

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Jeruk Purut

2.1.1 Botani Tanaman Jeruk Purut

Klasifikasi tanaman jeruk purut pada (Tjitrosoepomo, 2010) dijelaskan sebagai berikut.

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Rutales

Suku : *Rutaceae*

Sub Suku : *Aurantioideae*

Marga : *Citrus*

Jenis : *Citrus hystrix* D.C



Gambar 2.1 Tanaman Jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C)
(sumber : Dalimartha, 2000)

Jeruk purut banyak ditanam di beberapa negara termasuk Indonesia dan termasuk dalam suku *Rutaceae* yang berasal dari Asia Tenggara. Pada bagian kulit buah dan daun jeruk purut berpotensi menghasilkan minyak atsiri. *Sabinena* dan *limonene* yang terkandung pada daun jeruk purut berguna untuk kosmetik, aromaterapi, pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung dan juga pengusir serangga alami (Munawaroh dan Handayani, 2010).

Jeruk purut memiliki kulit buah dengan aroma wangi yang sedikit keras. Ukuran buahnya lebih kecil dari kepalan tangan, bentuknya bulat tetapi banyak tonjolan dan berbintil. Kulit buahnya tebal dan berwarna hijau tua polos atau berbintik-bintik (Simanihuruk, 2013).

Tanaman ini mempunyai ciri-ciri fisik yang khas, baik pada penampilan buah maupun daunnya sehingga mudah dikenali. Tinggi tanaman ini sekitar 3-5 m. Buahnya berukuran lebih kecil dari kepalan tangan manusia atau berdiameter sekitar 5-7,5 cm, berbentuk seperti buah pir, berkulit tebal dengan karakter permukaannya yang berkerut-kerut, berwarna hijau. Buah yang masak benar akan berwarna sedikit kekuningan. Daging buah berwarna kekuningan, mempunyai rasa yang sangat asam dan kadang-kadang agak pahit (Wijaya, 2010)

Bagian kulit luar buah ini disebut *flavedo* karena adanya kandungan flavonoid. Sedangkan kulit bagian dalam disebut *albedo* nama yang berasal

dari latin (*albus* = putih) memiliki warna kuning gading atau kuning pucat dan kenyal dalam tekstur (Ortiz, 2002).

Bagian dari tanaman jeruk purut (*Citrus hystix* D.C) antara lain sebagai berikut.

a. Buah

Buah jeruk memiliki beberapa lapisan, antara lain:

- a) *Exocarp* atau *flavedo*, merupakan bagian terluar buah, warnanya yang sebagian besar tergantung pada suhu di mana ia berkembang. Bagian ini mengandung kelenjar minyak esensial yang diproduksi oleh buah.
- b) *Endocarp*, merupakan bagian terdalam dari pericarp dan bagian dari membran lokular.
- c) *Mesocarp* atau *albedo*, merupakan bagian antara, berwarna putih dan bernas (Ancillo dan Medina, 2015).

b. Daun

Daun jeruk purut berbentuk khas yakni berbentuk oval dan memiliki ujung tumpul serta tangkai daun bersayap lebar yang terlihat seperti dua daun yang berjajar. Daun jeruk purut ini berwarna hijau kekuningan juga memiliki aroma yang sangat segar (Sarwono dan Wijaya, 2010). Bagian atas daun memiliki warna lebih gelap dari pada bagian bawah daun (Ortiz, 2002).

c. Akar

Akar tanaman jeruk berupa akar tunggang dengan 2 fungsi utama sebagai pelekat pada tanah dan sebagai penyerapan. Kedalaman akar tergantung pada batang bagian bawah di dalam tanah. Di tanah berpasir, sistem akar dapat menembus hingga 5 atau 6 m, sedangkan pada tanah liat sistem akar akan lebih dangkal (Ortiz, 2002)

d. Batang

Batang yang bagian bawah dan bagian percabangannya biasanya ada yang menyatu diatas tanah tapi ada pula cabang utama beada di ketinggian yang berbeda. Hal ini bergantung pada varietas pohon. Kanopi pohon dibentuk oleh sistem percabangan ditambah daun. Tunas muda biasanya memiliki duri yang kuat. Duri adalah cabang yang dimodifikasi, dengan kumpulan pembuluh darah, memiliki kuncup pada kapak mereka (Ortiz, 2002).

Benzie & Strain (1996) mengemukakan bahwa metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut.

Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa Fe^{3+} - TPTZ. Senyawa Fe^{3+} - TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel.

2.1.2 Kandungan Jeruk Perut

Metabolit sekunder yang berupa senyawa bioaktif dimiliki oleh tanaman jeruk purut. Senyawa bioaktif dapat diartikan sebagai metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologis dan toksikologis pada manusia dan hewan, tetapi tidak termasuk nutrisi yang berada pada tumbuhan (seperti vitamin dan mineral). Dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada tumbuhan metabolit sekunder tidak digunakan sebagai bahan utama, akan tetapi sebagai senyawa yang sifatnya melindungi tanaman. Oleh karena itu, produk metabolit sekunder memiliki kuantitas yang lebih sedikit dibandingkan dengan produk metabolit primer dan merupakan hasil sampingan dari biosintesis primer (Natanael, 2015).

Flavonoid, karotenoid, glikosida, saponin, kumarin, asam sitrat, limonoid, asam amino, bergamottin, oxypeucedain, mineral, minyak atsiri merupakan senyawa aktif yang terkandung pada jeruk purut. *Naringin, narirutin, dan hesperidin* yang terdapat pada kulit buah, dan bulir-bulir daging buah jeruk merupakan flavonoid utama yang terkandung pada jeruk purut. Menurut Uji Analisa jeruk purut diperkirakan memiliki efek antioksidan, stimulan, anti inflamasi, astrigen dan antifungi (Natanael, 2015).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Kemampuan mendonasikan atom hidrogen atau melalui kemampuan mengkelat logam merupakan sumber aktivitas antioksidatif flavonoid (Redha, 2010).

2.2 Antioksidan

Antioksidan dibutuhkan untuk melawan radikal bebas yang menyerang tubuh. Antioksidan adalah senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar maupun jumlah tertentu dapat menghambat atau memperlambat kerusakan minyak yang disebabkan oleh proses oksidasi (Novitriani dan Nurjanah, 2015).

Denisove dan Afanas'ev (2005) menyatakan sehubungan dengan mekanisme tindakan, antioksidan dapat dikelompokkan ke dalam 7 kelompok, yaitu:

- a. Antioksidan yang memotong rantai dengan reaksi radikal peroksil. Antioksidan ini merupakan senyawa reduktif dengan ikatan O-H dan N-H yang relatif lemah (*fenol, naptol, hidroquinin, amina aromatic, aminofenol, diamin*), yang mudah bereaksi dengan radikal peroksil yang membentuk radikal menengah dengan aktivitas rendah.
- b. Antioksidan yang memutus rantai reaksi dengan radikal alkil. Senyawa ini seperti *quinone, nitron, iminoquinone, methylenequinone, radikal nitroksil stabil*, dan senyawa *nitro* yang mudah menerima radikal alkil. Antioksidan

semacam itu efisien pada konsentrasi sangat rendah dioksigen dan dalam polimer padat.

- c. *Hydroperoxide* menguraikan antioksidan. Senyawa ini yang bereaksi dengan hidro-peroksida tanpa membentuk radikal bebas: sulfida, fosfit, arsenit, tiofosfat, karbamat, dan beberapa kompleks logam. Reaksi dengan hidroperoksida dapat berupa stoikiometri (khas, misalnya sulfida dan fosfit) atau katalitik (khas kompleks logam khelat).
- d. Antioksidan penangkal logam. Senyawa logam transisi menguraikan hidroperoksida dengan pembentukan radikal bebas, sehingga meningkatkan laju oksidasi. Oksidasi yang ditingkatkan semacam itu dapat diperlambat dengan penambahan senyawa yang berinteraksi dengan ion logam untuk membentuk kompleks yang tidak aktif berkenaan dengan hidroperoksida. Diamin, asam hidroksi, dan senyawa bifungsi lainnya mencontohkan jenis antioksidan ini.
- e. Penghentian rantai siklik oleh antioksidan. Oksidasi beberapa zat, seperti alkohol atau amina alifatik, menimbulkan radikal peroksil aktivitas multiple (oksidatif dan reduktif). Dalam sistem yang mengandung zat semacam itu, antioksidan diregenerasi dalam reaksi penghentian rantai. Dengan kata lain, terminasi rantai terjadi sebagai proses siklik katalitik. jumlah kejadian penghentian rantai bergantung pada proporsi antara tingkat konsumsi inhibitor dan reaksi regenerasi. Penghentian rantai ganda mungkin terjadi, misalnya

pada polimer. Inhibitor penghentian rantai ganda adalah amina aromatik, radikal nitroksil, dan senyawa logam valensi variabel.

- f. Inhibitor aksi gabungan. Beberapa antioksidan menghambat oksidasi melalui berbagai reaksi. Sebagai contoh, antrasena dan metilenquinon dapat bereaksi dengan radikal alkil, dan juga dengan radikal peroksil, Sedangkan karbonat dan tiofosfat dapat menguraikan hidroperoksida dan memutus rantai melalui reaksi dengan radikal peroksil. Selain itu, pusat reaksi inhibitor yang sama (misalnya ikatan rangkap dari *methylenequinone*) dapat berinteraksi dengan R dan radikal RO₂. Namun, molekul inhibitor mungkin memiliki dua dan lebih banyak gugus fungsional, yang masing-masing dapat mengalami reaksinya sendiri. Misalnya, gugus *phenolic phenolsulfide* bereaksi hanya dengan radikal peroksil, dan gugus sulfida bereaksi dengan *hidroperoksida*. Selanjutnya, penghambat asli dan produk konversi dapat memberikan tindakan penghambatan melalui berbagai reaksi.
- g. Sinergi aksi beberapa antioksidan. Bila dua inhibitor saling meningkatkan efek penghambatannya, ini adalah tindakan sinergis. Jika efek penghambatan dua inhibitor ditambahkan, ini adalah penghambatan aditif. Namun jika efek penghambatan campuran inhibitor lebih rendah daripada jumlah efek inhibitor individu, hal ini dikenal sebagai antagonisme inhibitor. Dengan demikian, fenol dan sulfida yang ditambahkan ke hidrokarbon menghambat oksidasi melalui mekanisme fenol menghentikan rantai dengan mereaksikan radikal

peroksil, sedangkan sulfida memperlambat rantai merosot yang bercabang dengan menghancurkan hidroperoksida.

Beberapa jenis antioksidan dalam tumbuhan diantaranya vitamin C, *tokoferol*, *karatenoid*, *polifenolik (flavonoid, isoflavonoid)*. Flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dengan cara meredam radikal peroksil (ROO) sekaligus mengakhiri reaksi radikal dan memadamkan anion superoksida (O_2^-) (Widowati, 2005).

Perbedaan antara senyawa-senyawa flavonoid dipengaruhi oleh struktur dan substituen pada cincin heterosiklik cincin C dan cincin B. Terdapat 2 fungsi utama flavonoid pada peredaman radikal bebas yaitu:

- 1) gugus katekol (o-dihidroksi) pada cincin B yang mempunyai sifat sebagai donor elektron dan merupakan target radikal
- 2) ikatan rangkap C2-C3 yang berkonjugasi dengan gugus 4- okso pada cincin heterosiklik yang berperan pada delokalisasi elektron (Widowati, 2005).

Antioksidan dalam makanan dapat didefinisikan sebagai zat yang mampu menunda, memperlambat atau mencegah perkembangan makanan dari rasa tidak enak atau kerusakan rasa lainnya karena oksidasi. Antioksidan menunda pengembangan hilangnya rasa dengan memperpanjang periode induksi. Penambahan antioksidan setelah akhir periode ini cenderung tidak efektif (widowati,2005).

Antioksidan dapat menghambat atau menghambat oksidasi dengan dua cara, baik dengan mengais radikal bebas, dalam hal ini senyawa tersebut digambarkan sebagai antioksidan utama, atau oleh mekanisme yang tidak melibatkan pembilasan langsung radikal bebas, dalam hal ini senyawa tersebut sebuah antioksidan sekunder (widowati,2005)

Antioksidan utama meliputi senyawa fenolik seperti vitamin E (*α-tocopherol*). Komponen ini dikonsumsi selama periode induksi. Antioksidan sekunder beroperasi dengan berbagai mekanisme termasuk pengikatan ion logam, pemulungan oksigen, pengubahan hidroperoksida menjadi spesies non-radikal, menyerap radiasi UV atau menonaktifkan oksigen single. Biasanya, antioksidan sekunder hanya menunjukkan aktivitas antioksidan bila ada komponen minor kedua. Hal ini dapat dilihat pada kasus agen penangkap keras seperti asam sitrat yang hanya efektif bila ada ion logam, dan zat pereduksi seperti asam askorbat yang efektif di hadapan tocopherols atau antioksidan utama lainnya (Flaherty & Morley, 2004).

2.3 Simplisia dan Ekstraksi

2.3.1 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dikatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral).Simplisia nabati adalah simplisia

yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (Ditjen POM, 2000).

2.3.2 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 2000).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Anief, 2006).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair yang sesuai. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Diketuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Selama isolasi senyawa beraroma, bahan alami dilakukan dengan pelarut yang sesuai untuk mendapatkan citarasa yang diinginkan dalam jumlah optimal. Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua

yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Pada ekstraksi cair-cair, senyawa yang dipisahkan terdapat dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi padat-cair adalah suatu metode pemisahan senyawa dari campurannya yang berupa padatan.

Beberapa metode ekstraksi dengan pelarut yang dapat digunakan adalah maserasi, perkolasi, soxhletasi, refluks, destilasi uap (Furniss *et al.*, 1978).

a. Maserasi

Proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya disebut dengan maserasi. Cairan penyari pada proses maserasi yang masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel kemudian larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Proses tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Hadyana, 2002).

b. Perkolasi

Ekstraksi dengan pelarut sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang dilakukan pada temperatur ruangan disebut dengan perkolasi. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi

antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan / penampungan ekstrak) (Hadyana, 2002).

c. Soxhletasi

Metode penyarian atau ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik disebut dengan soxhletasi (Hadyana, 2002).

d. Refluks

Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara terus-menerus sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3 jam sampai 4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan (Sudjadi, 1986).

e. Destilasi Uap

Ekstraksi dengan cara mengalirkan uap air pada simplisia (umumnya cara ini dilakukan pada kandungan kimia simplisia yang mudah menguap seperti minyak atsiri) sehingga uap air menarik kandungan zat di dalam simplisia, yang kemudian terkondensasi bersama-sama

menghasilkan ekstrak cair (campuran) disebut dengan destilasi uap (Hadyana, 2002).

2.4 Tinjauan Tentang FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

FRAP adalah metode yang mengukur kemampuan antioksidan untuk mereduksi *ferric* (Besi). Reaksi didasarkan pada reduksi kompleks *ferric*(besi) dan *2,3,5-trifenil-1,3,4- triaza-2-azoniacyclopenta-1,4-diena klorida (TPTZ)* ke bentuk ferrous pada pH asam. Cara kerja metode ini dengan mencampurkan 30 mL reagen FRAP di tambahkan 100 μ l sampel, kemudian di absorpsi pada panjang gelombang 593 nm setelah di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C (Alam *et al.*, 2013). Kelebihan metode ini yaitu sederhana, cepat, murah, dan tidak memerlukan peralatan khusus (Shalaby *et al.*,2013)

FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ menjadi Fe(II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ sendiri digunakan sebagaicolorants dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kapasitas antioksidan yang diuji menggunakan FRAP, tidak perlu melibatkan praperlakuan, karena hasil pengujian dianggap konstan dan linier. Idealnya sampel yang >3000 μ M dan dilarutkan pada air atau punetanol untuk pengukuran nilai FRAP, dan dilakukan uji pengulangan dengan pengenceran bertahap untuk pengukuran nilai FRAP. Proses pengujian dilakukan dengan spektrofotometer pada pH asam dengan

pengukuran absorbansi panjang gelombang 593 nm (Karadag *et al.*, 2009, Lopez-Alarcon & Denicola, 2012 dan Boligon *et al.*, 2014).

Metode FRAP dapat mengukur efek antioksidan gabungan dari molekul biologi bukan enzim. Selain itu juga memberikan indeks kemampuan untuk mengurangi efek oksidatif dari radikal bebas. Biasanya pengujian ini digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada plasma dan fenol yang terekstraksi pada fase aqua atau metanol. FRAP mendeskripsikan hasil pengujian sebagai reaksi kinetik dan hubungannya dengan dosis larutan yang diuji, serta menunjukkan aktivitas antioksidan setara dengan yang ada pada plasma tubuh (Lopez-Alarcon & Denicola, 2012 dan Boligon *et al.*, 2014).



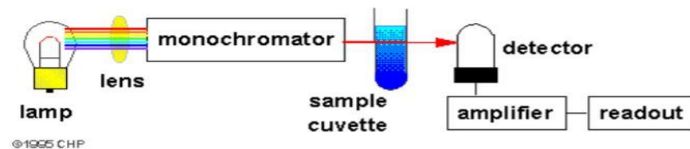
Gambar 2.2 Reaksi uji FRAP
(sumber : Ou *et al.*, 2002)

Terlepas dari itu, sama seperti metode pengujian lain, pengujian ini menggunakan antioksidan standar yang sudah diketahui kemampuannya sebagai pembanding atau kombinasi interaksi antar keduanya. Contohnya adalah asam askorbat, α -toksoferol, dan bilirubin. Keuntungan dari penggunaan FRAP adalah

cepat, cocok untuk sampel plasma (baik hanya dalam bentuk satu jenis antioksidan atau dikombinasi dengan plasma), mudah, dan reagen mudah didapat. Berhubungan dengan karakteristik *dose independent* dari antioksidan yang akan berbeda tergantung dari aktivitas antioksidan dan jenisnya (Youssef, 2015).

2.5 Tinjauan Tentang Spektrofotometer UV-Vis

2.5.1 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 2.3 Prinsip kerja spektrofotometer
(sumber : Jones, 2016)

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk analisa pada spektrofotometri. Spektrofotometer merupakan alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer mengukur intensitas sinar (Basett *et al.*, 1994). Hukum Lambert-Beer merupakan prinsip kerja dari spektrofotometer, seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan (Warono dan Syamsudin, 2013).

Pada spektrofotometer *UV-Vis* interaksi yang diamati adalah adanya absorbansi pada panjang gelombang tertentu di daerah *UV-Vis* oleh sampel yang dianalisa. Absorbansi dengan ketelitian antara 0,2-0,8 nm (Huda, 2001). Spektrofotometer *UV-Vis* memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah *UV* dan 380-780 nm untuk daerah visible atau sinar tampak (Warono dan Syamsudin, 2013).

Pelarut yang digunakan untuk prosedur spektrofotometrik menyebabkan problem pada beberapa daerah spektrum. Pelarut tidak hanya melarutkan sampel, tetapi juga tidak boleh menyerap cukup banyak dalam daerah dimana penetapan itu dibuat. Air adalah pelarut yang bagus karena tembus cahaya di seluruh daerah tampak dan turun sampai panjang gelombang sekitar 200 nm di daerah ultraviolet. Akan tetapi karena air merupakan pelarut yang jelek bagi banyak senyawa organik maka seharusnya pelarut organik digunakan metanol, etanol, dan dieter yang tembus cahaya terhadap radiasi ultraviolet (Day and Underwood, 1986).

Keuntungan dari pemakaian spektrofotometer *UV* dan sinar tampak pada analisis kuantitatif yaitu dapat digunakan untuk zat organik dan anorganik. Pada beberapa zat harus dirubah dulu menjadi senyawa berwarna sebelum dianalisa, selektif dan mempunyai ketelitian yang tinggi, dengan kesalahan 1% - 3%, akan tetapi kesalahan ini dapat diperkecil lagi. Dapat dilakukan dengan cepat dan tepat (Triyati, 1985).

2.5.2 Komponen Spektrofotometer

a. Sumber radiasi

Sumber radiasi berfungsi memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran (Warono and Syamsudin, 2013). Sumber radiasi untuk daerah tampak, daerah ultraviolet dekat dan inframerah dekat menggunakan sebuah lampu pijar dengan kawat rambut terbuat dari wolfram. Energi yang dipancarkan oleh kawat yang di panaskan itu sesuai panjang gelombangnya (Day and Underwood, 1986). Lampu hidrogen atau lampu deuterium digunakan sebagai sumber radiasi *UV*. Gas hidrogen atau deuterium diisi ke dalam bola lampu yang dilengkapi dengan elektroda dan bila diberi tegangan listrik akan mengeksitasi elektron selanjutnya akan menghasilkan radiasi emisi cahaya sebagai sumber tenaga radiasi (Sitorus, 2009).

b. Monokromator

Radiasi yang didapat dari berbagai sumber radiasi yaitu sinar polikromatis (banyak panjang gelombang). Monokromator berfungsi mengurai sinar tersebut menjadi monokromatis sesuai yang diinginkan. Monokromator terbuat dari bahan optik yang berbentuk prisma (Sitorus, 2009).

c. Tempat Sampel

Sel atau kuvet adalah tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, biasanya terbuat dari kaca tembus sinar tetapi bisa pula terbuat dari plastik (Warono and Syamsudin,2013). Bahan yang dijadikan kuvet tidak boleh bereaksi dengan sampel dan pelarut. Bahan quartz digunakan untuk sinar *UV*. Bahan gelas biasa dapat digunakan untuk sinar tampak akan tetapi penggunaan Quartz lebih baik (Sitorus, 2009).

d. Fotosel

Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian akan disampaikan ke detector (Warono and Syamsudin, 2013).

e. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengubah tenaga radiasi menjadi arus listrik atau peubah panas lainnya dan biasanya terintegrasi dengan pencatat. Tenaga cahaya yang diubah menjadi tenaga listrik akan mencatat secara kuantitatif tenaga cahaya tersebut. Persyaratan detektor yang baik adalah memiliki sensitifitas yang tinggi dan sinyal elektronik mudah diperjelas (Sitorus, 2009).

f. Pembacaan

Tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil analisis (Warono and Syamsudin,2013).

2.6 Landasan Teori

Daun jeruk purut mengandung alkaloid polifenol, α - toksoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, *quercetin*, *luteolin*, *hesperetin*, apigenin, dan isorhamnetin. Senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan salah satunya adalah flavonoid (Handayani *et al.*,2020).

Pada penelitian terdahulu oleh Dwi Rizki Febrianti (2020) menyebutkan bahwa 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. Selain itu minyak astiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antioksidan metode DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 75,77 μ g/mL yang termasuk antioksidan kuat.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Qonitah dan Ahwan (2019) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total n-heksan dan kloroform daun jeruk purut dengan menggunakan metode DPPH, bahwa fraksi kloroform daun jeruk purut mempunyai kandungan fenolik sebesar $4,73 \pm 0,33$ % b/b EAG.

Penelitian yang dilakukan oleh Abd Ghafar (2010) ekstrak buah segar (*Citrus hystric* D.C) yang sudah disentrifugasi dan diambil supernatannya mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode FRAP sebesar $89,0 \pm 5,88$ $\mu\text{g/mL}$ sebagai aktivitas antioksidan ini lebih besar dari pada spesies citrus yang lainnya yang diteliti yaitu *Citrus aurantifolia*, *Citrus microcarpa*, *Citrus sinensis*.

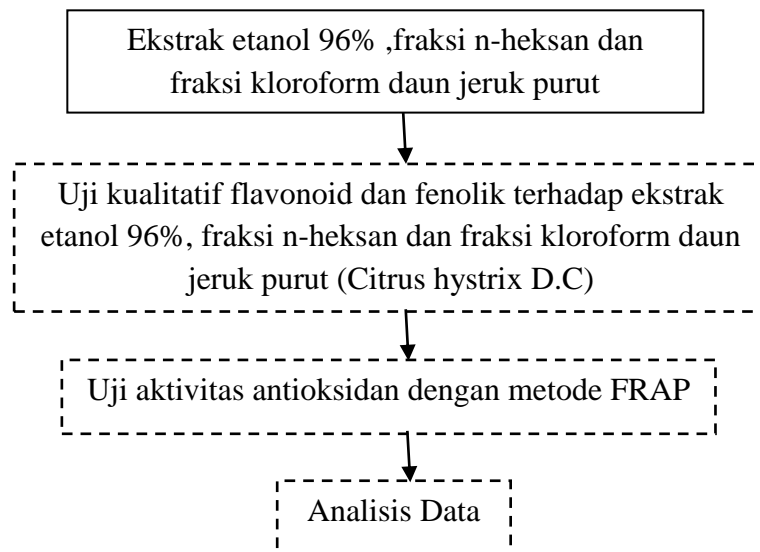
Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Butryee dkk (2009) melaporkan bahwa ekstrak aceton daun jeruk purut segar mempunyai aktivitas antioksidan metode FRAP dengan nilai IC_{50} sebesar $106 \pm 2,71 \pm 3$ $\mu\text{M Fe}^{2+}$ dan ekstrak acetone daun jeruk dengan menggunakan metode boiled mempunyai nilai IC_{50} sebesar 123 ± 9 $\mu\text{M Fe}^{2+}$.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena sifatnya yang universal akan mampu menyari senyawa polar, non polar maupun semi polar sehingga baik digunakan sebagai pelarut ekstrak (Poelengan *et al*, 2007). Fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan yang bersifat semi polar dan pelarut kloroform yang bersifat non polar dengan tujuan untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan polaritasnya menggunakan pelarut air sebagai pelarut polar yang akan menarik senyawa polar dan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar yang akan menarik senyawa semi polar (Rahmawati *et al.*, 2010). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman (Astuti *et al.*, 2008).

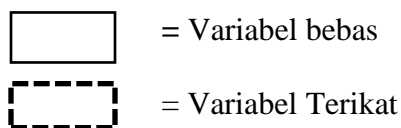
Menurut penelitian yang dilakukan oleh Juanda *et al.*, (2013) daun jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan karena kandungan senyawa aktif nya yaitu vitamin C, fenolik dan flavonoid yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Berdasarkan informasi diatas dapat mendukung penelitian terkait Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan dan Fraksi Kloroform Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Cytrus hystrix D.C*) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep



2.8 Hipotesis

Adapun hipotesis dalam hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Fraksi kloroform dan n-heksan ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai aktivitas antioksidan 96% daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan menggunakan metode FRAP.
- b. Ada perbedaan aktivitas antioksidan dari fraksi kloroform dan fraksi n-heksan ekstrak etanol daun jeruk purut dengan metode FRAP.