dengan cara merendam kertas cakram dalam minyak atsiri dengan berbagai volume yaitu 75 µL, 100 µL, 125 µL dan 150 µL selama 30 menit kemudian kertas cakram ditempelkan pada media agar padat yang berisi suspensi bakteri di atasnya lalu di inkubasi dengan suhu 37°C selama 24

jam diamati dengan melihat diameter zona hambat yang ditandai dengan adanya daerah bening yang mengelilingi kertas cakram¹⁰.

HASIL PENELITIAN

1. Destilasi minyak atsiri

Proses destilasi yang digunakan adalah destilasi air (*Water Destillation*), Karena destilasi air memiliki keuntungan dapat dilakukan dengan menggunakan bahan baku dalam kondisi segar atau kering¹¹. Proses destilasi dilakukan 7 jam sehari sampai tidak ada lagi minyak yang keluar dari kondensor, suhu destilasi di jaga dari 80-100°C. Digunakan suhu 80-100°C dalam proses destilasi dikarenakan titik didih minyak atsiri lebih tinggi daripada air yaitu 150°C.

Selama proses destilasi hasil yang di dapat bukan minyak atsiri murni, melainkan air dengan minyak, hal ini disebabkan karena pada proses destilasi suhu yang digunakan mencapai suhu 100°C yang merupakan titik didih air, sehingga air juga ikut menguap pada proses destilasi tersebut sehingga hasil destilasi yang didapat harus

menggunakan corong pisah untuk memisahkan antara air dengan minyak. Dua jenis cairan antara minyak dengan air ini tidak saling melarutkan hal ini dikarenakan perbedaan berat jenis keduanya, berat jenis minyak atsiri lebih ringan daripada air yaitu 0,86 sehingga dapat dipisahkan dengan corong pisah¹². Total daun jeruk purut yang digunakan untuk destilasi adalah sebanyak 720 gram dan didapatkan minyak atsiri sebanyak 6,5 ml lalu di timbang dan di dapat seberat 5,2 gram minyak atsiri daun jeruk purut. Didapatkan hasil rendemen minyak atsiri daun jeruk purut yaitu 0,72%.

2. Hasil uji antioksidan minyak atsiri jeruk purut

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dan mengetahui presentase nilai aktivitas IC_{50} adalah metode DPPH atau *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* yang merupakan pereaksi yang bersifat radikal bebas. Pada metode ini antioksidan bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, lalu

diukur aktivitas penghambatan radikal bebasnya¹³.

A. Penentuan *Operating time* DPPH

operating time dari DPPH menggunakan panjang gelombang teori yaitu 517 nm⁶. Waktu operasional di tentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan¹. Tujuan ditetapkan *operating time* adalah untuk mengetahui waktu dimana reaksi stabil dan ditandai dengan angka absorbansi yang konstan, dan reaksi yang stabil diperoleh pada penelitian ini yaitu pada menit ke 1-4, sehingga ditetapkan *operating time* pada menit ke-1 pada absorbansi 0,698.

B. Penentuan Panjang Gelombang DPPH

panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar¹⁵. Panjang gelombang maksimal DPPH pada penelitian ini berada pada 517 nm dengan nilai absorbansi 0,698 dari rentang ukuran serapan panjang gelombang 400-800 nm

C. Uji Aktivitas Antioksidan

minyak atsiri daun jeruk purut yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu konsentrasi 40 μL , 50 μL ., 60 μL , 70 μL , 80 μL , 90 μL , 100 μL . Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi hasil orientasi yang memiliki absorbansi pada rentang 0,2-0,8 karena anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal¹.

Larutan DPPH mulanya berwarna ungu setelah bereaksi dengan antioksidan alami akan membentuk warna kuning pucat. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin berkurang dan membentuk warna kuning¹⁵. Masing-masing konsentrasi dari minyak atsiri daun jeruk purut diuji dengan larutan DPPH untuk mengetahui peredaman radikal bebas dan persentase aktivitas antioksidannya.

Berikut ini mekanisme penangkapan aktivitas Sitronelal dan DPPH oleh antioksidan: Masing-masing konsentrasi memberikan nilai

absorbansi DPPH yang berbeda-beda sesuai dengan banyaknya minyak atsiri daun jeruk purut yang digunakan pada berbagai konsentrasi. Semakin besar konsentrasi larutan sampel maka absorbansi DPPH akan semakin kecil dan persentase hambatan antioksidannya semakin besar.

didapatkan nilai r yaitu 0,990. Dari hasil persamaan tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar 75,77 $\mu\text{g/ml}$.Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH minyak atsiri daun jeruk purut dapat dinyatakan dengan parameter EC_{50} (*Effective Concentration*) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50 % Hasil EC_{50} pada penelitian minyak atsiri yaitu 1,894 $\mu\text{g/mL}$.

D. Uji aktivitas antimikroba

Diameter zona hambatan yang dicatat sebagai diameter zona dalam milimeter untuk sampel diberikan pada Tabel II. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 150ul memiliki pengaruh besar terhadap yang lain, jelas

menunjukkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk purut disajikan aktivitas antimikroba terhadap *E. coli*. Penelitian ini dikonfirmasi oleh Warsito⁴ bahwa minyak esensial jeruk purut memiliki konsentrasi hambat minimum 12,5 ul/ ml. Minyak atsiri menunjukkan aktivitas antimikroba yang lemah yang diperoleh dari hidrodistilasi. Hasilnya berkorelasi dengan penelitian lain bakteri gram negatif yang resisten terhadap semua ekstrak jeruk¹⁶. Bakteri gram positif lebih sensitif terhadap minyak atsiri daripada bakteri Gram negatif karena hambatan membran luarnya¹⁷. Tabel tersebut menunjukkan bahwa semakin besar volume minyak atsiri, semakin besar nilai daya hambatnya. Faktor mekanisme inhibitor adalah senyawa Citronella dan Setronelol yang ditemukan dalam minyak esensial daun jeruk purut memiliki efek penghambatan pada bakteri karena minyak esensial bersifat lipofilik sehingga mereka akan melarutkan membran sel bakteri yang terdiri dari fosfolipid dan protein yang berfungsi dalam proses transportasi aktif, perlindungan selektif dan

mengendalikan komposisi kecerdasan sel. Senyawa yang terkandung dalam minyak esensial terikat pada membran sel bakteri, di mana fungsi membran sel menjadi terganggu dan pertumbuhan sel menjadi terhambat¹⁸.

KESIMPULAN

Sebagai kesimpulan, hasil yang disajikan di sini dapat memberikan bukti bahwa minyak atsiri dapat digunakan dalam industri makanan dan bidang lainnya, yang memproses produk alami sebagai antioksidan dan antimikroba. Minyak atsiri memiliki aktivitas yang baik sebagai antioksidan dengan IC_{50} 75,77 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada Kementerian Riset Dan Teknologi Pendidikan Tinggi atas keikutsertaan dalam acara klinik penulisan artikel di Makasar 2018 .

Tabel I. Aktivitas Antioksidan Minyak Jeruk Purut

Sample	Rerata absorbansi	% menghambat	IC ₅₀ (ug.ml ⁻¹)
EOO 40 µL	0,571 ± 0,0005	20,14%	
EOO 50 µL	0,47 ± 0,0031	34,26%	
EOO 60 µL	0,442 ± 0,0014	38,18%	
EOO 70 µL	0,374 ± 0,0051	47,69%	75,77
EOO 80 µL	0,335 ± 0,0057	53,14%	
EOO 90 µL	0,297 ± 0,0046	58,46%	
EOO 100µL	0,227 ± 0,0049	68,25%	

EOO = Minyak Atsiri Jeruk Purut

Tabel II. Aktivitas Antimikroba Minyak Jeruk Purut

Volume Essential Oil	Rerata Daya Hambat (Mm)
75 µL	7,57 ± 0,66
100 µL	8,81 ± 0,82
125 µL	9,84 ± 0,73
150 µL	14,00 ± 0,80

DAFTAR PUSTAKA

1. Ibnu Gholib Gandjar, Abdul Rohman, 2009, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
2. Gulcin I, Oktay M, Kufrevioglu Oi And Aslan A., 2002, Determination Of Antioxidant Activity Of Lichen *Cetraria Islandica* (L) *Ach. J. Ethnopharmacol*, 79: 325-329.
3. Sumonrat Chanthaphon, Suphitchaya Chanthachum, And Tipparat Hongpattarakere, 2008, Antimicrobial Activities Of Essential Oils And Crude Extracts From Tropical Citrus Spp. Against Food-Related Microorganisms, *Songklanakarinn Journal Science And Technology*, 30 (Suppl.1), 125-131.
4. H.A. Abd El-Aal, F.T. Halaweish, 2010, Food Preservative Activity Of Phenolic Compounds In Of Orange Peel Extracts (*Citrus Sinensis* L.), *Lucrari Stiintifice*, 53, Pp.233-240.
5. Hegazy A.E. And Ibrahim M.I., 2012, Antioxidant Activities Of Orange Peel Extracts, *World Applied Sciences Journal*, 18 (5), Pp. 684-688.
6. Febrianti Dwi Rizki, Novia Ariani, Rakhmadhan Niah, Rahmatul Jannah, 2019, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus Reticulata*), *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1) 1-6
7. Milind P. And Dev C., 2012 Orange: Range Of Benefit, *International Research Journal Of Pharmacy*, 3 (7), Pp.59-63

8. Bartosz G., 1997, Oxidative Stress In Plants. *Acta Physiol. Plant.* 19: 47-64.
9. Nurhani Kasuan, Zakariya Muhammad, 2013, Extraction Of Citrus *Hystrix D.C. (Kaffir Lime)* Essential Oil Using Automated Steam Distillation Process: Analysis Of Volatile Compounds, *Malaysian Journal Of Analytical Sciences* 17(3):359-369.
10. Cazzi R, Ricardy R, Aglitti T, Gatta V, Petricone P And De Salvia R., 2007, Ascorbic Acid And B-Carotene As Modulators Of Oxidative Damage. *Carcinogenesis* 18: 223-228.
11. Mamta Arora, Amar Shaheed Baba Ajit Singh, 2013, Antimicrobial & Antioxidant Activity Of Orange Pulp And Peel, *International Journal Of Science And Research (Ijsr)*, Volume 2 Issue 11.
12. Febrianti Dwi Rizki, 2013, Formulasi Sediaan Sabun Mandi Cair Minyak Atsiri Jeruk Purut (*Citrus Hystrix Dc.*) Dengan Kokamidopropil Betain Sebagai Surfaktan, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
13. Mathur A., Satish K. Verma, Purohit R., Gupta V., Vk Dua, Gbks Prasad, Mathu D., Santosh K. Singh And Singh S., 2011, Evaluation Of In Vitro Antimicrobial And Antioxidant Activities Of Peel And Pulp Of Some Citrus Fruits, *Ijpi's Journal Of Biotechnology And Biotherapeutics*, 1 (2), Pp.1-17.
14. Rakhmadhan Niah, Riki Nirwan Baharsyah, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Super (*Hyclocereus Costaricensis*), *Jurnal Pharmascience* 5(1)
15. Canli Kerem, Ergin Murat Altuner And Ilgaz Akata, 2015, Antimicrobial Screening Of *Mnium Stellare*, *A Journal Of The Bangladesh Pharmacological Society*, 10: 321-325.
16. Hamzeh Amiri, 2010, Antioxidant Activity Of The Essential Oil And Methanolic Extract Of *Teucrium Orientale (L.) Subsp. Taylor (Boiss.) Rech. F.*, *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*, 9 (4): 417-423
17. Farag Rs, Badei Az, And El-Baroty Gs., 1989, Antioxidant Activity Of Some Spice Essential Oils On Linoleic Acid Oxidation In Aqueous Media, *J. Am. Oil Chem Soc.* 66: 800-804.
18. Rukmi, I., Baharun, K., Lunggani, A.T., Fachriyah, E., 2013, Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Rimpang Temu Hitam (*Curcuma Aeruginosa Roxb.*) Terhadap *Bacillus Subtills* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro, *Jurnal Biology*, Vol. 2 No.4