

**UJI AKTIVITAS ANTIPIRETIK FRAKSI *n*-HEKSAN KULIT BUAH  
JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing) MENGGUNAKAN  
INDUKSI VAKSIN DPT-HB-Hib PADA MENCIT JANTAN GALUR Balb/c**

*Satrio Wibowo Rahmatullah\**, *Eka Fitri Susiani*, *Muhammad Reza Pahlevi*,  
*Guntur Kurniawan*, *Khairina Maida*

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru

\*: [satriowibowo@stikesborneolestari.ac.id](mailto:satriowibowo@stikesborneolestari.ac.id)

**ABSTRAK**

Jeruk nipis adalah sejenis tanaman perdu yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis pada mencit yang diinduksi vaksin, membuktikan kemampuan antipiretik dari fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis pada mencit yang diinduksi vaksin dan mengetahui dosis fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis yang memiliki aktivitas sebagai antipiretik pada mencit yang diinduksi vaksin. Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok, kelompok I kontrol positif, kelompok II kontrol negatif, kelompok III, IV, V diberikan fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis dengan dosis 0,07%/20gBB, 0,105%/20gBB dan 0,14%/20gBB. Kulit buah jeruk nipis mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloid, triterpenoid/steroid, flavonoid dan kumarin yang memberikan aktivitas antipiretik. Pengukuran suhu tubuh dilakukan sebelum pemberian induksi vaksin DPT-HB-Hib, dan 30 menit sekali setelah perlakuan sampai menit ke-180. Mencit diinduksi demam menggunakan vaksin DPT-HB-Hib secara intramuskular dengan dosis 0,01ml/gBB mencit. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANOVA dan uji Independent T-Test. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis mempunyai aktivitas antipiretik pada konsentrasi 0,07%, 0,105%, dan 0,14% memiliki kemampuan aktivitas sebagai antipiretik yang tidak berbeda signifikan.

**Kata kunci** : Fraksi *N*-Heksan, Kulit Buah Jeruk Nipis, Aktivitas Antipiretik, Vaksin DPT-HB-Hib.

**ABSTRACT**

*Lime is a type of shrub that grows and is developed in Indonesia. The purpose of this study was to determine the activity of *n*-hexane fraction of lime peel in vaccine-induced mice, to prove the antipyretic ability of the *n*-hexane fraction of lime peel in vaccine-induced mice and to determine the dose of *n*-hexane fraction of lime peel which had antipyretic activity in vaccine-induced mice. Total of 25 mice were divided into 5 groups, group I positive control, group II negative control group III, IV, V given *n*-hexane fraction of lime fruit skin with a dose of 0, 07%/20gBB, 0.105%/20gBB and 0.14%/20gBB. The skin of lime fruit contains saponins, tannins, alkaloids, triterpenoids/steroids, flavonoids and coumarins which provide antipyretic activity. Body temperature measurements were carried out before the giving of DPT-HB-Hib vaccine induction, and 30 minutes after treatment until the 180th minute. Mice were induced fever using the DPT-HB-Hib*

*vaccine intramuscularly at a dose of 0.01 ml/g BB of mice. The data obtained were analyzed using the ANOVA test and Independent T-Test. This study concludes that the n-hexane fraction of lime peel has antipyretic activity at concentrations of 0.07%, 0.105%, and 0.14% can act as an antipyretic which is not significantly different.*

**Keywords:** *N-Hexane Fraction, Lime Peel, Antipyretic Activity, DPT-HB-Hib vaccine.*

## PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan rempah-rempah yang digunakan sebagai obat tradisional. Keunggulan dari obat tradisional diantaranya memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat kimia dan banyak ditemui sehingga dapat terjangkau oleh semua kalangan masyarakat<sup>(1)</sup>. Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan adalah jeruk nipis. Kulit buah jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) dapat dikategorikan sebagai limbah yang sangat bermanfaat. Kandungan dari kulit jeruk nipis salah satunya adalah sebagai antipiretik yaitu dengan adanya metabolit sekunder seperti terpen dan kumarin. Menurut Montemayor hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-heksan dari kulit buah jeruk nipis yang paling dominan adalah monoterpen, sesquiterpen, dan kumarin<sup>(2)</sup>. Peneliti lain menyebutkan hasil analisis GC-MS menurut Loizzo

terdapat golongan terpenoid dan konsentrasi paling tinggi ada pada kulit buahnya<sup>(3)</sup>. Menurut Maina terpenoid dapat mencegah pembentukan prostaglandin dengan cara menghambat kerja enzim siklooksigenase<sup>(4)</sup>. Sedangkan mekanisme kumarin sebagai antipiretik menghambat jalur lipoksigenase dan siklooksigenase dari metabolisme arakidonat<sup>(5)</sup>. Jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) adalah tanaman yang berasal dari Asia dan tumbuh subur pada daerah yang beriklim tropis. Klasifikasi tumbuhan jeruk nipis berdasarkan hasil determinasi

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Class : Dicoyledoneae  
Ordo : Sapindales  
Famili : Rutaceae  
Genus : Citrus  
Species : *Citrus aurantifolia*  
(Christm.) Swing

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Timbangan analitik, alat-alat gelas (gelas beaker, labu ukur, corong pisah, corong), batang pengaduk, *stopwatch*, termometer, sonde oral, kertas saring, spuit, kandang mencit, *rotary evaporator*, pipet tetes, penjepit, pinset, *waterbath*, botol kaca, bejana maserasi, cawan porselin, alumunium foil, dan saringan, ulit buah jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing), larutan etanol 96%, *n*-heksan, aquades, parasetamol, Na-CMC, Vaksin DPT-HIB-Hib, tisu, pereaksi Lieberman-Buchard (asam asetat anhidrat dengan asam sukfat pekat), pereaksi Dragendorff (bismut subnitrat dengan asam asetat), pereaksi Mayer (HgCl<sub>2</sub> dengan kalium iodida), pereaksi Wagner (iodin dengan kalium iodida) asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, HCl 2N, Besi (III) klorida 10%, dan serbuk magnesium.

### **Determinasi Tanaman Jeruk Nipis**

Determinasi dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam bagian Biologi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru Kalimantan Selatan.

### **Proses Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis**

Kulit buah jeruk nipis dikumpulkan, disortasi basah dan dilakukan pencucian. Kulit buah jeruk nipis yang sudah bersih dirajang dan dikeringkan di bawah sinar matahari Kulit buah jeruk nipis yang kering kemudian dihaluskan dan diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:4 selama 3x24 jam. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Setelah itu ekstrak cair diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak cair kemudian dipanaskan di atas *waterbath* hingga didapat ekstrak kental dengan bobot tetap.

### **Proses Pembuatan Fraksi N-Heksan Kulit Buah Jeruk Nipis**

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut air dan *n*-heksan. Ekstrak ditimbang sebanyak 30 gram lalu dilarutkan menggunakan

aquades 100 ml aduk sampai homogen kemudian masukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 1:1 *n*-heksan. Gojok dengan sekali-kali membuka corong buchner untuk menghilangkan gas selama kurang lebih 2 menit. Diamkan corong pisah selama kurang lebih 10 menit atau hingga terbentuk dua lapisan. Keluarkan fraksi air dan tampung fraksi *n*-heksan. Setelah terbentuk dua lapisan, fraksi *n*-heksan diuapkan kembali menggunakan *waterbath* dengan suhu 50°C sampai didapat fraksi kental. Proses fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

### **Pemeriksaan Skrining Fitokimia**

#### **Uji Alkaloid**

Sampel uji ditimbang sebanyak 0,05 gram kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloida, diambil 3 tabung reaksi, lalu kedalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda (Pereaksi Mayer, Wagner, Dragendorff). Alkaloid positif jika

terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi yang pertama, dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi yang kedua dan ketiga.

#### **Pemeriksaan Flavonoid**

Fraksi *n*-heksan sebanyak 0,05 gram ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, kedalam filtrat ditambahkan 0,05 gram serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat dikocok. Flavonoid positif jika larutan berwarna merah atau kuning atau jingga.

#### **Pemeriksaan Saponin**

Fraksi *n*-heksan ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan, dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan HCl 2N, buih akan hilang.

#### **Pemeriksaan Polifenol dan Tanin**

Fraksi *n*-heksan ditambahkan dengan 1 mL larutan Fe (III) klorida 10%. Jika terbentuk warna biru tua,

biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa polifenol dan tannin.

### **Pemeriksaan Sterol dan Triterpenoid**

Fraksi *n*-heksan dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila terbentuk warna hijau kebiruan maka, menunjukkan adanya steroid. Apabila cincin kecoklatan atau violet maka, menunjukkan adanya triterpenoid.

### **Pemeriksaan Kumarin**

Fraksi *n*-heksan sebanyak 0,05 gram diuapkan sampai kering tambahkan air panas dan dinginkan. Setelah dingin bagi menjadi dua tabung. Tabung I diberi ammonia 10% dan tabung II sebagai pembanding. Dan dilihat di bawah lampu UV, apabila terdapat fluoresensi kuning kehijauan dan kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

### **Pengujian Fraksi *n*-Heksan Kulit Buah Jeruk Nipis (*C. aurantifolia***

### **(Christm.) Swing) Sebagai Antipiretik**

Pengujian dilakukan pada 5 kelompok perlakuan yang berisi 5 ekor mencit dalam 1 kelompok perlakuan. Kelompok pertama diberikan kontrol negatif yaitu larutan Na-CMC 0,5%, kelompok kedua diberikan kontrol positif yaitu larutan paracetamol, dan pada kelompok ketiga sampai dengan kelompok kelima diberikan ekstrak etanol 96% kulit buah jeruk nipis dengan dosis 0,07% / 20 gram BB, 0,105% / 20 gram BB, dan 0,14% / 20 gram BB. Dosis tersebut dipilih berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Widyasari & Ratiningsih (2017), yang menggunakan dosis 0,5%, 0,75%, dan 1% pada ekstrak etanol 96% kulit buah jeruk manis menggunakan tikus putih, yang kemudian dilakukan konversi dosis ke hewan uji mencit. Sebelum diberikan perlakuan, suhu rektal semua mencit diukur terlebih dahulu menggunakan termometer digital.

Setelah dilakukan pengukuran suhu, mencit diinduksi menggunakan vaksin DPT secara intramuskular dengan dosis 0,01 ml/gram BB

mencit. Setelah 3 jam, suhu rektal mencit diukur kembali menggunakan termometer digital. Mencit yang demam diberikan sesuai dengan pembagian kelompok perlakuannya. Suhu mencit kembali diukur setiap interval waktu 30 menit, dan pengukuran dilakukan hingga menit ke-180.

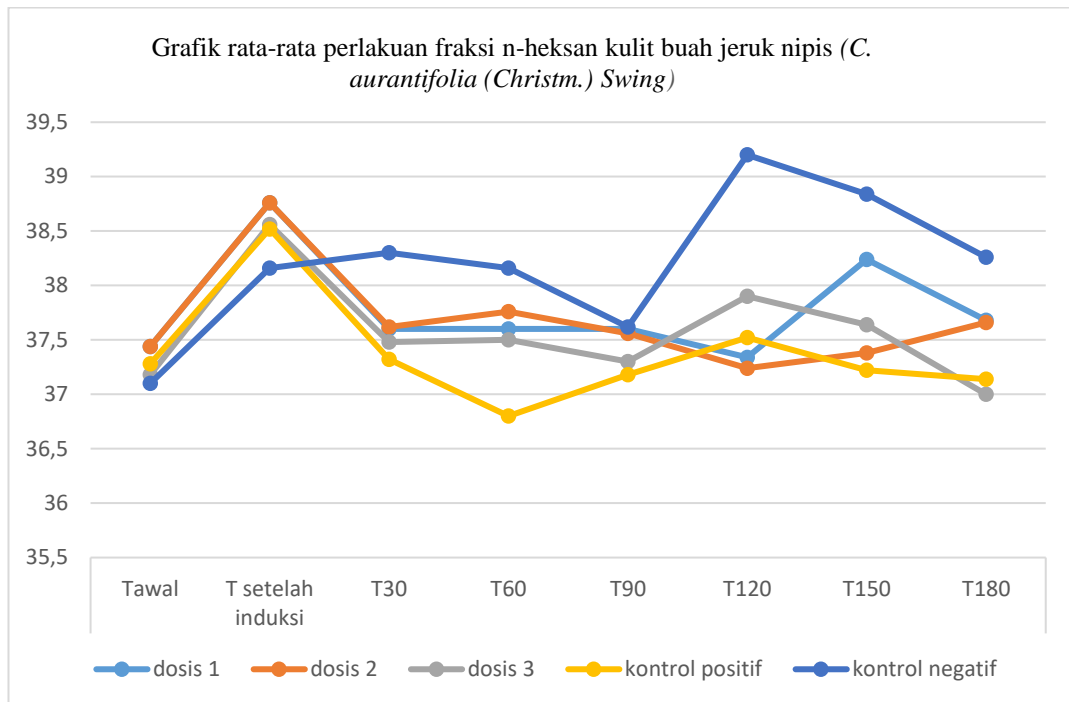
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit buah jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) segar diproses menjadi simplisia kering dan diperoleh persentase rendemen 38,46%. Kemudian serbuk kering kulit buah jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) di ekstraksi dengan metode maserasi sebanyak 500 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 L (1:4) diperoleh persentase rendemen 10,48%. Dilanjutkan dengan proses fraksinasi menggunakan cara ECC . Ekstrak ditimbang sebanyak 30 gram lalu dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml aduk sampai homogen kemudian masukkan kedalam corong pisah ditambahkan *n*-heksan dengan perbandingan 1:4. Lapisan atas yaitu

*n*-heksan sedangkan air pada lapisan bawah. Hasil fraksi kental yang didapat sebanyak 0,58 gram dan nilai randemen yang didapat adalah 1,25%.

Ekstrak ditimbang sebanyak 30 gram lalu dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml aduk sampai homogen kemudian masukkan kedalam corong pisah ditambahkan *n*-heksan dengan perbandingan 1:4. Hasil fraksi kental yang didapat sebanyak 0,58 gram dan nilai randemen yang didapat adalah 1,25%. Fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) kemudian dilakukan skrining fitokimia, yaitu positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, flavonoid, kumarin, triterpenoid dan steroid. Hasil skrining fitokimia dari fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis positif mengandung saponin, tannin, alkaloid, flavonoid, kumarin, triterpenoid dan steroid.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antipiretik fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis, diperoleh hasil yang digambarkan dalam grafik yang dapat dilihat pada gambar Gambar 1.



**Gambar 1. Grafik rata-rata 5 perlakuan**

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa hasil pengukuran rata-rata suhu tubuh menciit setiap 30 menit menjelaskan bahwa penurunan suhu rektal menciit yang diinduksi vaksin DPT-HB-Hib terlihat bahwa kontrol negatif dari menit ke-30 sampai menit ke-180 tetap tidak dapat menurunkan suhu tubuh, sedangkan pada perlakuan fraksi *n*-heksan dengan 3 dosis berbeda yaitu 0,07%, 0,105% dan 0,14% tidak jauh berbeda dengan kontrol positif suspensi parasetamol. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan tidak jauh berbeda dengan parasetamol yaitu dapat menurunkan suhu tubuh.

Selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan SPSS. Pengujian pertama yang dilakukan adalah menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji ini dilakukan untuk melihat dan mengetahui sebaran data yang diperoleh normal atau tidak. Berdasarkan dari uji *Shapiro-Wilk*, nilai sig yang diperoleh pada 5 kelompok perlakuan dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Hal ini dikarenakan semua nilai sig yang diperoleh secara berturut-turut adalah 0,746, 0,834, 0,067, 0,644 dan 0,967 yang artinya nilai sig tersebut  $>0,05$ . Setelah itu dilanjutkan dengan uji *Levene* yang

ditujukan untuk melihat dan mengetahui homogenitas pada data yang diperoleh.

Berdasarkan uji *Levene*, nilai sig yang diperoleh adalah 0,129 ( $>0,05$ ). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa data yang dihasilkan adalah data yang homogen. Karena data yang dihasilkan adalah terdistribusi normal dan homogen, maka uji selanjutnya digunakan adalah uji parametrik yaitu uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Berdasarkan uji ANOVA diperoleh hasil sig 0,000 yang dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan suhu yang bermakna dari 5 kelompok perlakuan yang dilakukan. Berdasarkan hasil pengamatan pada dosis 3 yaitu 0,14% terlihat tidak berbeda dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan pada dosis 3 memiliki konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan dua dosis sebelumnya. Oleh karena itu dilakukan uji Independen T-Test untuk melihat perbandingan antar 2 kelompok perlakuan. Pengujian dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada perlakuan dosis 3 dengan kontrol positif yaitu parasetamol dan dosis 3

dengan kontrol negatif yaitu Na-CMC. Dan dilihat dari hasil analisis data pada tabel *Tukey* HSD, dapat diketahui bahwa 3 dosis fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis yang digunakan tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan parasetamol karena nilai sig yang diperoleh memiliki angka  $>0,05$  dan memiliki perbedaan yang signifikan dengan Na-CMC karena nilai sig yang diperoleh memiliki angka  $<0,05$ , sehingga dosis fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis yang digunakan dapat dianggap efektif untuk menurunkan demam.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa Fraksi *n*-heksan kulit buah jeruk nipis memiliki aktivitas sebagai antipiretik pada mencit yang diinduksi vaksin DPT-HB-Hib. Ketiga dosis yang digunakan memiliki aktivitas antipiretik dan dosis yang memiliki aktivitas tertinggi adalah dosis 3 (0,14%/20gBB) dibandingkan dengan dosis 1 (0,07%/20gBB) dan dosis 2 (0,105%/20gBB). Fraksi *n*-

heksan kulit buah jeruk nipis positif mengandung saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, dan kumarin.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Widowati, A.K, Nur H, H, Eti P. P. 2012. Efek Antipiretik Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantii folium*) Pada Tikus Putih. *Jurnal Biofarmasi*. 10 (2) : 35-39
2. Montemayor, N E S. Abraham, G. Elizabeth, E. Elvira G, G. Laura, A. María d, R. Camacho, C. 2012. Chemical Composition of Hexane Extract of *Citrus aurantifolia* and Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Activity of Some of Its Constituents. *Molecules*. 11173-11184
3. Loizzo, M, R. Rosa, T, Marco, B, Federica, M, Damiano, DL, Carmela, C, Francesco, M. 2012. Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Research Article*. 2960-2967
4. Maina S G, Mwangi B, Maina, Njagi J. M, Mworio J. Kiambi, Juma K. Kelvin, Aliyu Umar, Mwonjoria K J, Njoroge W. A, Ngugi M. P, Mburu N. D. 2015. Antipyretic Properties of Dichloromethane: Methanolic Leaf and Root Bark Extracts of *Carissa edulis* in Rats. *Department of Biochemistry and Biotechnology*. Kenyatta University. 13-20
5. Ahmad, R , Mohammad, A , Zeba N S, Anil K. 2013. Evaluation Of Antipyretic and Antinociceptive Potential Of New Heterocyclic Derivates Of 3 - Formyl - 4 - Hydroxycoumarin In Rats. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS)*. 3 (5) : 253-259