

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SIRUP EKSTRAK ETANOL
KULIT BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima* Merr.)
TERHADAP PEROKSIDASI LIPID PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI KARBON
TETRAKLORIDA**

*ANTIOXIDANT ACTIVITY of ETHANOL EXTRACT SYRUP of
GRAPEFRUIT PEEL (*Citrus maxima* Merr.) on LIPID
PEROXIDATION IN RATS (*Rattus novergicus*) INDUCED
CARBON TETRACHLORIDE*

SURYANITA



**SEKOLAH PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2018



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SIRUP EKSTRAK ETANOL
KULIT BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima* Merr.)
TERHADAP PEROKSIDASI LIPID PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI KARBON
TETRAKLORIDA**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

SURYANITA

Kepada

SEKOLAH PASCA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2018



TESIS

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SIRUP EKSTRAK ETANOL
KULIT BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima* Merr.)
TERHADAP PEROKSIDASI LIPID PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI KARBON
TETRAKLORIDA**

Disusun dan diajukan oleh

SURYANITA
Nomor Pokok : P2501216401

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 4 Desember 2018

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat

Dr. Aliyah, M.S., Apt

Ketua

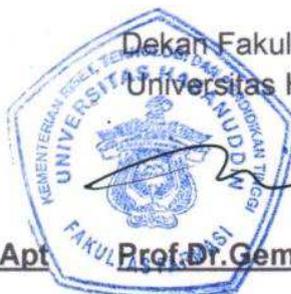
Yulia Yusrini Djajir, M.Si., M.BM.Sc., Ph.D., Apt

Anggota

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Farmasi

Dr. Latifah Rahman, D.E.S.S., Apt

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : SURYANITA

Nomor mahasiswa : P2501216401

Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 4 Desember 2018

Yang menyatakan

SURYANITA



PRAKATA



Puji dan syukur kehadiran Allah swt. atas segala limpahan rahmat dan hidayah yang telah di berikan, serta shalawat dan salam tercurahkan kepada Rasulullah saw, keluarga dan sahabatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusun tesis ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ibu Dr. Aliyah, M.S., Apt. sebagai pembimbing utama, dan ibu Yulia Yusrini Djabir, M.Si., MBM.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberikan arahan, membagi ilmunya, menyumbangkan pikiran dan tenaga dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga selesainya tesis ini.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, D.E.A.,Apt., Ibu Dr. Latifah Rahman, M.S., Apt., dan ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si.,Apt. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat membantu dalam perbaikan dan sempurnanya tesis ini.



3. Dekan Fakultas Farmasi Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. dan segenap Wakil Dekan Fakultas Farmasi, atas ilmu dan bantuannya yang telah diberikan kepada kami selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Ketua program studi magister ilmu farmasi dan penasehat akademik yang telah membimbing penulis selama perkuliahan.
5. Bapak ibu Dosen Fakultas Farmasi dan seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala ilmu dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
6. Stikes Nani Hasanuddin Makassar khususnya Program Studi DIII Farmasi yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
7. Pihak BUDI-DN LPDP yang berperan penting dalam hal pendanaan.
8. Teman-teman seperjuangan Magister Ilmu Farmasi angkatan 2016.
9. Suami tercinta Muh.Asri,SR dan ibunda tersayang Nursia Lamarrang beserta seluruh keluarga besar yang terus memberi motivasi dan dorongan moril maupun materil.

Akhirnya penulis berharap semoga amal baik dari semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini mendapatkan balasan pahala dan rahmat Allah *swt*. Semoga apa yang telah ditulis dalam tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Makassar, 4 Desember 2018

SURYANITA



ABSTRAK

Suryanita. Uji Aktivitas Antioksidan Sirup Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) Terhadap Peroksidasi Lipid Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (dibimbing oleh Aliyah dan Yulia Yusrini Djabir)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali secara *invitro* serta mengetahui aktivitas antioksidan sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali secara *in vivo* pada hewan uji tikus.

Tahapan penelitian ini yaitu: (1) membuat ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali yang kemudian dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif serta pengujian aktivitas antioksidan yang dibandingkan dengan asam askorbat secara *in vitro* menggunakan pereaksi DPPH; (2) membuat sediaan sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali yang mengandung 1% ekstrak (F1), 2% ekstrak (F2), 3% ekstrak (F3), dan tanpa ekstrak kulit buah jeruk Bali (F4) sebagai kontrol negatif; (3) menguji stabilitas sediaan sirup sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat selama 12 siklus, (4) sirup dengan stabilitas terbaik diuji aktivitas penghambatan peroksidasi lipidnya secara *in vivo* dengan paramater kadar MDA plasma darah pada tikus putih yang diinduksi Karbon Tetraklorida.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kulit buah jeruk Bali mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid/steroid, saponin dan tanin dengan kadar fenolik total 4,96% dan kadar flavonoid total 0,34%, serta memiliki nilai IC_{50} yang lebih lemah dari asam askorbat, nilai IC_{50} dari ekstrak kulit buah jeruk Bali adalah 574,02 bpj sedangkan asam askorbat adalah 4,63 bpj. Hasil uji kestabilan terhadap sirup menunjukkan bahwa F3 memiliki kestabilan paling baik. Adapun hasil uji secara *in vivo*, F3 menunjukkan penurunan kadar MDA plasma darah tikus yang berbeda nyata dengan kontrol negatif dan ekstrak kulit buah jeruk Bali ($p < 0,05$).

Kata kunci: Kulit buah jeruk Bali, antioksidan, DPPH, sediaan sirup, *malondialdehid* (MDA)



ABSTRACT

Suryanita. *Antioxidant Activity of Ethanol Extract Syrup of Grapefruit Peel (Citrus maxima Merr.) on Lipid Peroxidation in Rats (Rattus Novergicus) Induced Carbon Tetrachloride* (supervised by **Aliyah** dan **Yulia Yusrini Djabir**)

This study aimed to determine the chemical content and antioxidant activity of ethanol extract of grapefruit peel *in vitro* and to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of grapefruit peel syrup formulation *in vivo* using rat model.

The stages of this research were: (1) preparation of ethanol extract of grapefruit peel, which then analyzed organoleptically, qualitatively and quantitatively. The antioxidant activity test was performed *in vitro* using DPPH reagent with ascorbic acid as comparison; (2) formulation of grapefruit peel extract in syrup preparations contained 1% of extract (F1), 2% extract (F2), 3% extract (F3), and that did not contain extract of grapefruit (F4) for negative control; (3) testing the stability of syrup preparations before and after accelerated storage condition for 12 cycles; (4) inhibition of lipid proxidation activity was tested on the syrup formula with superior stability using MDA plasma level as parameter in rats that was induced with Carbon Tetrachloride.

The results showed the extract of grapefruit peel contained phenols, flavonoids, alkaloids, terpenoids / steroids, saponins and tannins with total phenolic value of grapefruit peel extract was 4.96% and total flavonoid was 0.34%, and it had IC₅₀ value much weaker than ascorbic acid the (574.02 vs 4.63 ppm). The evaluation results of syrup preparations on each formula showed that F3 had the best stability. The results of the *in vivo* test showed a decrease in rat plasma blood MDA levels in F3, which was significantly different from negative control and grapefruit peel extract ($p < 0.05$).

Keywords: grapefruit peel, antioxidant, DPPH, syrup preparation, malondialdehyde (MDA)



DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Kegunaan Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Uraian Tanaman Jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	9
B. Ekstrak dan Ekstraksi	12
C. Tinjauan Tentang Sirup	15
D. Uraian Tentang Bahan Tambahan	18
E. Uraian Tentang Peroksidasi Lipid	23
F. Uraian Tentang Karbon Tetraklorida (CCl ₄)	26
G. Uraian Tentang Antioksidan	27
rangka Teori	29
rangka Konsep	30



J. Hipotesis	30
III.METODELOGI PENELITIAN	31
A. Desain Penelitian	31
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	31
C. Alat dan Bahan Penelitian	31
D. Prosedur Penelitian	32
E. Analisis Data	49
IV.HASIL DAN PEMBAHASAN	50
A. Uji organoleptik, kualitatif dan kuantitatif ekstrak kulit buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	50
B. Pengujian secara <i>in vitro</i> pada uji aktivitas antioksidan dengan pereaksi DPPH	59
C. Uji evaluasi formula sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali	61
D. Pengujian secara <i>in vivo</i> dengan pengukuran kadar MDA plasma darah	68
E. Limitasi Penelitian	72
V.PENUTUP	73
A. Kesimpulan	73
B. Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	82



DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Rancangan formulasi sirup antioksidan ekstrak kulit buah jeruk Bali	42
2.	Kelompok perlakuan analisis Kadar MDA plasma darah	46
3.	Pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali	50
4.	Analisis kualitatif dengan pereaksi kimia	52
5.	Hasil pengukuran kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol kulit buah Jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	58
6.	Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dengan pereaksi DPPH	60
7.	Hasil pengujian organoleptik formula sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	62
8.	Hasil pengujian viskositas formula sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	64
9.	Hasil pengujian pH formula sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	66
10.	Kadar MDA plasma darah tikus	94



DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Pohon jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	10
2.	Kulit buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	11
3.	Buah jeruk Bali (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	11
4.	Struktur kimia sukrosa	19
5.	Struktur kimia natrium benzoat	21
6.	Struktur kimia gliserin	22
7.	Struktur kimia asam sitrat	22
8.	Mekanisme peroksidasi lipid	24
9.	Struktur kimia karbon tetraklorida	27
10.	Bagan kerangka teori	29
11.	Bagan kerangka konsep	30
12.	Hasil perbandingan KLT ekstrak kulit buah jeruk Bali dan rutin pada sinar UV 254 nm	55
13.	Kurva kalibrasi asam galat	57
14.	Kurva kalibrasi kuersetin	58
15.	Sediaan sirup sebelum penyimpanan	63
16.	Sediaan sirup setelah penyimpanan	63
17.	Diagram nilai viskositas sediaan sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat	65
18.	Diagram nilai pH sediaan sirup ekstrak kulit buah jeruk Bali sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat	67

Diagram rata-rata kadar MDA plasma dengan pemberian F4 (sirup tanpa ekstrak), E (suspensi ekstrak 3%), dan F3 (sirup yang mengandung ekstrak 3%) pada



saat sebelum perlakuan, setelah induksi CCl_4 dan setelah perlakuan 15 hari

69



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman	
1.	Skema kerja penelitian	82
2.	Perhitungan dosis CCl_4 (Karbon Tetra Klorida)	85
3.	Perhitungan dosis suspensi ekstrak	85
4.	Perhitungan dosis sediaan sirup ekstrak	85
5.	volume pemberian peroral pada tikus	86
6.	Pengukuran kadar fenolik total pada panjang gelombang 765 nm dan flavonoid total pada panjang gelombang 425 nm ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali	86
7.	Penetapan penghambatan DPPH terhadap asam askorbat menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm	89
8.	Penetapan penghambatan DPPH terhadap ekstrak kulit buah jeruk Bali menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm	90
9.	Hasil pengukuran standar TMP menggunakan spektrofotometri UV-Vis	92
10.	Hasil pengukuran serapan MDA plasma darah tikus	95
11.	Hasil analisis data secara deskriptif menggunakan program SPSS versi 20.0	98
12.	Dokumentasi penelitian	101
13.	Kode etik	107



DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
μg	Mikrogram
AAI	Antioxidant Activity Index (menggolongkan sifat antioksidan)
AlCl_3	Aluminium klorida
b/b	bobot per bobot
b/v	bobot per volume
bpj	Bagian per juta
CCl_4	Karbon Tetraklorida
Cps	centipoise
CYP2E1	sitokrom P450 2E1
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
DPPH	1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil
F1	Formula 1
F2	Formula 2
F3	Formula 3
F4	Formula 4
FeCl_3	Feri klorida
GAE	Asam galat
	Asam sulfat
	Hidrogen klorida



IC ₅₀	konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebanyak 50% (Inhibitory Concentration)
Kg	Kilogram
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
MDA	Malondialdehid
mg	Miligram
ml	Milliter
mM	millimolar
Na ₂ CO ₃	Sodium karbonat
NaOH	Natrium Hidroksida
p.a	pro analisis
pH	potensial hidrogen
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
QE	Kuarsetin
SOD	Superoksida dismutase
TBA	Tiobarbiturat
TCA	trichloroasetat acid
TMP	1,1,3,3-trimetoksiopropana



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul atau atom apa saja yang tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Sibuea, 2004). Radikal bebas ini berbahaya, karena amat reaktif mencari pasangan elektronnya. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas yang baru melalui reaksi berantai yang akhirnya jumlahnya terus bertambah dan menyerang sel-sel tubuh sehingga akan terjadi kerusakan jaringan (Sibuea, 2004). Tubuh secara terus menerus membentuk radikal oksigen dan spesies reaktif lainnya, terutama dihasilkan oleh netrofil, makrofag dan sistem xantin oksidase (Khlifi *et al.*, 2005).

Beberapa kerusakan yang dapat timbul akibat serangan radikal bebas antara lain kerusakan protein, DNA, peroksidasi lipid, kerusakan membran sel, terutama penyusun membran sel berupa asam lemak tidak jenuh yang merupakan bagian dari fosfolipid sertaprotein, menimbulkan autoimun,dan menyebabkan penyakit degeneratif. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas umumnya bersifat kronis, yaitu an waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata akumulasi dalam tubuh). Contoh penyakit yang sering



dihubungkan dengan radikal bebas adalah penyakit jantung koroner dan kanker, akan tetapi, keberadaan radikal bebas tidak selamanya berbahaya bagi tubuh. Misalnya, radikal bebas berperan dalam pencegahan penyakit yang disebabkan mikroba melalui sel-sel darah khusus (Tuminah,2000).

Membran lemak sangat rawan terhadap serangan radikal bebas terutama radikal hidroksil, sehingga dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak adalah reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolemak membran sel dengan senyawa oksigen reaktif membentuk hidroperoksida (Dean *et al.*, 1997). Asam lemak utama yang mengalami peroksidasi lemak di dalam membran sel adalah asam lemak *polyunsaturated*. Akibat akhir dari peroksidasi lemak ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel seperti malondialdehid (MDA) (Marks *et al.*,2000).

MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas. Akibat dari reaksi peroksidasi lemak yang terus menerus, dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, dan penyakit degeneratif lainnya (Suryohudoyo, 1993). Jumlah peroksidasi lemak dalam tubuh tidak boleh melebihi kadar normalnya, yaitu

nL (Yagi, 1994).



Karbon tetraklorida (CCl_4) adalah xenobiotik yang umum digunakan untuk menginduksi toksisitas pada hewan uji. Senyawa ini dikenal sebagai hepatotoksin (Sahreen *et al.*, 2011), nephrotoksin (Khan *et al.*, 2010), dan toksin pulmonal (Ahmad *et al.*, 2013) dan juga menyebabkan luka pada organ lain. Telah ditunjukkan bahwa stress oksidatif yang disebabkan oleh CCl_4 adalah karena produksi radikal bebas reaktif seperti hidrogen peroksida, radikal hidroksil, super oksida, nitrit peroksida dan banyak radikal lainnya (Adewole *et al.*, 2007).

Dalam keadaan normal, radikal bebas yang diproduksi di dalam tubuh dapat dinetralisir oleh antioksidan yang berada di dalam tubuh, namun kadar radikal bebas terlalu tinggi karena pengaruh dari luar tubuh seperti polusi udara, asap rokok, dan aktivitas fisik berat, maka antioksidan dalam tubuh tidak mampu lagi menetralsir sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh (Hamid, 2010). Antioksidan didefinisikan sebagai suatu substansi yang dapat menunda, mencegah, atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target, seperti protein, lipida dan DNA (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Sumber antioksidan alami umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan. Senyawa fenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti. Flavonoid memiliki kemampuan untuk



meredam atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra *et al.*, 2008).

Flavonoid memiliki berbagai macam sifat terapeutik, termasuk antikanker, antivirus, antiinflamasi dan kemampuan untuk menghambat agregasi trombosit pada manusia (Alam *et al.*, 2014). Hesperidin dan naringin bermanfaat untuk memperbaiki kondisi hiperlipidemia dan hiperglikemia pada hewan diabetes tipe 2 dengan mengatur asam lemak dan metabolisme kolesterol yang mempengaruhi enzim pengatur glukosa (Jung *et al.*, 2006).

Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami adalah kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.). Dimasyarakat, kulit buah jeruk Bali digunakan untuk mengeluarkan dahak, menghentikan batuk, mengatur arus energi vital dan meredakan nyeri serta membantu meringankan tekanan darah tinggi yang ringan (Orwa, 2009).

Kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) mengandung senyawa flavonoid yaitu naringin dan hesperidin (Choi *et al.*, 2007). Hal ini dibuktikan berdasarkan penelitian yang dilakukan Dianingati *et al.* (2013) terhadap kandungan ekstrak etanol kulit jeruk Bali dengan metode kromatografi lapis tipis, terlihat bahwa kandungan senyawa flavonoid

terkandung dalam ekstrak jeruk Bali yaitu rutin, naringin, dan hesperidin.



Rafsanjani dan Putri (2015) meneliti tentang perbandingan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, ekstrak air dan ekstrak etil asetat kulit jeruk Bali diperoleh nilai aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk Bali yang diekstraksi dengan pelarut etanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang menggunakan pelarut air dan pelarut etil asetat. Aktivitas antioksidan pada pelarut etanol yaitu 91,24%, dan total fenol 2820,72 μ g/g.

Selanjutnya Chowdhury *et al.* (2015) membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk Bali pada konsentrasi 0,5% memiliki efek hepatoprotektif terhadap tikus yang diinduksi dengan CCl₄, adanya senyawa antioksidan bertanggung jawab terhadap efektivitas serbuk kulit jeruk Bali pada gangguan hati tikus tersebut. Selain itu, Naringin (flavonoid yang berasal dari kulit jeruk Bali) memiliki efek hipotensif (menurunkan tekanan darah) pada kucing. Naringin yang diberikan dengan dosis 2mg/kgBB menunjukkan penurunan tekanan darah rata-rata sebesar 61% pada menit ke-150, sedangkan pada dosis 1mg/kgBB dan 0,5mg/kgBB menunjukkan penurunan tekanan darah rata-rata pada menit ke-60 sebesar 29% dan 16% (Widaryanto, 2002). Sebuah penelitian lain juga menunjukkan bahwa tikus yang diberi ekstrak kulit jeruk Bali hingga dosis 2000 mg/kgBB tidak menyebabkan kematian pada hewan uji. Ini menegaskan bahwa kulit jeruk Bali tidak bersifat (Lundusen, 2011).



Untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu zat, dapat dilakukan beberapa uji, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* dapat dilakukan dengan salah satu metode uji yang menggunakan pereaksi DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil). Metode ini banyak digunakan karena pelaksanaannya mudah, sederhana, cepat, peka, serta hanya membutuhkan sedikit pereaksi DPPH dan sampel (Molyneux, 2004). Pengujian secara *in vivo* dilakukan antara lain, dengan mengukur kadar malondialdehid (MDA). Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya akitivitas antioksidan dan tingginya kadar MDA (Dagli *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kulit buah jeruk Bali, mendorong peneliti untuk mengembangkan penelitian tentang ekstrak kulit buah jeruk Bali dalam bentuk formulasi minuman kesehatan untuk menghasilkan pangan fungsional bagi masyarakat. Meskipun mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, pangan fungsional tidak berbentuk kapsul, tablet atau bubuk yang berasal dari senyawa alami (Winarti dan Nurdjanah), oleh sebab itu, bentuk sediaan yang dipilih dalam penelitian ini adalah sediaan sirup, karena sirup dapat menutupi rasa pahit yang terdapat pada kulit buah jeruk Bali. Selain itu sirup juga merupakan bentuk sediaan cair yang mempunyai nilai lebih, antara lain dapat digunakan oleh hampir semua dapat diabsorpsi, sehingga cepat menimbulkan efek (Ansel, 1989).



B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana karakteristik kandungan kimia dari ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali
2. Apakah ekstrak etanol kulit buah Jeruk Bali memiliki aktivitas antioksidan
3. Apakah ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali dapat dibuat sediaan sirup yang stabil
4. Apakah sediaan sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali memiliki efek terhadap kadar *Malondialdehid* (MDA) plasma darah tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas, maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk :

1. Menentukan karakteristik kandungan kimia dari ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali
2. Menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali menggunakan pereaksi DPPH
3. Membuat sediaan sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali yang stabil
4. Menguji aktivitas sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali terhadap *Malondialdehid* (MDA) plasma darah tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)



5. Kegunaan Penelitian

Untuk mengembangkan pemanfaatan tanaman obat dengan membuat formulasi sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali sebagai antioksidan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.)

1. Klasifikasi Tanaman (Qonitah,2013)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisio	: <i>Spermatophyta</i>
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub-kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Familia	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus maxima</i> (Burm Fz.) Merr.

2. Nama Daerah

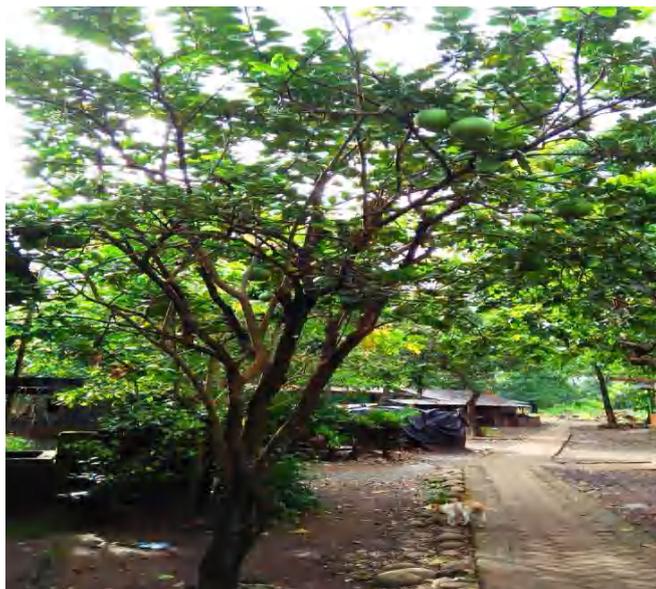
(Sumatra) Boh giri, munter; (Aceh) nagiri; (Batak Toba) limau kesembeu; (Nias) dima kasumba; (Minangkabau) limau gadang; (Lampung) limau balak; (Sunda) Jeruk dalima; (Jawa) jeruk adas, jeruk adura) jeruk macan; (Bali) jeruk muntis, jerati, muntis; (Flores) ; (Ende) muda tapo; (Gorontalo) limu bunga; (Sulawesi) limu



sumba; (Seram) muda kokor; (Halmahera) pahit bagut; (Irian) Jodi (BPOM RI, 2008).

3. Morfologi Tanaman

Jeruk merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Asia Tenggara, salah satunya di Indonesia. Seperti, Jeruk Bali atau *Citrus maxima*. Jeruk Bali merupakan pohon dengan tinggi 10 meter, terdapat duri pada cabang yang muda. Daun berwarna hijau gelap, bagian atasnya mengkilap (BPOM RI, 2008).



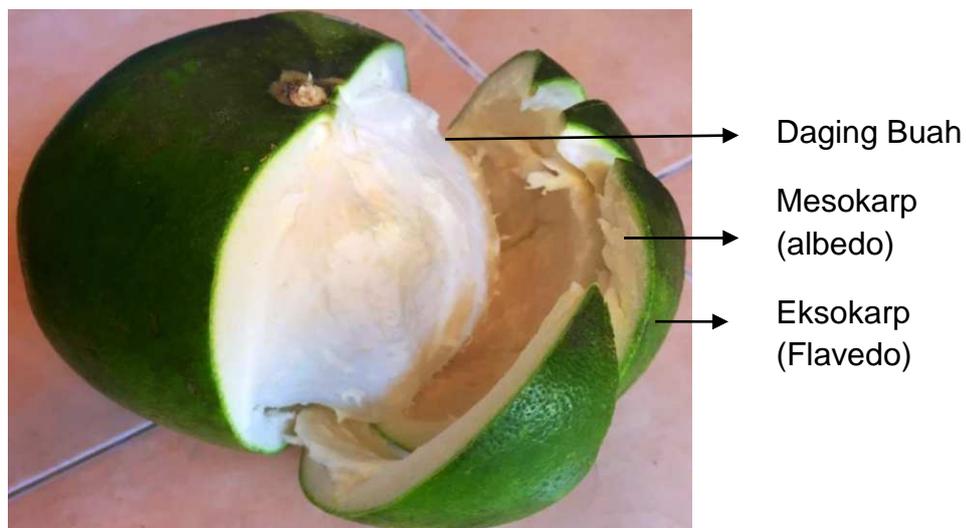
Gambar 1. Pohon jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.)
Sumber : Koleksi Pribadi

Daging buah berwarna kuning muda pucat sampai merah muda, manis. Termasuk jenis jeruk paling besar dengan diameter 30 berat \pm 10 kg. Kulit buah tanaman jeruk Bali berwarna hijau, pori-pori besar dan berasa pahit (BPOM RI, 2008).





Gambar 2. Kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.)
Sumber : Koleksi Pribadi



Gambar 3. Buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.)
Sumber : Koleksi Pribadi

4. Kandungan Kimia Kulit Buah Jeruk Bali



Kulit buah jeruk Bali mengandung senyawa flavonoid naringin
esperidin, diterpen, linalol, sitral, limonen, vitamin A, B, C,

rhamnosa, asam sitrat, pectin dan minyak lemak, alfa-terpinen, alfa-pinen, seskuiterpen hidrokarbon (BPOM RI, 2008 dan Choi *et al.*,2007).

5. Kegunaan Kulit Buah Jeruk Bali

Kulit buah jeruk Bali berkhasiat mengeluarkan dahak, menghentikan batuk, mengatur arus energi vital dan meredakan nyeri (Orwa, 2009). Membantu meringankan tekanan darah tinggi yang ringan. Dosis yang digunakan untuk pemberian oral adalah 3-10 gram kulit buah dibuat dekok (direbus) (BPOM RI, 2008).

B. Ekstrak dan Ekstraksi

1. Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara penarikan zat aktif dari simplisia hewani atau nabati menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan sehingga mencapai konsistensi encer, kental sampai kering hingga memenuhi standarisasi yang telah ditetapkan (DepKes RI, 1995).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut yang sesuai. Simplisia nabati atau hewani yang diekstraksi mengandung

zat aktif yang larut dan yang tidak larut seperti serat, karbohidrat dan protein. Proses ekstraksi ini akan menghasilkan produk berupa ekstrak (DepKes RI, 2000).



Mekanisme ekstraksi zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga akan terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan menyebabkan larutan pekat di dalam sel akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini akan berulang terus menerus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (DepKes RI, 2000).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut heksan, eter dan kloroform ditujukan untuk mengambil senyawa dengan kepolaran rendah. Pelarut alkohol dan etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa yang lebih polar. Pemilihan pelarut berdasarkan *like dissolved like* yang berarti suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (DepKes RI, 1986).

Kriteria cairan penyari yang baik adalah mudah didapat dan murah, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap, selektif, yaitu hanya menarik zat berkhasiat. Pelarut organik yang paling sering digunakan dalam mengekstraksi zat aktif dari sel tanaman adalah metanol, etanol, kloroform, n-butanol, hexan, dietil eter, benzen, dan etil asetat (DepKes RI,1986).



Ekstraksi dengan menggunakan pelarut terdapat dua cara, yaitu dengan cara dingin pada metode maserasi dan perkolasi; dan dengan cara panas, yaitu pada metode refluks, Soxhlet, digesti, infus atau dekokta (DepKes RI, 2000).

3. Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi (*maceration*) berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya “merendam” (Ansel, 1989). Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, diaduk sekali-sekali setiap hari, lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi. Gunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia. Jika tidak dinyatakan lain gunakan etanol 70%. Kumpulkan semua hasil maserasi kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (DepKes RI, 2000).

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung bahan mudah mengembang dalam cairan penyari.

gan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang an sederhana dan mudah diusahakan, kerugiannya adalah



proses pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir simplisia, dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (DepKes RI, 2000).

C. Tinjauan Tentang Sirup

1. Pengertian Sirup

Sirup adalah larutan oral yang mengandung sukrosa atau gula lain yang berkadar tinggi (sirup simpleks adalah sirup yang hampir jenuh dengan sukrosa). Kadar sukrosa dalam sirup adalah 64-66%, kecuali dinyatakan lain (Syamsuni, 2006). Sirup adalah sediaan pekat dalam air dan gula atau pengganti gula dengan atau tanpa penambahan bahan pewangi dan zat obat (Ansel, 1989).

Ada 3 macam sirup yaitu (Anief, 1990) :

1. Sirup simpleks mengandung 65% b/b gula dalam larutan Nipagin 0,25% b/v.
2. Sirup obat, mengandung satu atau lebih jenis obat dengan atau tanpa zat tambahan dan digunakan untuk pengobatan.
3. Sirup pewangi, tidak mengandung obat tetapi mengandung zat pewangi atau zat penyedap lain. Tujuan pengembangan sirup ini adalah untuk menutupi rasa tidak enak dan bau obat yang tidak enak



2. Bahan Tambahan Dalam Sediaan Sirup Obat

Sebagian besar sirup-sirup mengandung komponen-komponen berikut disamping air murni dan semua zat-zat obat yang ada.

a. Pemanis

Pemanis berfungsi untuk memperbaiki rasa dari sediaan. Pemanis dibagi menjadi dua, yaitu berkalori tinggi dan berkalori rendah. Pemanis berkalori tinggi misalnya sorbitol, sakarin, sukrosa. Pemanis berkalori rendah misalnya laktosa. Sukrosa larut dalam media air, sukrosa tersedia dalam bentuk murni dengan harga memadai, dan stabil secara kimia dan fisika pada kisaran pH 4,0 sampai 8,0 (Lachman *et al.*, 1994). Sakarin digunakan untuk pengganti gula sebagai pemanis. Sakarin 250 atau 500 kali lebih manis dari gula, tetapi mempunyai rasa pahit jika tidak digunakan dengan tepat dalam formulasi (Lachman *et al.*, 1994).

b. Pengawet

Pengawet-pengawet yang umum digunakan dalam sediaan sirup adalah : asam benzoat (0,1- 0,2%), natrium benzoat (0,1- 0,2%) dan berbagai campuran metil-,propil, dan butil paraben (total \pm 0,1%). Sering kali alkohol digunakan dalam pembuatan sirup untuk membantu kelarutan bahan-bahan yang larut dalam alkohol, tetapi secara normal alkohol tidak ada dalam produk akhir dalam jumlah yang dianggap cukup

pengawet (15- 20%) (Ansel, 1989).



c. Pengaroma

Hampir semua sirup menggunakan pengaroma buatan atau bahan yang berasal dari alam, seperti minyak menguap, vanili, dan lainnya untuk membuat sirup terasa sedap. Sirup adalah sediaan air, untuk itu pengaroma harus mempunyai kelarutan dalam air yang cukup, tetapi terkadang sejumlah kecil alkohol ditambahkan ke sirup untuk menjamin kelangsungan kelarutan pengaroma yang kelarutannya dalam air buruk (Ansel, 1989).

d. Pewarna

Untuk menambah daya tarik sirup, umumnya digunakan zat pewarna yang berhubungan dengan pemberi rasa yang digunakan (misalnya hijau untuk rasa permen, coklat untuk rasa coklat dan sebagainya). Pewarna yang digunakan umum larut dalam air, tidak bereaksi dengan komponen lain dari sirup, dan warna stabil pada kisaran pH dan dibawah cahaya yang intensif sirup tersebut mungkin menjadi enounter selama masa penyimpanan (Ansel, 1989).

e. Perasa

Hampir semua sirup disediakan dengan pemberi rasa buatan atau bahan-bahan yang berasal dari alam seperti minyak-minyak menguap (contoh : minyak jeruk), vanili dan lain-lainnya untuk membuat

ng sedap rasanya. Karena sirup adalah sediaan air, pemberi harus mempunyai kelarutan dalam air yang cukup. Akan tetapi,



kadang-kadang sejumlah kecil alkohol ditambahkan ke sirup untuk menjamin kelangsungan kelarutan dari pemberi rasa yang kelarutannya dalam air buruk (Ansel, 1989).

3. Pembuatan sirup

Sirup sering dibuat dengan empat cara berdasarkan sifat kimia fisika bahan-bahannya, yaitu: (1) larutan dari bahan-bahan dengan bantuan panas, (2) larutan dari bahan-bahan dengan pengadukan tanpa penggunaan panas, (3) penambahan sukrosa dengan cairan obat yang dibuat atau yang diberi rasa, dan (4) dengan perkolasi dari sumber-sumber bahan obat atau sukrosa (Ansel, 1989).

4. Stabilitas sediaan sirup

Stabilitas sediaan farmasi merupakan salah satu kriteria yang sangat penting untuk suatu hasil produksi yang baik. Ketidakstabilan sediaan farmasi dapat mengakibatkan terjadinya penurunan sampai dengan hilangnya khasiat sediaan (Martin, 1993).

D. Uraian Tentang Bahan Tambahan

1. Sirup USP

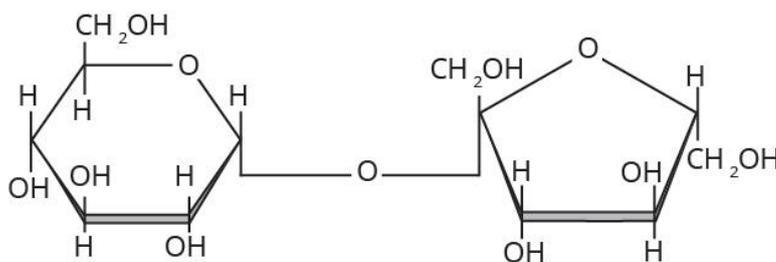
Sirup USP adalah sirup yang mengandung 85% sukrosa atau gula beku, memiliki berat molekul 342,30 dan rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Sukrosa kristal tidak berwarna, kristal atau batang, putih, tidak berbau, rasa manis. Serbuk sukrosa dapat terkontaminasi oleh sulfat, stabil pada suhu kamar dan kelembapan relative sedang, mengabsorpsi di atas



1% kelembaban, yang diberikan oleh panas sampai 90°C (Ditjen POM, 1995).

Rasa manis dari sirup USP membuatnya sebagai pembawa yang menyenangkan untuk pemberian oral dari pengobatan. Sirup mempunyai sifat menyalut obat yang baik untuk obat rasa pahit dan asin. Berfungsi sebagai pemanis, pengisi tablet, bahan pengawet, bahan pengemulsi, dan menaikkan viskositas pengawet (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 4. Struktur kimia sukrosa (Ditjen POM, 1995).

2. Natrium benzoat

Natrium benzoat memiliki nama resmi Sodium Benzoat dengan rumus molekul $C_7H_5NaO_2$ dan berat molekul sebesar 144,11. Pemeraniannya berupa butiran putih atau kristal, sedikit bubuk higroskopis. Natrium benzoat tidak berbau, atau bau samar benzoin, memiliki rasa asin dan manis yang tidak menyenangkan. Natrium benzoat digunakan sebagai antimikroba dalam kosmetik, makanan dan obat-obatan dengan konsentrasi 0,02-0,5% pada obat oral, 0,5% pada produk parental, dan 0,5-1% pada kosmetik. Sodium benzoat memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan asam benzoat. Larutan dari natrium benzoat dapat



diberikan secara oral, intravena, atau untuk menentukan fungsi hati (Rowe, 2009).

Asam benzoat lebih banyak digunakan dalam bentuk garamnya karena kelarutannya lebih baik daripada bentuk asamnya. Bentuk garam dari asam benzoat yang banyak digunakan adalah natrium benzoat yang lebih mudah larut. Benzoat dan turunannya dapat menghancurkan sel-sel mikroba terutama kapang. Natrium benzoat mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol dan lebih mudah larut dalam etanol 90% (Ansel, 1989).

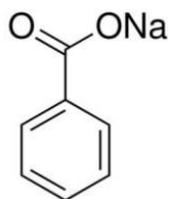
Natrium benzoat memiliki sifat bakterostatik dan antijamur yang berkaitan dengan asam benzoat, khasiat pengawet yang terbaik didapatkan jika larutan bersifat asam (pH 2-5). Dalam kondisi basa hampir tanpa efek. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan oral 0,02-0,5% (Wade dan Raul, 1994).

Mekanisme kerja natrium benzoat sebagai bahan pengawet adalah berdasarkan permeabilitas membran sel mikroba terhadap molekul-molekul asam benzoat tidak terdisosiasi. Dalam suasana pH 4,5 molekul-molekul asam benzoat tersebut dapat mencapai sel mikroba yang membran selnya mempunyai sifat permeabel terhadap asam benzoat yang tidak terdisosiasi. Sel mikroba yang mempunyai pH cairan

akan dimasuki molekul-molekul benzoat, maka molekul asam benzoat akan terdisosiasi dan menghasilkan ion-ion H^+ , sehingga akan



menurunkan pH mikroba tersebut, akibatnya metabolisme sel akan terganggu dan akhirnya sel mati (Winarno dan Laksmi,1974).



Gambar 5. Struktur kimia natrium benzoat (Wade dan Raul, 1994)

2. Gliserin

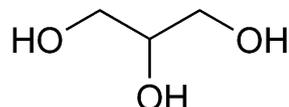
Gliserin adalah cairan jernih dengan rasa manis. Sebagai suatu pelarut dapat disamakan dengan alkohol, tapi karena kekentalannya, zat terlarut dapat larut perlahan-lahan didalamnya kecuali dibuat kurang kental dengan pemanasan. Digunakan dalam banyak preparat untuk obat oral. Gliserin merupakan pelarut yang baik untuk banyak bahan tanaman karena kemampuannya mengekstraksi dan mencegah zat-zat inert dari pengendapan bila didiamkan. Gliserin dapat membantu kemantapan dari ekstrak obat (Ansel, 1989).

Gliserin digunakan dalam berbagai formulasi farmasi seperti sediaan oral, telinga, mata, topikal, dan parenteral. Dalam larutan oral, gliserin digunakan sebagai pelarut, bahan pemanis, pengawet antibakteri dan bahan peningkat viskositas (Rowe *et al*, 2009).



Pencampuran langsung dari bahan-bahan tidak selalu dapat dilakukan, penggabungan agen lain diperlukan untuk memastikan berukuran halus. *Levigating agent* berfungsi untuk mengurangi

ukuran partikel, contohnya minyak mineral dan gliserin (Madinah, 2008).

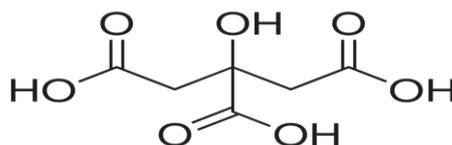


Gambar 6. Struktur kimia gliserin (Rowe *et al*, 2009)

3. Asam Sitrat

Asam sitrat berbentuk anhidrat atau mengandung satu molekul air hidrat. Mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% $C_6H_8O_7$ dihitung terhadap zat anhidrat. Pemerian berupa hablur bening, tidak berwarna atau serbuk hablur granul sampai halus, putih, tidak berbau atau praktis tidak berbau, rasa sangat asam. Bentuk hidrat mekar dalam udara kering. Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam etanol, agak sukar larut dalam eter (Ditjen POM, 1979).

Fungsi asam sitrat sebagai agen pengasam, antioksidan, agen dapar, agen pengkelat, penguat rasa/aroma, dan pengawet. Penggunaan sebagai larutan dapar (0,1-2,0%), penambah rasa untuk formulasi cair (0,3-2,0%), bahan pengikat (0,3-2,0%). Jika dikonsumsi berlebihan dapat menyebabkan erosi gigi, berbahaya pada pasien penyakit ginjal (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 7. Struktur kimia asam sitrat (Ditjen POM, 1979)



4. Essense Jeruk

Terbuat dari jeruk yang masih segar yang diproses secara mekanik dan mengandung kurang lebih 90% jeruk. Mudah larut dalam alkohol 90%. Digunakan sebagai pewarna dan pewangi. Disimpan dalam wadah yang tertutup dan tempat yang sejuk dan kering, dan terhindar dari cahaya matahari (Sweetman, 2009).

E. Uraian Tentang Peroksidasi Lipid

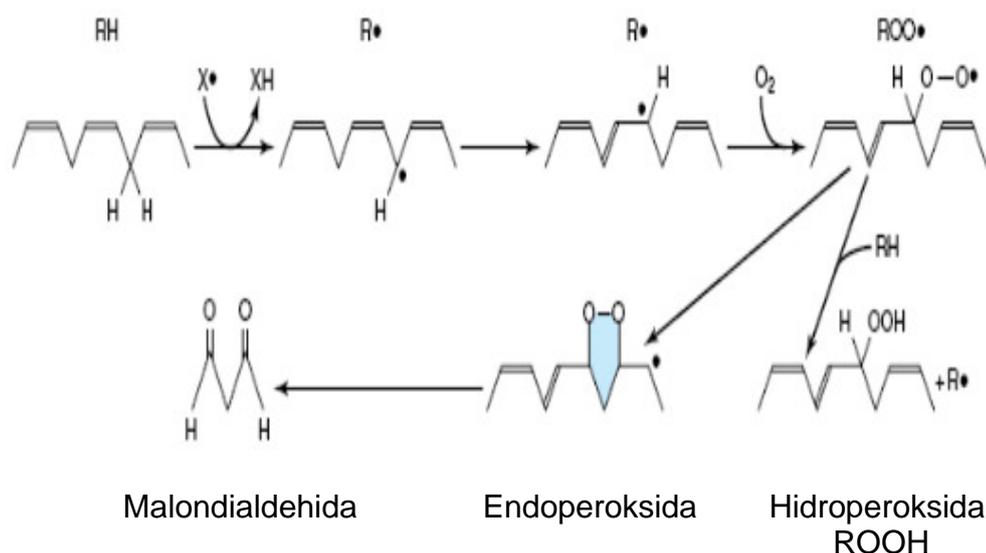
Peroksidasi lipid merupakan penyatuan molekul oksigen kedalam *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran biologis. Oksidasi PUFA oleh radikal bebas terjadi pada atom H yang bersifat labil, terutama yang terikat oleh atom C dekat dengan ikatan rangkap, sehingga terbentuk radikal bebas yang baru yang sangat peka terhadap oksigen (radikal bebas peroksi) (Hasanah, 2008).

Radikal peroksi lipid mampu mengoksidasi molekul lipid lainnya yang berdekatan sehingga terbentuk lipid hidroperoksida dan juga membentuk radikal karbon lainnya. Apabila radikal karbon tersebut bereaksi dengan oksigen, maka reaksi peroksidasi lipid akan terus berlanjut. Pembentukan endoperoksida lipid pada PUFA yang mengandung sedikitnya tiga ikatan rangkap akan mendorong pembentukan malondialdehida sebagai produk akhir dari reaksi

a tersebut (Murray *et al.*, 2003).



Peroksidasi lipid pada membran berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain melalui perubahan fluiditas, cross-linking, struktur dan fungsi membran. Malondialdehida (MDA), sebagai produk akhir peroksidasi lipid, dilaporkan sangat toksik terhadap membran sel, karena dianggap sebagai inisiator suatu reaksi, karsinogen, maupun sebagai mutagen (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 8. Mekanisme peroksidasi lipid (Murray *et al.*, 2003)

Tingginya kadar MDA plasma juga membuktikan kerentanan komponen membran sel terhadap reaksi oksidasi. Akibatnya, sel terutama membran sel akan mengalami kerusakan dan berakibat timbulnya berbagai penyakit, seperti kanker, peradangan, dan lain-lain.

Dalam keadaan yang lebih ekstrim, peroksidasi lipid membran akhirnya menyebabkan kematian sel (Gitawati, 1995).



Konsentrasi lipid peroksida dapat diukur dengan menggunakan metode asam tiobarbiturat (TBA). Metode ini mengukur MDA sebagai produk reaksi peroksidasi lipid. Asam tiobarbiturat akan bereaksi dengan gugus karbonil dari MDA, yaitu satu molekul MDA akan berikatan dengan dua molekul TBA. Pada manusia, konsentrasi lipid peroksida akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia, tetapi jumlahnya tidak boleh melebihi konsentrasi normalnya, yaitu 4mmol/mL (Yagi, 1994).

Asam lemak penyusun membran sel khususnya asam lemak rantai panjang tak jenuh (PUFAs) amat rentan terhadap radikal bebas (Svingen,1979). Jumlah PUFAs dalam fosfolipid membran endoplasmik retikulum akan berkurang sebanding dengan jumlah CCl₄ yang diinduksikan. Pemberian CCl₄ dalam dosis tinggi dapat merusak endoplasmik retikulum, mengakumulasi lipid, mengurangi sintesis protein, mengacaukan proses oksidasi, menurunkan bobot badan, menyebabkan pembengkakan hati sehingga bobot hati menjadi bertambah, dan pemberian jangka panjang dapat menyebabkan nekrosis sentrilobular serta degenerasi lemak di hati (Jeon *et al.*,2003).

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan xenobiotik yang lazim digunakan untuk menginduksi peroksidasi lipid dan keracunan. Dalam endoplasmik retikulum hati CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P450 2E1

1) menjadi radikal bebas triklorometil (CCl₃^{*}) (Jeon *et al.*,2003
et al.,1998). Berdasarkan penelitian Atmaja *et al.* (2010) karbon



tetraklorida memberikan efek toksik akut dalam 24 jam setelah pemberian dengan dosis 0,4 mL/kgBB tikus. Triklorometil dengan oksigen akan membentuk radikal triklorometilperoksi yang dapat menyerang lipid membran endoplasmik retikulum dengan kecepatan yang melebihi radikal bebas triklorometil. Selanjutnya triklorometilperoksi menyebabkan peroksidasi lipid sehingga mengganggu homeostasis Ca^{2+} , dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Shanmugasundaram dan Venkataraman, 2006).

F. Uraian Tentang Karbon tetraklorida (CCl_4)

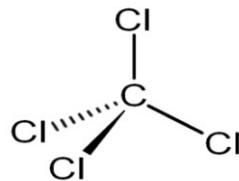
Karbontetraklorida adalah zat volatil yang tidak berwarna, terasa panas, berbau seperti klorofom. Karbontetraklorida tidak dapat larut dalam air, namun dapat larut dalam alkohol, kloroform, eter dan minyak (Winaya *et al.*, 2005).

Karbontetraklorida (CCl_4) adalah xenobiotik yang umum digunakan untuk menginduksi toksisitas pada hewan uji. Ini dikenal sebagai hepatotoksin, nephrotoxin, dan toksin pulmonal dan juga menyebabkan luka pada organ lain. Telah ditunjukkan bahwa stres oksidatif yang disebabkan oleh CCl_4 adalah karena produksi radikal bebas reaktif seperti peroksida hidrogen, radikal hidroksil, oksida super, nitrit peroksi, dan banyak radikal lainnya (Naz *et al.*, 2014).

tetraklorida adalah salah satu toksin yang metabolismenya
n oleh sitokrom P450 yang menghasilkan produk merusak yaitu



radikal bebas triklorometil (CCl_3^*). Karbontetraklorida dapat masuk ke dalam tubuh melalui paru-paru jika kita menghirup udara yang mengandung CCl_4 . Karbontetraklorida (CCl_4) juga dapat melalui kulit (Rachmawati, 2003).



Gambar 9. Struktur kimia karbon tetraklorida (Winaya *et al.*, 2005).

G. Uraian Tentang Antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Amrunet *al.*, 2007). Senyawa yang bersifat antioksidan dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010).

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Senyawa antioksidan endogen yang terdapat

tubuh seperti enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione, katalase tidak mempunyai jumlah berlebih, sehingga apabila



terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan, salahsatunya adalah senyawa fenolik yang mempunyai efek aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron. Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dalam buah dan sayur. Beberapa tahun belakangan ini, telah dibuktikan bahwa flavonoid memiliki potensi yang besar melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi tiga kelompok (Suwandi, 2012), yaitu:

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah butil hidroksi toluen, tersier butyl hidro quinon, tokoferol dan alkil galat.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu senyawa yang dapat bekerja pro-oksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat reaksi oksidasi terutama logam-logam. Antioksidan sekunder

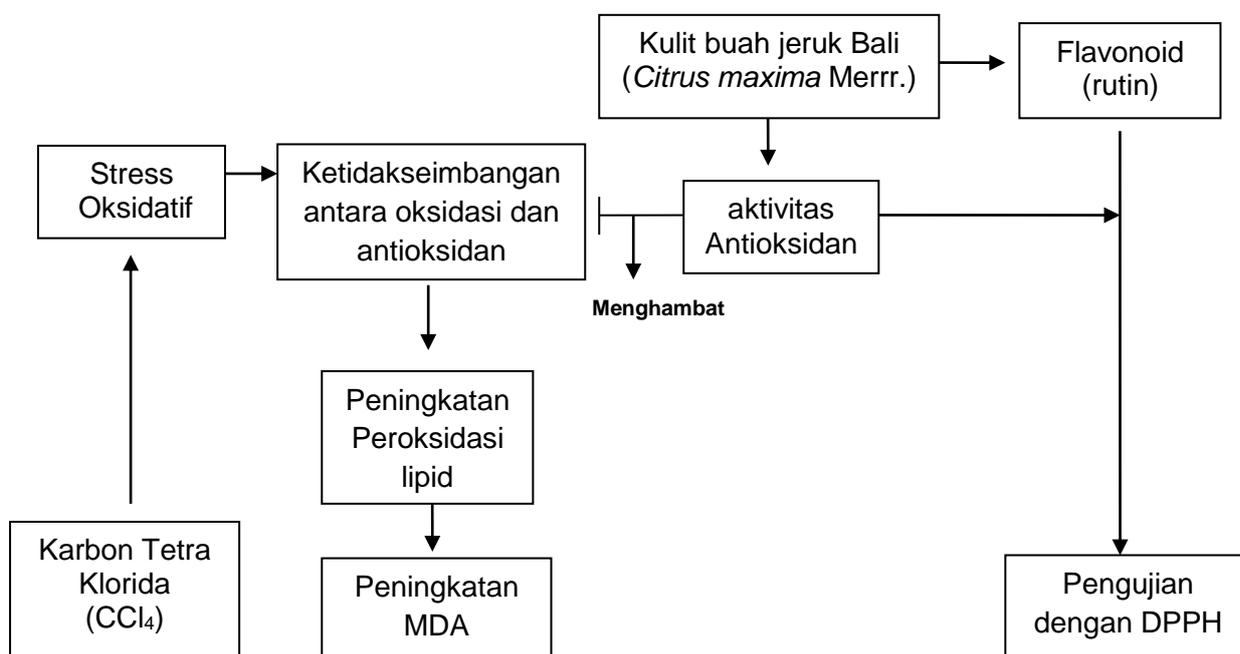


berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

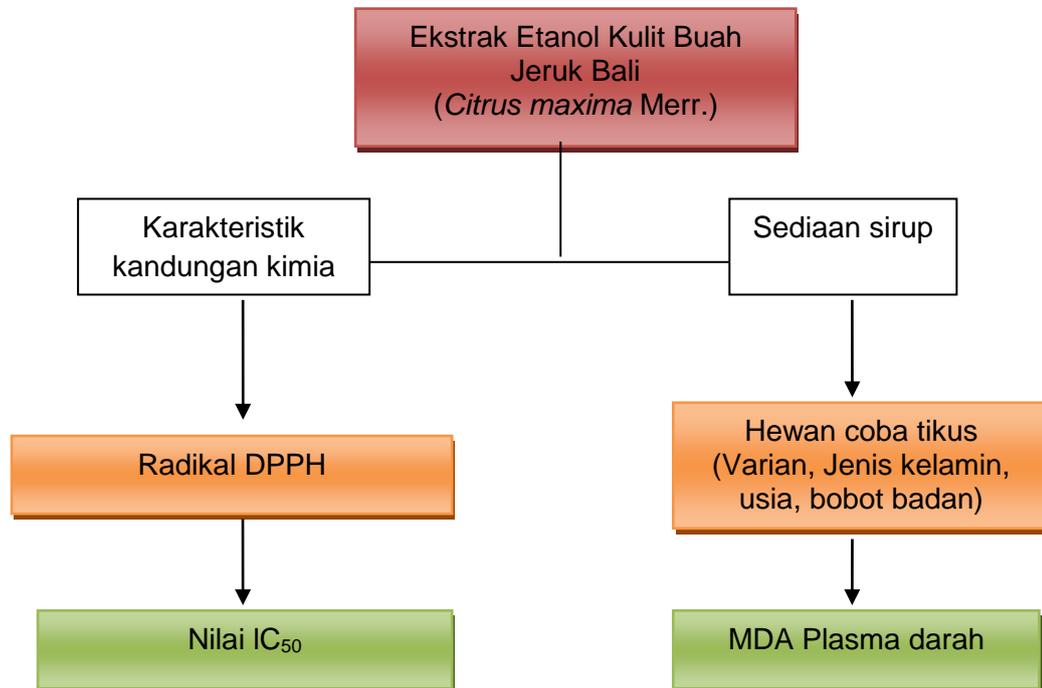
H. Kerangka Teori



Gambar 10. Bagan kerangka teori



I. Kerangka Konsep



Gambar 11. Bagan kerangka konsep

Keterangan gambar:

- Variabel Bebas : Ekstrak kulit buah jeruk Bali
- Variabel Terkendali : Radikal DPPH dan hewan coba tikus
- Variabel Tergantung : IC₅₀ dan Malondialdehid Plasma darah

J. Hipotesis

Sirup ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) memiliki pengaruh terhadap kadar *Malondialdehid* (MDA) plasma darah tikus putih (*rattus novergicus*) jantan yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

