

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jeruk Nipis

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menurut Manurung *et al.*, (2019) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Geraniales
Family	: Rutaceae
Genus	: <i>Citrus</i>
Species	: <i>Citrus aurantifolia</i>



Gambar 1. Tanaman Jeruk Nipis

2. Deskripsi Tanaman

Jeruk nipis adalah tanaman semak yang memiliki dahan dan ranting. Batang pada tanaman jeruk nipis bertekstur ulet, bercabang, dan permukaannya berduri. Akar tanaman jeruk nipis berbentuk akar tunggang (Rahmawati, 2018). Tanaman jeruk nipis memiliki cabang yang lebat setinggi 1,5-3,5 m. Buah jeruk nipis berbentuk pingpong berwarna hijau tua, kusam, dan permukaan buahnya berkerut (Ardila *et al.*, 2022).

Berdasarkan morfologinya, daun jeruk nipis memiliki ciri daun tunggal dengan permukaan daun yang licin dan mengkilap serta dilapisi lilin. Permukaan daun jeruk nipis berwarna hijau muda dan bagian atasnya berwarna hijau tua. Daun jeruk nipis memiliki serat yang kasar, serat ini terlihat pada saat daun dirobek (Ramadhianto, 2017).

3. Kandungan Tanaman

Metabolit sekunder yang terkandung dalam jeruk nipis antara lain saponin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan tannin pada skrining fitokimia dengan ekstrak etanol 70% jeruk nipis. Senyawa flavonoid berupa erocitrin, hesperidin, dan neoponcirin dari daun jeruk nipis memiliki efek antioksidan dan berperan sebagai penangkal radikal bebas (Nisa *et al.*,2021). Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antioksidan adalah melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksil, kemudian atom hidroksil mendonorkan ke radikal bebas sehingga menyebabkan radikal bebas tersebut menjadi netral dan tidak reaktif lagi (Pratiwi *et al*, 2015).

4. Nama Daerah

Jeruk nipis dikenal dengan nama *Limonia aurantifolia*, *Citrus javanica*, *Citrus nottissima*. Nama lokal jeruk nipis antara lain jeruk pecel (Jawa), jeruk durga (Madura), limau asam atau limau nipis (Malaysia), somma nao atau manao (Thailand).

5. Khasiat Tanaman Jeruk Nipis

Menurut Wardani *et al.*,(2018), ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol kulit jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri etil asetat kulit buah jeruk nipis termasuk dalam kategori sensitif, karena memiliki zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 26,16 mm, dan zona hambat *Staphylococcus epidermis* 24,5 mm. Tanaman jeruk nipis bermanfaat sebagai antioksidan karena pada saat uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun jeruk nipis sebesar 98,58 µg/mL (Yanuary, 2021). Daun Jeruk nipis dapat bermanfaat sebagai agen biolarvasida karena nilai LD₅₀ saat pengujian aktivitas biolarvasida pada larva nyamuk *Culex sp* sebesar 0,948% (Musiam *et al.*, 2020).

B. Tanaman Stroberi

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman stroberi (*Fragaria vesca* L.) menurut Radford (1986) dalam Putri *et al* (2020) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Spermatophyta
Kelas	:	Dicotyledone
Sub divisi	:	Angiospermae
Ordo	:	Rosales
Familia	:	Rosaideae
Sub family	:	Rosaceae
Genus	:	<i>Fragaria</i>
Spesies	:	<i>Fragaria sp.</i>



Gambar 2. Tanaman stroberi

2. Deskripsi tanaman

Tanaman stroberi memiliki struktur tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga dan buah. Akar tanaman stroberi merupakan akar tunggang, akarnya tumbuh terus-menerus, panjangnya mencapai 100 cm. Akar tanaman stroberi dapat menembus tanah hingga kedalaman 15-45 cm. Secara morfologi, struktur akar tanaman stroberi terdiri dari pangkal akar, batang akar, ujung akar, rambut akar dan batang akar (Dewi, 2017).

Tanaman stroberi memiliki batang dengan ruas pendek dan berbentuk buku. Batang stroberi mengandung kadar air yang relatif tinggi dan juga ditutupi dengan pelepah daun sehingga tampak seperti

rumpun yang tidak memiliki batang. Buku- buku batang ditutupi dengan kuncup yang terletak di sisi daun (Rukmana, 1998).

Daun tanaman stroberi melekat pada batang dengan ukuran cukup panjang. Tangkai daun stroberi berbentuk bulat dan memiliki bulu-bulu halus di seluruh permukaannya. Daunnya tersusun menjadi 3 helai anak daun. Tepi daunnya bergerigi, berwarna hijau dan bertekstur tipis. Daun tanaman stroberi dapat hidup selama 1-3 bulan. Setelah buah dipanen daun akan mengering dan mati (Sonata, 2020).

Tangkai bunga tanaman stroberi tumbuh berkelompok. Biasanya, bunga pada tanaman stroberi mekar pada waktu yang berbeda, dengan mekar awal lebih besar dari yang terakhir. Terdapat 5-10 kelopak putih dan 5 mahkota pada bunga stroberi yang berdiameter 2,5-3,5 cm (Surbakti, 2020).

Warna buah stroberi yang merah cerah merupakan sumber keindahan tersendiri yang unik. Buah stroberi merupakan buah semu, yang berkembang dari perpanjangan batang tanaman. Jumlah putik dan kemampuan tanaman untuk menyerbuki akan menentukan apakah bunga stroberi menghasilkan buah atau tidak, dan buah kering yang dihasilkan akan mengandung biji keras (disebut achen) (Prihartman, 2006).

3. Kandungan Tanaman

Kadar vitamin C tanaman stroberi (*Fragaria vesca* L.) cukup tinggi. Stroberi adalah sumber vitamin C yang bagus, tetapi juga menyediakan sejumlah vitamin dan mineral lainnya, termasuk vitamin K, B5, B6, asam folat, potasium, mangan, riboflavin, dan asam lemak omega-3. Stroberi juga kaya akan antosianin dan elagitanin (Harianingsih, 2020). Tanaman stroberi mengandung metabolit sekunder seperti antosianin, katekin, kuarferin, kaemferol, dan asam elagik. 100 gram stroberi mengandung 56-60 vitamin C dan 48-50 mg flavonoid (Dienilah, 2022). Menurut Giampieri (2012), kandungan antosianin dalam 1 kg buah stroberi segar adalah 150-600 mg.

4. Khasiat Zat Aktif Tanaman Stroberi

stroberi (*Fragaria vesca* L.) memiliki banyak manfaat. Stroberi dapat digunakan untuk mengobati gangguan saluran cerna, liver, rematik, radang persendian, dan asam urat. Stroberi membantu tubuh menyerap zat besi dari sayuran yang dikonsumsi menjadi lebih cepat. Selain itu buah stroberi juga dapat digunakan sebagai bahan pembuatan kosmetik, karena berfungsi sebagai antioksidan alami yang dapat mengatasi masalah jerawat, membuat kulit lebih halus, memutihkan gigi

dan membantu meningkatkan fungsi otak serta meningkatkan ketajaman penglihatan (Tarigan, 2019). Dalam pengujian tentang respons anafilaksis aktif pada kulit, dapat membuktikan adanya aktivitas anti alergi dari ekstrak stroberi etanol 70%. Aktivitas anti alergi ekstrak etanol 70% buah stroberi setara dengan cetirizine sebesar 0,042 mg/20 g BB. Alternatif anafilaksis atau obat anti alergi dapat dibuat dari ekstrak buah stroberi (Siska *et al.*, 2010). Buah stroberi memiliki khasiat sebagai antioksidan yang sangat kuat karena mampu mencegah radikal bebas terhadap DPPH dengan nilai IC_{50} pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* sebesar 18,87 ppm (Sumerlan *et al.*, 2018).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan yang berasal dari alam yang digunakan dalam pembuatan obat-obatan. Bahan-bahan ini sama sekali belum dilakukan pengolahan, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan-bahan dari alam yang dilakukan pengeringan. Simplisia harus memenuhi standar kualitas yang telah ditentukan, antara lain memenuhi persyaratan nilai batas kadar air (Manalu *et al.*, 2018). Keefektifan obat herbal tergantung dari kualitas simplisia yang digunakan, oleh karena itu perlu dilakukan pengujian mutu simplisia sebelum dibuat menjadi obat herbal. Ekstrak yang terbuat dari simplisia tanaman obat digunakan sebagai bahan aktif dan obat jadi (Gunawan *et al.*, 2004). Simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral adalah tiga jenis simplisia yang dapat dibedakan menurut sumbernya masing-masing. Simplisia nabati adalah tumbuhan, bagian tumbuhan, dan zat yang disekresikan tumbuhan yang dapat diisolasi melalui proses tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berbentuk hewan utuh atau zat-zat penting yang dihasilkan oleh hewan. Sedangkan simplisia pelican atau mineral adalah suatu simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana, seperti serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan *et al.*, 2010).

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang diperlukan adalah kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan buah stroberi (*Fragaria vesca* L.).

Pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan, dan pemeriksaan mutu merupakan tahapan dalam proses pembuatan simplisia yang baik (Departemen Kesehatan RI, 1985).

Pencucian bahan simplisia bertujuan untuk menghilangkan kontaminan seperti kotoran, kerikil, rumput/gulma, tanaman sejenis, potongan rusak/busuk, dan bagian lain yang harus dipilah dan dibuang (Nashfati, 2019). Air bersih digunakan untuk mencuci bahan simplisia tersebut. Tidak butuh waktu lama untuk mencuci bahan karena mudah dan mengandung senyawa yang mudah larut dalam air. Setelah dibersihkan, langkah selanjutnya adalah pengeringan.

Pengeringan adalah proses yang menggunakan energi panas untuk mengurangi kadar air dengan jumlah yang relatif sedikit. Mengurangi kadar air bahan dapat membantu menghentikan proses enzimatik untuk menghindari pembusukan atau kerusakan simplisia. Kandungan air pada bahan atau sampel dapat memicu tumbuhnya jamur dan mikroba lainnya. Selain itu, ketika bahan tersebut masih memiliki kandungan air yang tinggi dapat menguraikan senyawa aktif meskipun setelah sel tersebut mati. Oleh karena itu, pengeringan bahan atau sampel harus dilakukan karena sangat mempengaruhi kualitas simplisia (Lady dan Pranoto, 2020). Pengeringan alami dan pengeringan buatan adalah dua jenis utama proses pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara alami dengan bantuan sinar matahari dan secara buatan dengan menggunakan mesin pengering atau alat pengering (Panangi *et al.*, 2022).

D. Ekstraksi

Salah satu metode pemisahan kimia adalah ekstraksi, di mana pelarut yang sesuai digunakan untuk menghilangkan satu atau lebih komponen atau bahan kimia analit dari sampel. Ekstraksi bekerja berdasarkan zat yang dapat dipisahkan tergantung pada kelarutannya dalam pelarut tertentu. Jadi, pelarut yang digunakan harus secara efektif dapat menghilangkan komponen analit dari sampel secara maksimal (Leba, 2017). Hasil ekstraksi disebut dengan ekstrak.

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan pelarut yang sesuai. Semua pelarut kemudian diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diproses hingga memenuhi persyaratan standar yang ditetapkan (Illing *et al.*, 2017). Ada tiga jenis ekstrak berdasarkan teksturnya yaitu ekstrak cair, kental, dan kering. Ekstrak dengan kadar air lebih dari 30% dianggap ekstrak cair karena masih bisa dituang. Ekstrak kering mengandung kurang dari 5% air, sedangkan ekstrak kental mengandung antara 5 sampai 30 % air (Hartini, 2016).

Kelebihan maserasi sebagai metode ekstraksi yaitu mudah dalam penggunaannya, sehingga maserasi telah menjadi teknik ekstraksi yang paling banyak digunakan. Proses ekstraksi dapat digunakan untuk produksi ekstrak skala laboratorium atau pabrik. Wadah inert tertutup rapat yang berisi bubuk sampel dan pelarut yang sesuai disimpan pada suhu kamar selama prosedur ekstraksi. Ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut sama dengan konsentrasi senyawa dalam sel tanaman, maka proses ekstraksi dapat diselesaikan. Setelah prosedur ekstraksi selesai, sampel dan pelarut dipisahkan menggunakan penyaringan. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelemahan antara lain waktu yang dibutuhkan untuk proses maserasi relatif lama, banyak pelarut yang digunakan, dan beberapa senyawa kemungkinan akan hilang. Tidak semua senyawa dapat diekstraksi pada suhu ruang, namun metode ekstraksi ini dapat digunakan untuk senyawa yang bersifat termolabil untuk menghindari kerusakan akibat maserasi (Mukhriani, 2014).

Metode ekstraksi memiliki kelebihan antara lain alat yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu hanya alat yang sederhana, dapat digunakan pada analit baik yang tahan pemanasan maupun tidak tahan pemanasan (Sanny, 2022).

Pelarut adalah suatu cairan pembawa dalam metode ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan daya larut baik daya larut zat aktif, zat tidak aktif, dan zat yang tidak diinginkan. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah etanol 96%. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena memiliki kemampuan untuk melarutkan senyawa kimia yang dapat larut dalam pelarut polar hingga non polar (Artini *et al.*, 2013). Ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol memiliki keuntungan yaitu mempersulit pertumbuhan kapang dan bakteri dalam konsentrasi etanol 20% ke atas. Etanol bersifat netral, tidak beracun, absorpsi baik, dan dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan. Etanol untuk memekatkan ekstrak hanya memerlukan sedikit pemanasan. Etanol lebih mudah menembus membran sel dengan mengekstraksi bahan intraseluler dari bahan tanaman. Pelarut etanol 96% untuk ekstraksi memiliki keunggulan dibandingkan pelarut dan air yaitu dapat mengekstraksi senyawa dengan pelarut etanol lebih banyak dibandingkan metanol dan air (Aminah *et al.*, 2017).

E. Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas atau tidak berpasangan sehingga akan menghasilkan sifat radikal bebas yang tidak stabil. Karena sifatnya tidak stabil, radikal bebas sangat reaktif, yang berarti radikal bebas dapat memperoleh sepasang elektron untuk mencapai stabilitas dengan menempel pada molekul atau senyawa di sekitarnya. Radikal bebas dapat terbentuk terus-menerus di dalam tubuh dan menyebabkan munculnya berbagai penyakit. Melalui donor elektronnya, senyawa antioksidan dapat menetralkan radikal bebas, sehingga radikal bebas bersifat stabil dan tidak reaktif (Handayani *et al.*, 2020).

Ada dua sumber radikal bebas, yaitu sumber radikal bebas eksogen dan endogen. Radikal eksogen berasal dari luar tubuh, antara lain sinar UV, asap rokok, dan paparan bahan kimia beracun seperti karbon tetraklorida. Sinar UV mengandung sinar UVA dan UVB. Sinar UVA dapat merusak kulit dengan menembus lapisan basal kulit dan menyebabkan keriput, sedangkan sinar UVB dapat merangsang sel melanosit untuk memproduksi melanin terlalu banyak di kulit sehingga akan menggelapkan kulit dan meninggalkan noda hitam (Simanjuntak, 2012). Radikal bebas endogen berasal dari produk metabolisme sel normal dalam tubuh. Pada sumber endogen, metabolisme sel normal merupakan sumber utama produksi *Radical Oxygen Species* (ROS). ROS adalah molekul yang dibentuk oleh kombinasi molekul oksigen dengan molekul lain sehingga akan menciptakan elektron yang tidak berpasangan. Elektron berpasangan dari molekul oksigen bersifat stabil. Jadi ketika ada elektron tanpa pasangan, molekul oksigen akan bersifat reaktif dan tidak stabil. Jika ketidakstabilan elektron terus berlanjut maka akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel. ROS diproduksi dalam sel oleh mitokondria (Andarina *et al.*, 2017). Selain ROS, mitokondria juga menghasilkan *Radical Nitrogen Species* (RNS). RNS merupakan radikal bebas alami yang diproduksi oleh proses enzimatik dalam tubuh (Valko *et al.*, 2006). Radikal bebas yang terbentuk secara berlebihan dapat menyebabkan ancaman bagi sel, karena membran sel dan inti sel akan dirusak dan dihancurkan. Proses tersebut dapat menyebabkan percepatan terjadinya penuaan jaringan, cacat DNA dan pembentukan sel tumor (Astri, 2012).

F. Antioksidan

Radikal bebas penyebab penyakit dapat dinetralkan oleh antioksidan, yang melindungi asam lemak tak jenuh, membran sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid dari oksidasi. Senyawa antioksidan adalah zat yang menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Dengan memberikan elektron, menjebak radikal bebas, dan menghentikan reaksi berantainya, bahan kimia antioksidan sehingga dapat menghambat proses oksidasi radikal bebas (Ramadhan *et al.*, 2010).

Antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier adalah tiga kategori antioksidan. Antioksidan primer dapat menghentikan reaksi berantai dengan menstabilkan radikal bebas dengan menyediakan ion hidrogen atau elektron. Kompleks lipid antioksidan dapat terbentuk ketika antioksidan primer bereaksi dengan lipid radikal bebas (Nur, 2022). Antioksidan non-enzimatik, sering dikenal sebagai mekanisme pertahanan preventif, dikenal sebagai antioksidan sekunder. Garis pertahanan ini bekerja dengan mengkelat logam atau mendegradasinya sehingga tidak dapat melepaskan senyawa oksigen reaktif. Komponen makanan dan non-gizi dari buah-buahan dan kacang-kacangan dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder. Radikal bebas dinetralkan oleh molekul antioksidan sekunder ini (Wulandari, 2021). Antioksidan tersier, di sisi lain, bekerja untuk memulihkan sel dan jaringan yang rusak akibat radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim metionin sulfoksida reduktase. Enzim metionin sulfoksida reduktase bekerja di inti sel untuk memperbaiki DNA yang rusak. Tubuh manusia membutuhkan enzim ini karena potensi kegunaannya dalam perbaikan DNA, terutama pada pasien kanker (Anindya, 2020).

Senyawa antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan menyumbangkan satu elektron pada senyawa lain yang bertindak sebagai zat pengoksidasi sehingga dapat mencegah aktivitas zat pengoksidasi tersebut (Damanis, 2020). Antioksidan memiliki empat jenis mekanisme yang membantu, membatasi, atau melawan reaksi berantai dari oksidasi lemak menjadi radikal bebas, antara lain hidrogen pada antioksidan, pelepasan elektron pada antioksidan, penambahan dan pembentukan cincin aromatik pada asam lemak, dan pembentukan antioksidan pada ikatan kompleks antara asam lemak dan cincin aromatik antioksidan (Windono *et al.*, 2001).

Nilai IC_{50} , yang menentukan konsentrasi suatu zat yang dapat menghambat radikal bebas hingga 50%, sering digunakan sebagai parameter aktivitas antioksidan. Menurut Sunarni (2005), aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penurunan nilai IC_{50} , dan sebaliknya jika nilai IC_{50} meningkat maka aktivitas antioksidan akan menurun. Menurut Molyneux (2004), Klasifikasi aktivitas antioksidan pada ekstrak yang diuji dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

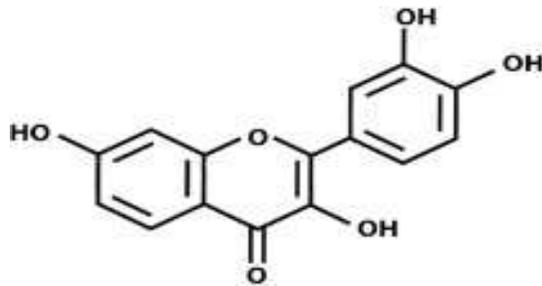
Intensitas	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200
Sangat lemah	>200

Secara umum banyak tanaman yang mengandung metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antioksidan. Golongan senyawa antioksidan mempunyai mekanisme kerja yang berbeda-beda dalam menangkal radikal bebas. Macam- macam golongan senyawa tersebut antara lain antosianin, flavonoid, fenolat, tannin, vitamin C, dan terpenoid.

Telah terbukti bahwa sifat antioksidan antosianin dapat mencegah kerusakan sel endotel yang melapisi dinding pembuluh darah dengan mencegah oksidasi lemak jahat dalam tubuh, khususnya lipoprotein densitas rendah (Samber *et al*, 2013). Sebagai antioksidan, antosianin bekerja dengan dua cara yaitu secara langsung dan tidak langsung. Antosianin adalah antioksidan kuat karena menyumbangkan elektron dari atom hidrogen untuk menetralkan spesies oksigen reaktif (ROS). Radikal hidroksil (OH^*), peroksida (ROO^*), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan superoksida (O_2^*) adalah semua jenis ROS. Produksi ROS yang tidak terkendali dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular, kanker, dan kondisi degeneratif lainnya dengan menyerang lipid, protein, dan asam nukleat tubuh (Ifadah *et al*, 2021). Dengan meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), mengaktifkan gen yang mengkode enzim tersebut, dan memblokir enzim nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oksidase dan xanthine oxidase, antosianin secara tidak langsung meningkatkan antioksidan endogen dalam tubuh (Samber *et al.*, 2013).

Ada dua jenis mekanisme aktivitas antioksidan flavonoid yaitu langsung dan tidak langsung. Untuk menangkal kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, flavonoid mendonorkan ion hidrogen

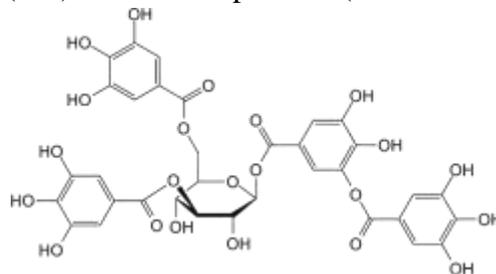
secara langsung (Walden *et al.*, 2009). Flavonoid meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen, menjadikannya antioksidan yang efektif secara tidak langsung. Salah satu mekanisme untuk meningkatkan ekspresi gen antioksidan yaitu dengan melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 relates factor 2* (Nrf2) sehingga akan terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen SOD (*Superoxidedismutase*) (Wayan *et al.*, 2012).



Gambar 3. Struktur Dasar Flavonoid

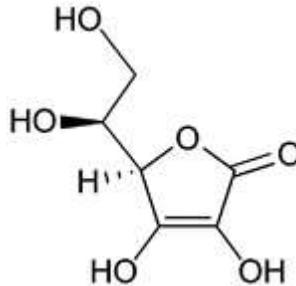
Fenolat termasuk jenis senyawa polifenol yang bermanfaat sebagai antioksidan. Fenolat sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan cara bereaksi mengurai radikal peroksida (ROO^*) (Adedapo *et al.*, 2008) dan radikal hidroksi (HO^*), melakukan transfer atom hidrogen, transfer elektron tunggal, transfer elektron kehilangan proton sekuensial, dan chelation logam transisi sehingga akan menghasilkan reaksi fenoksi yang lebih stabil (Lim *et al.*, 2007).

Tannin sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan cara melakukan pengendapan protein dan pengelut logam (Noer *et al.*, 2018). Senyawa tannin memiliki aktivitas antioksidan yang berperan sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat produksi oksidan (O_2). Penghambatan O_2 dapat mengurangi pembentukan H_2O_2 yang dapat mengakibatkan produksi asam hipoklorit (HOCl) dan OH akan ikut terhambat serta dapat menghambat langsung oksidan reaktif seperti radikal hidroksi (OH) dan asam hipoklorit (Yulianti *et al.*, 2021).



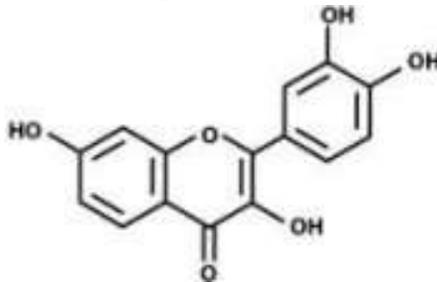
Gambar 4. Struktur Tannin

Vitamin C memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron pada radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi oksidatif sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi untuk mencuri elektron dari sel dan DNA (Pakaya *et al.*, 2014).



Gambar 5. Struktur vitamin C

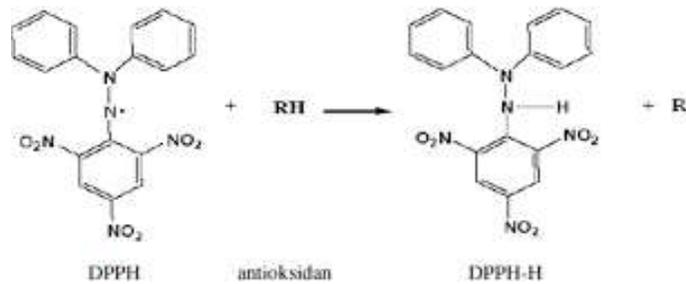
Mekanisme kerja terpenoid sebagai antioksidan yaitu dengan mendonasikan atom hidrogen dan berikatan dengan senyawa radikal bebas yang dibentuk dari proses oksidasi untuk membuatnya menjadi lebih stabil dan tidak reaktif (Saputri, 2020).



Gambar 6. Struktur Terpenoid (Azalia *et al.*, 2023)

Metode DPPH menggunakan radikal bebas sintetis yang larut dengan molekul polar. Penapisan aktivitas penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH memiliki beberapa keuntungan, antara lain kecepatan, kemudahan penggunaan, dan biaya rendah. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2- *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), metode DPPH terbukti akurat dan praktis.

Proses oksidasi-reduksi adalah dasar pada metode DPPH. Sebagai radikal yang dapat menerima pasangan elektron dari atom hidrogen pada zat antioksidan, difenilpicrilhidrazil (DPPH) dapat mengalami proses berikut:



Gambar 7. Reaksi DPPH menjadi DPPH-H (Risma, 2022)

DPPH merupakan larutan yang berwarna ungu. Senyawa antioksidan ketika mereduksi DPPH akan menjadikan larutan DPPH berubah warna menjadi warna kuning sehingga menjadi DPPH-H. Intensitas aktivitas antioksidan dapat diperkirakan dari perubahan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diterima oleh DPPH. Spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm dapat digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan suatu bahan kimia (Widyasanti *et al.*, 2016).

Metode DPPH dapat diterapkan pada bahan padat atau cair. Uji DPPH berguna untuk skrining awal sampel, terutama untuk ekstrak tanaman. Hasil dari uji antioksidan menggunakan metode DPPH diinterpretasikan dengan variabel kapasitas antioksidan dan persentase penghambatan. Nilai Konsentrasi Inhibitor (IC_{50}), didefinisikan sebagai konsentrasi di mana 50% penghambatan dicapai oleh senyawa antioksidan, dapat digunakan untuk memperkirakan kemampuan penghambatan. Menurut penelitian Parwata (2016), nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan, artinya nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih besar.

G. Efek kombinasi

Pemberian kombinasi sediaan herbal adalah untuk memperluas aktivitas terapeutik dari suatu zat aktif, karena zat aktif dalam obat herbal tunggal biasanya hanya akan memberikan efek secara tunggal saja. Hal tersebut dapat menimbulkan suatu anggapan bahwa apabila suatu senyawa obat yang memiliki efek tunggal jika dikombinasikan dengan obat herbal lainnya akan menghasilkan suatu efek. Efek komplementer, efek sinergis, dan efek kontraindikasi merupakan tiga macam interaksi yang mungkin terjadi antara kandungan kimia obat herbal (Tjay *et al.*, 2007).

Efek komplementer adalah efek terapeutik yang dihasilkan dari kombinasi beberapa senyawa yang saling membantu dalam pencegahan atau pengobatan suatu penyakit, tetapi melalui mekanisme yang berbeda. Efek sinergis merupakan efek terapi yang dihasilkan dari kombinasi dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan, baik melalui mekanisme aksi yang sama maupun dengan mekanisme aksi yang berbeda. Efek kombinasi yang terakhir adalah efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang dihasilkan karena adanya kandungan kimia yang memiliki sifat yang bertentangan (Ningsih, 2016).

H. Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer adalah rangkaian alat yang mengukur intensitas cahaya dan panjang gelombang. Cahaya dengan panjang gelombang tertentu dapat dihasilkan oleh spektrometer, sedangkan intensitas cahaya yang diteruskan, dipantulkan, atau dipancarkan dapat diukur dengan fotometer (Khopkar, 2003).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah penyerapan cahaya material pada panjang gelombang tertentu. Setiap zat memiliki absorbansi pada panjang gelombang tertentu yang khas. Panjang gelombang yang memiliki absorbansi tertinggi dapat digunakan untuk mengukur kadar zat yang diperiksa. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi oleh zat berbanding lurus dengan kadar zat (Helwandi, 2016).

Spektrofotometer menggunakan lampu tungsten sebagai sumber cahayanya. Tegangan lampu mengontrol arus cahaya. Dalam rentang ultraviolet, lampu hidrogen berfungsi sebagai sumber. Lampu tungsten menghasilkan cahaya dalam spektrum tampak (antara 380 dan 900 nm) dan dengan demikian berguna untuk berbagai aplikasi. Resolusi monokromator dapat diuji menggunakan lampu merkuri (Warono dan Syamsudin, 2013) dan panjang gelombang cahaya yang dipancarkannya dapat dikalibrasi ke daerah UV pada 365 nm.

Monokromator berfungsi sebagai komponen sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatik untuk mendapatkan radiasi monokromatik. Celah, filter, prisma, kisi, dan celah keluar membentuk monokromator spektrofotometer (Khopkar, 2003).

Sampel untuk analisis disimpan dalam kuvet. Kuvet dapat berupa kaca atau leburan silika, dengan kuvet kaca yang paling umum digunakan. Karena kemampuannya untuk menyerap sinar UV, kuvet kaca dapat digunakan untuk pengukuran dalam rentang 380-1100 nm

(Khopkar, 2003), sedangkan kuvet silika fusi digunakan untuk pengukuran dalam rentang 190-1100 nm.

I. Landasan teori

Jeruk nipis merupakan tanaman yang memiliki manfaat untuk menambah nafsu makan, menghentikan diare, antipiretik, antiinflamasi dan antioksidan. Jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan. Uji aktivitas pada perasan buah jeruk nipis didapatkan persentase peredaman DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 49.589 (Permata *et al.*, 2018). Sedangkan pada ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis memiliki nilai IC_{50} 54,458 ppm.

Stroberi memiliki fungsi sebagai antioksidan, detoksifikasi karsinogen, pencahar (laksatif), anti sembelit, peluruh kencing (diuretik ringan), perbaikan gangguan pencernaan, pencegahan penurunan fungsi otak, pengurangan risiko kanker, dan pencegahan katarak. Aktivitas antioksidan pada stroberi dibuktikan dengan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 20,6 ppm (Inggrid dan Santoso, 2015).

Metabolit sekunder pada jeruk nipis yang berkhasiat sebagai antioksidan berupa flavonoid (eriocitrin, hesperidin dan neoponcirin) (Novriyanti *et al.*, 2022). Sedangkan metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antioksidan buah stroberi berupa antosianin, vitamin C, flavonoid, dan fenol (Juliastuti *et al.*, 2021). Semua metabolit sekunder ini melawan radikal bebas dengan caranya sendiri yang unik.

Sifat antioksidan dapat ditemukan pada antosianin, yang merupakan metabolit sekunder. Sebagai antioksidan, antosianin mencegah kerusakan sel endotel yang melapisi bagian dalam arteri darah (Samber *et al.*, 2013). Flavonoid adalah antioksidan yang efektif karena menetralkan radikal bebas dengan memberi mereka ion hidrogen. (Walden *et al.*, 2009). Fenolat sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja yaitu dengan menghasilkan reaksi fenoksi yang lebih stabil sehingga dapat menangkal radikal bebas (Lim *et al.*, 2007). Metabolit sekunder yang memiliki manfaat sebagai antioksidan yang terakhir yaitu senyawa terpenoid. Terpenoid sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan mendonasikan ion hidrogen kemudian berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas akan menjadi lebih stabil dan tidak reaktif (Saputri, 2020).

Efek komplementer, efek kontraindikasi, dan efek sinergis adalah tiga jenis interaksi yang mungkin terjadi antara kandungan kimia dalam obat herbal. (kirana *et al.*, 2019). Efek yang diharapkan ketika

melakukan kombinasi obat adalah efek sinergisme karena efek sinergis memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Kombinasi antara ekstrak kulit buah jeruk nipis dan buah stroberi diharapkan dapat memberikan efek sinergis.

Metode DPPH digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat diukur dengan menggunakan metode DPPH, dengan mengukur tingkat penyerapan radikal bebas suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Nilai IC_{50} dapat digunakan sebagai parameter aktivitas antioksidan. Metode DPPH digunakan karena mudah diimplementasikan, memberikan hasil dengan cepat, dan membutuhkan sampel dengan jumlah sedikit (Sawiji *et al.*, 2022). Pada panjang gelombang 517 nm, atom hidrogen didonorkan dari molekul DPPH ke senyawa antioksidan sehingga terjadi pergeseran warna dari ungu menjadi kuning (Nugroho, 2022).

J. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan di atas, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, kombinasi ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan buah stroberi (*Fragaria vesca* L.) memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas terhadap DPPH.

Kedua, ekstrak kombinasi kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan buah stroberi (*Fragaria vesca* L.) memiliki aktivitas antioksidan paling efektif dibandingkan ekstrak tunggal sebagai penangkal radikal terhadap DPPH.

Ketiga, perbandingan (3:1) dapat ditentukan sebagai perbandingan yang paling efektif dari kombinasi ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan buah stroberi (*Fragaria vesca* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas terhadap DPPH.