

**ISOLASI DAN UJI ANTIOKSIDAN HISPERIDIN DARI KULIT JERUK BALI  
(*Citrus maxima* Merr) SEBAGAI PENINGKAT IMUN UNTUK MENCEGAH COVID-19 DENGAN METODE DPPH.**

**Tatiana Siska Wardani<sup>1</sup>, Utomo Kartiko Endrat<sup>2</sup>, Mahadewi Putri Kezia<sup>3</sup>, Al Fajri Razid Faizur Muhammad<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3</sup> Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Duta Bangsa.  
Email: tatiana\_siska@udb.ac.id

**ABSTRAK**

Kulit buah jeruk selama ini tidak dimanfaatkan padahal kandungan senyawa kulit jeruk yang sangatlah bervariasi salah satu senyawa yang terdapat dalam kulit jeruk adalah hesperidin yang termasuk golongan flavanoid. Senyawa hesperidin mempunyai potensi yang lebih tinggi dibanding senyawa pada lengkuas, secang, maupun kunyit. Hal itu dikarenakan senyawa jeruk itu dapat mengikat kuat dengan mudah pada protein target pada virus maupun sel inang sehingga dapat ditarik kesimpulan senyawa di jeruk membuat blokade yang menghambat virus dalam berkembang melakukan replikasi dan menginfeksi sel inang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi hesperidin dari kulit jeruk dan mengetahui nilai IC<sub>50</sub>. Ekstraksi dilakukan dengan metode soxletasi kemudian dilakukan identifikasi hesperidin kemudian dilanjutkan uji kemurnian isolat dengan penentuan titik leleh dan dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometri UV dan spektrofotometri infra merah dan FT-IR. Hasil yang diperoleh dari KLT, nilai Rf dari kulit buah jeruk bali 0,83 sedangkan nilai Rf pembanding hesperidin 0,80. Hasil spektrum UV dan IR menunjukkan bahwa isolat identik dengan hesperidin baku, sedangkan untuk uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH 0,1 mM dan hitung nilai IC<sub>50</sub>. Analisis statistik digunakan uji T-Test. Hasil uji DPPH ekstrak kulit jeruk bali memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 54,458 µg/ml.

**Kata kunci :** *Hesperidin, SARS-CoV-2, Antioksidan, DPPH*

**ISOLATION AND ANTIOXIDANT TEST OF HYSPERIDINE FROM JERUK BALI SKIN (*Citrus maxima* Merr) AS IMMUNE BOOST TO PREVENT COVID-19 WITH DPPH METHOD.)**

**ABSTRACT**

Citrus peels have not been used so far, even though the content of orange peel compounds is very varied, one of the compounds contained in orange peels is hesperidin which belongs to the flavonoid group. Hesperidin compounds have a higher potency than compounds in galangal, cup, and turmeric. This is because citrus compounds can bind strongly to target proteins on viruses and host cells, so it can be concluded that compounds in oranges create a blockade that inhibits the virus from replicating and infecting host cells. This study aims to isolate and identify hesperidin from orange peel and determine the IC<sub>50</sub> value. Extraction was carried out using the soxletation method, then hesperidin was identified and then the isolate purity was tested by determining the melting point and identified using UV spectrophotometry and infrared spectrophotometry and FT-IR. The results obtained from TLC showed that the Rf value of grapefruit peel was 0.83 while the comparison Rf value for hesperidin was 0.80. The results of the UV and IR spectra showed that the isolates were identical to standard hesperidin, while the antioxidant test was carried out using the 0.1 mM DPPH method and calculate the IC<sub>50</sub> value. Statistical analysis used the T-Test. The results of the DPPH test of grapefruit peel extract had strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 54.458 g/ml

**Keywords:** *Hesperidin, SARS-CoV-2, Antioksidan, DPPH*

**PENDAHULUAN**

Diawal tahun 2020 dunia digemparkan dengan merebaknya virus baru yaitu corona virus jenis baru (SARS-CoV-2) dan

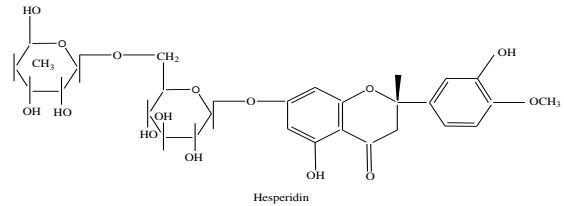
penyakitnya bernama corona virus disaese 2019 (COVID 19). Diketahui virus ini berasal dari Wuhan, Tiongkok. Ditemukan pada akhir desember 2019 sampai saat ini sudah diketahui terdapat 65 negara yang telah terjangkit virus ini (Data WHO, 2020). Akibat (SARS-CoV-2)

ini angka kematian diprediksi akan meningkat 21% pada tahun 2018 (WHO, 2011). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh. (Badarinath *et al.*, 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antoksidan. (Mandal *et al.*, 2009).

Metode peredaman berdasarkan radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Prayoga, 2013)

Hesperidin pertama kali diisolasi oleh Leberton pada tahun 1828 dari albedo (spon bagian dalam kulit) jeruk dari famili Hesperides, dan diberi nama hesperidin (Leberton, 1828). Adanya hesperidin dalam jeruk telah diketahui oleh Pheffer pada tahun 1872 (Pheffer, 1874). Neohesperidin, isomer hesperidin, telah diisolasi bersama-sama dengan hesperidin dari buah jeruk masam belum masak. Neohesperidin, senyawa pahit, terdapat dalam buah jeruk pahit, *Citrus aurantium*, sedangkan hesperidin, senyawa tidak pahit, merupakan senyawa flavonoid yang dominan dalam lemon dan jeruk yang biasanya manis, *Citrus sinensis* (Sastrohamidjojo, 1995).

Hesperidin dapat diisolasi dengan dua cara : (a) mengekstraksi kulit jeruk kering dengan petroleum eter dan metanol. Pelarut pertama menghilangkan minyak atsiri dan yang ke dua menghilangkan glikosida., (b) kulit jeruk yang dipotong-potong diekstrak dengan alkali dan ekstrak diasamkan. Hesperidin dapat dimurnikan dengan penambahan formamida-arang yang diaktifkan, disebabkan ketidak larutannya yang tinggi, bentuk kristal alami hesperidin merupakan salah satu flavonoid yang paling mudah diisolasi



Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa hesperidin banyak ditemukan pada kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) dan berapakah nilai IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan hesperidin pada jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.)?

## METODE

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: Alat gelas, timbangan elektrik, gelas beker, gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, cawan porselin, KLT, bejana kromatografi dan tutup bejana, pipa kapiler, kertas penjenuh dan penyemprot bercak. Alat soxhletasi dan alat-alat bejana kromatografi (chamber), pipa kapiler, rangkaian alat penampak bercak, spektrofotometer UV Beckman DU 600, kuvet, dan spektrofotometer IR FT/IR-4200 tipe A

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain: kulit buah jeruk bali, vitamin C, DPPH, etanol 70%, silika gel 60 F254, selulose, kloroform-metanol (50:50), etil asetat, asam formiat, asam asetat, aquadest, asam fosfomolibdat, ammonia dan rutin. Metanol, petroleum eter, glasial p.a, amonia, t-butanol, asam asetat, aquadestilata, KBr, etanol 70%, serbuk magnesium sulfat, asam klorida pekat, sudan III.

### 3. Identifikasi dan pembuatan serbuk kulit jeruk bali

Identifikasi tanaman jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) dilakukan di B2P2TO2T Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Hasil determinasi ini sesuai dengan kunci determinasi menurut Becker (1968). Simplisia kulit buah jeruk bali diserbuk menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan no.25 Mesh.

### 4. Pembuatan ekstrak kulit jeruk bali

Serbuk kulit buah jeruk bali masing-masing ditimbang sebanyak 50 g, dilakukan ekstraksi dengan cara sokletasi.. Soxhletasi dilakukan menggunakan pelarut petroleum eter sampai

mendidih. Selanjutnya ampas yang bebas lipid disokhletasi menggunakan metanol sampai hasilnya tidak berwarna. Hasil sokhletasi diuapkeringkan, kemudian ekstrak dikristalkan dengan penambahan asam asetat glasial yang selanjutnya disebut isolat kulit buah jeruk bali (Krishnawasmy, 1996).

## 5. Identifikasi kualitatif

**5.1. Identifikasi flavonoid.** Ekstrak ditambahkan 0,1mg serbuk Mg, 2ml alkohol : asam klorida (1:1) dan 5ml pelarut amil alkohol dikocok kuat biarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Depkes, 1979).

**5.2. Identifikasi polifenol.** Ekstrak ditambah reaksi ditambah 5 ml FeCl<sub>3</sub>. Uji positif jika terjadi larutan berwarna biru atau kehitaman (Jones & Kingdom, 2006).

**5.3. Identifikasi saponin.** Ekstrak ditambah air panas sama banyak didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes, 1977).

**5.4. Identifikasi alkaloid.** Ekstrak ditambah dengan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih. Selanjutnya serbuk atau ekstrak ditambah Bouchardat terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes, 1986)..

## 6. Uji Aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH

**6.1. Pembuatan Larutan DPPH (Phongphaichit et al, 2007).** Ditimbang DPPH sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan 100 mL metanol absolut dalam labu ukur dan diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm.

**6.2. Pengukuran daya antioksidan blangko.** Pengujian dengan cara memipet 3,5 mL DPPH 50 ppm, kemudian dibiarkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm.

**6.3. Pengukuran daya antioksidan ekstrak metanol kulit jeruk bali.** Dibuat larutan stok 500 ppm. Kemudian dibuat pengenceran 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 mL DPPH 50 ppm lalu biarkan pada suhu kamar selama 30

menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 514 nm.

**6.4. Pengukuran aktivitas antiradikal bebas sampel .** Dibuat larutan perbandingan (Vitamin C) 500 ppm Ekstrak metanol kulit buah jeruk ditimbang dengan seksama 0,25 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol 70% sampai 25 ml, sehingga diperoleh kadar 1%. Dari kadar 1% dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 20, 40 dan 80µg/mL. Vitamin C sebanyak 0,5 mg ditambahkan air sampai 50,0 ml sehingga diperoleh kadar 1%. Dari kadar ini dibuat seri konsentrasi sebesar 1, 2, 4, 8 µg/mL. Aktivitas penangkap radikal DPPH (%) dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ pengikatan radikal bebas} = \frac{\text{abs. standar} - \text{Abs sampel}}{\text{abs standar}} \times 100\%$$

Data aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH dianalisis dan masing-masing dihitung nilai IC50 melalui analisis probit. IC50 adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% DPPH

## 7. Persiapan isolasi hesperidin ekstrak kulit jeruk bali

**7.1. Identifikasi isolat dengan KLT.** Isolat diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak TBA (t-butanol:asam asetat: air dengan perbandingan 3:1:1 dan fase diam selulosa dan silika gel GF254. Isolat dan perbandingan, masing-masing dilarutkan dalam metanol kemudian ditotolkan pada fase diam dan dikembangkan dengan fase gerak sampai batas eluasi, selanjutnya dikeringkan dan dilakukan identifikasi noda di bawah sinar UV 366 nm. Digunakan uap amonia sebagai penampak noda kemudian dihitung nilai Rf. Nilai Rf yang diperoleh dari isolat dibandingkan dengan nilai Rf perbandingan hesperidin.

**7.2. Penentuan jarak leleh. Penentuan jarak leleh** isolat kulit buah jeruk manis dengan alat elektro thermal melting point apparatus. Glikosida flavonoid (hesperidin) memisah keluar sebagai serabut-serabut yang tidak berwarna, dengan jarak leleh 252<sup>0</sup>C-254<sup>0</sup>C.

**7.3. Identifikasi isolat dengan spektrofotometer UV.** Spektrum serapan kandungan kimia tumbuhan dapat diukur dalam larutan yang encer dengan blanko pelarut metanol menggunakan spektrofotometer UV, senyawa yang tidak berwarna nampak pada rentang 200-400 nm, senyawa berwarna nampak pada rentang 200-700 nm.

**7.4. Identifikasi isolat dengan IR .** Cuplikan yang berupa cairan ditempatkan dalam film tipis di antara dua lapis KBr yang transparan terhadap infra merah. Karena digunakan KBr dan harus dijaga tetap kering dan selalu dipegang pada ujung-ujungnya (Sastrohamidjojo, 2001).

**7.5. Identifikasi isolat dengan FT- IR**

Analisis dengan alat Spektrofotometer FT-IR diperoleh dari Laboratorium kimia UAD yogyakarta.

**8. Analisis Data**

Data nilai absorbansi dari ekstrak etanolik herba alfalfa serta baku pembanding, dihitung dengan rumus: % aktivitas antioksidan = Absorbansi blanko (Absorbansi DPPH)- Absorbansi sampel (Absorbansi ekstrak etanolik herba alfalfa dan vitamin C dibagi Absorbansi blanko (Absorbansi DPPH) dikali 100%. Data diolah menggunakan analisa probit antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh IC50. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak kulit jeruk bali

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**1. Pembuatan Serbuk dan ekstrak.**

Pembuatan kulit buah jeruk bali diserbuk dengan blender diperoleh serbuk dengan bobot 457 g dengan rendemen pengeringan 7,73% b/b dan susut pengeringan 90,36% b/b. Pembuatan ekstrak menggunakan pelarut metanol dengan metode sokletasi. Sokletasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan menggunakan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes, 2000).

**2. Identifikasi kualitatif kandungan ekstrak jeruk bali**

Ekstrak kulit jeruk bali sebelum dilakukan penelitian dilakukan identifikasi kandungan untuk memastikan adanya senyawa flavonoid, polifenol, dan saponin,

**Tabel 1. Hasil reaksi warna ekstrak kulit jeruk Bali**

Kandungan senyawa	Hasil percobaan	Pustaka
Flavonoid	+, Warna merah jingga pada amil	Terbentuk warna merah/ jingga pada lapisan kuning/ pada amil

	alkohol	alkohol (Depkes 1979)
Polifenol	+, Larutan warna hitam	Terbentuk larutan warna biru kehitaman (Jones&Kingdom 2006)
Saponin	+, Terbentuk buih dan pada penabahan HCL 2 N buih tidak hilang	Terbentuknya Busa setinggi 1-10 cm. Busa tidak hilang (Depkes 1979)

Hasil identifikasi golongan senyawa dengan reaksi warna dari ekstrak kulit jeruk bali menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin. Hasil dapat dilihat di tabel 1.

**3. Hasil uji Aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH**

Upaya dalam mencari solusi pandemi COVID-19 (Coronavirus Disease 19) dilakukan dengan memanfaatkan metabolit sekunder yang terdapat di dalam *C. aurantifolia* berpotensi menghambat proliferasi SARS-CoV-2 (Severon Acute Syndrome Coronavirus 2). Pendekatan penelitian melalui metode molecular docking dengan mengevaluasi bioaktif metabolit sekunder di dalam *C. aurantifolia* yang dapat menghambat Protease Utama (Mpro) dan Spike (S) glikoprotein dari SARS-CoV-2. Senyawa flavanon glikosida, hesperidin yang banyak diperoleh dalam kulit *C. aurantifolia* menunjukkan aktivitas antioksidan dan penghambat spike glikoprotein. Hesperidin dapat direkomendasikan untuk pengobatan COVID-19 dan dapat dijadikan kandidat yang menjanjikan untuk pengembangan pengobatan infeksi yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Hesperidin memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen terapi spesifik terhadap COVID-19 (Tallei et al., 2020).

Peneliti lain melaporkan bahwa hesperidin merupakan kelompok flavonoid yang banyak ditemukan di dalam kulit *C. aurantifolia* dan diidentifikasi berpotensi sebagai molekul yang



dapat melawan COVID-19. Aktivitas antivirusnya terbukti untuk SARS CoV tertentu, sehingga dapat berguna jika terjadi mutasi lebih lanjut dari SARS-CoV-2. Senyawa flavonoid lain, seperti rutin, nobelitin, naringin, naringenin, dan tangeritin yang banyak diperoleh di dalam *C. aurantifolia* menunjukkan aktivitas antioksidan tinggi (Choi et al., 2007; Lee et al., 2014). Flavonoid yang terdapat di dalam kulit *C. aurantifolia*, seperti naringin menunjukkan kemampuan dapat menahan reaksi berlebihan sistem pro-inflamasi yang dapat membantu dalam melawan COVID-19. Berdasarkan studi eksperimental menggunakan metode molecular docking, hesperidin yang merupakan senyawa bioaktif kelompok flavonoid banyak ditemukan di dalam kulit *C. aurantifolia*, menunjukkan afinitas pengikatan yang tinggi terhadap seluler utama reseptor SARS-CoV-2. Hal ini didukung oleh penelitian lain yang menyatakan bahwa secara molecular docking, nobiletin, dan tangeretin memiliki ikatan yang cukup baik dengan protein Mpro dan S. Data ini sangat mendukung pemanfaatan kulit *C. aurantifolia* sebagai potensi besar untuk menjadikan kandidat obat dalam mencegah Covid-19. Hesperidin dapat digunakan sebagai obat yang berkinerja baik dan direkomendasikan untuk uji klinis. Selain hesperidin, kelompok flavonoid lain seperti naringin dapat membantu menahan reaksi berlebihan sistem pro-inflamasi. Hasil molecular docking hesperidin dan naringin dapat diusulkan menjadi obat anti virus yang dapat dijadikan target obat anti COVID-19. Kulit *C. aurantifolia* yang mengandung komponen utama flavonoid berpotensi sebagai agen obat COVID-19. Dalam penggunaan sebagai terapeutik, hesperidin memiliki keunggulan afinitas pengikatan yang kuat untuk semua target virus dan sebagai obat antivirus, hal ini mendukung pemanfaatan *C. aurantifolia* yang direkomendasikan sebagai agen obat pencegahan COVID-19 (Meneguzzo et al., 2020; Nabil et al., 2016).

Pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dilakukan pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Metode uji menggunakan DDPH ini didasarkan pada penurunan absorbansi akibat perubahan warna larutan warna DPPH, dimana DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk

DPPH Hidrazin yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Molyneux, 2004).

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal adalah nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration 50%*). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel ekstrak etanol daun kemangi dengan simbol X terhadap aktivitas penangkapan radikal rata-rata dengan simbol Y dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka senyawa tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik.

Hasil penelitian kulit jeruk bali memiliki aktivitas kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 54,46 µg/mL, yang didapat dari persamaan  $y=0,685x-0,642$  dengan nilai  $r= 0,992$  sedangkan vitamin C memiliki aktivitas sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 4,77 µg/mL yang memiliki persamaan  $y = 0,685x - 0,042$  dengan nilai  $r= 0,992$ . Hasil Perhitungan % pengikatan radikal bebas ekstrak kulit jeruk bali dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 2. Perhitungan %pengikatan radikal bebas ekstrak kulit jeruk bali**

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% pengikatan radikal bebas	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Ekstrak kulit jeruk Bali	10	0.669	7,6	54,46
	20	0.568	21,4	
	40	0.467	35,4	
	80	0.253	65,0	

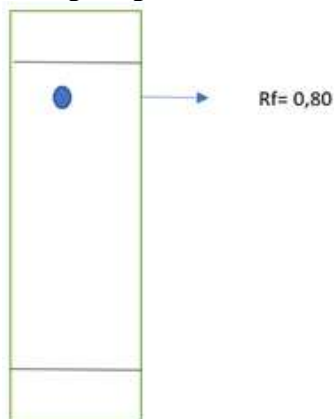
Menurut Phongpaichit *et al* (2007), suatu senyawa dikatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> <10 µg/mL, kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> antara 10-50 µg/mL, sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 50-100 µg/mL, lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 100-250 µg/mL dan tidak aktif apabila IC<sub>50</sub> diatas 250 µg/mL. Hasil Perhitungan % pengikatan radikal bebas sampel pembanding kuarsetin dapat dilihat pada tabel nomer 5.

**Tabel 3. Perhitungan %pengikatan radikal bebas pembanding Vitamin C**

Sampel	Konse ntrasi	Absorba nsi	% pengika tan radikal bebas	Nilai IC50 (µg/ml )
Vitamin C	1	0,68	48.89	4,77
	2	0,59	49.02	
	4	0,41	60.63	
	8	0,23	68.78	
Blangk o DPPH		0,74		

**4. Hasil isolat**

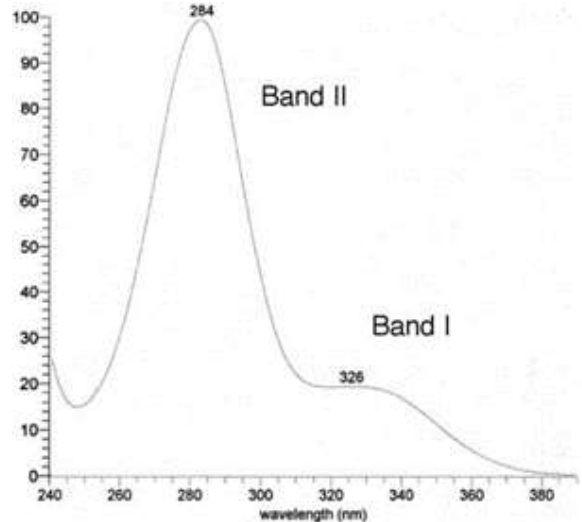
Senyawa hesperidin yang berhasil diisolasi sebanyak 0,316 gr. Pengujian secara kualitatif untuk melihat kemurnian sampel dilakukan uji KLT pada kristal yang telah diperoleh tersebut. Eluen yang digunakan berupa n-butanol (3): asamasetat 6% (1): aquades (1) denganfase diam lapis tipis silika gel. Perbedaan kepolaran pada eluen menunjukkan hasil KLT yang sesuai dengan yang diharapkan. Senyawa yang diisolasi adalah senyawa hesperidin yang merupakan senyawa polar, sehingga menunjukkan spot berwarna kuning dengan nilai Rf 0,80.



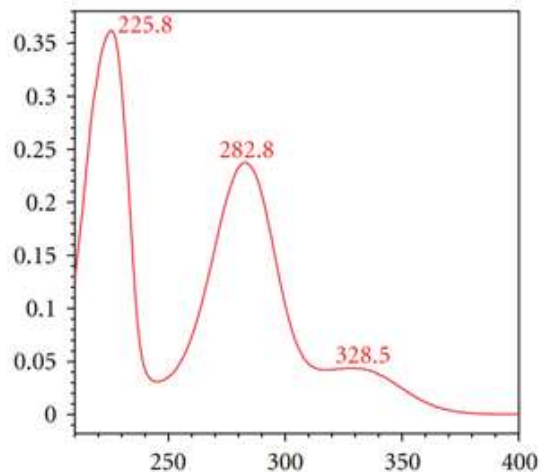
**Gambar 1. Plat KLT hasil isolasi**

**5. Hasil identifikasi isolat dengan spektrofotometer UV**

Spektrum serapan UV dari isolat kulit buah jeruk bali memiliki 2 puncak yaitu 284 nm dan 326 nm, sedangkan Hesperdin pembanding spektrum serapan UV memiliki 2 puncak yaitu 225,8 nm dan 282,8 nm .



**Gambar 2. Gambar spektrum UV isolat kulit buah jeruk Bali**



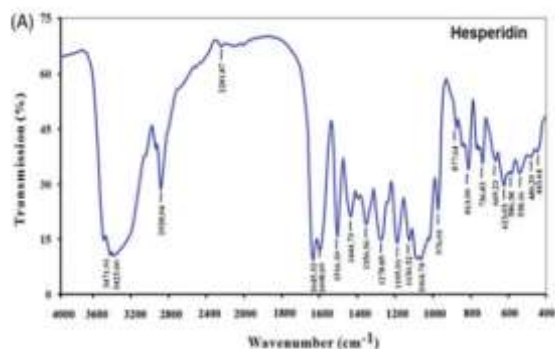
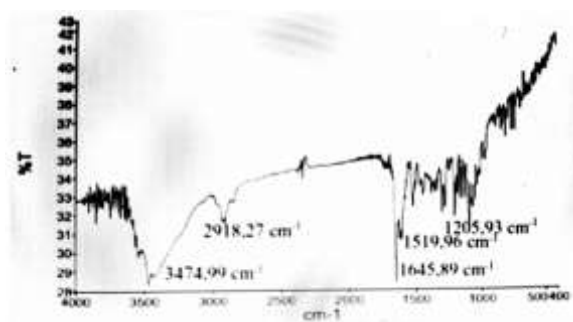
**Gambar 3. Gambar spektrum UV pembanding hesperidin**

Hasil spektrum UV dari isolat kulit buah jeruk manis menunjukkan adanya dua puncak yaitu sinamoil dengan panjang gelombang maksimum 280 nm dan puncak benzoil dengan panjang gelombang maksimum 229 nm. Sedangkan hesperidin sebagai pembanding sinamoil pada 282 nm dan benzoil 228 nm. Berdasarkan hasil spektrum UV, isolat kulit buah jeruk bali dengan hesperidin terjadi perbedaan spektrum karena adanya pergeseran batokromik dan efek hipsokromik.

**6. Hasil IR**

Hasil dari analisis spektrum IR memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3474,99 cm<sup>-1</sup> merupakan vibrasi ulur dari

gugus hidroksi (OH). Pita serapan di daerah bilangan gelombang 2918,27 cm<sup>-1</sup> merupakan gugus C-H dari CH<sub>3</sub>, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1519,96 cm<sup>-1</sup> menunjukkan ikatan C=C dari cincin aromatik. Pita serapan 1205,93 cm<sup>-1</sup> merupakan ikatan C-O dari eter. Dari data spektrum inframerah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa yang diuji mengandung gugus hidroksi (-OH), gugus cincin aromatik (C=C), gugus, CH<sub>3</sub>, dan gugus eter. Spektum IR hesperidin hasil isolasi dapat dilihat dalam Gambar 4.



**Gambar 4. Spektrum FT-IR Senyawa Hesperidin Hasil Isolasi**

## 7. Hasil analisis data

Pada uji normalitas data penelitian ini menurut Shapiro Wilk data menunjukkan terdistribusi normal dan homogen oleh karena itu dilanjutkan uji T Test. Hasil dari uji T Test menunjukkan nilai yang signifikan. Oleh karena itu diambil kesimpulan bahwa secara statistik ekstrak etanol kulit jeruk bali dengan vitamin C tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan, akan tetapi secara konsentrasi ada perbedaan aktivitas antioksidan antara konsentrasi ekstrak kulit jeruk bali dan konsentrasi vitamin C.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diatas dapat disimpulkan bahwa

ekstrak jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) memiliki antioksidan kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 54,46 µg/mL

Senyawa hesperidin yang berhasil diisolasi sebanyak 4,77 gr.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alali FQ, Liu XX & McLaughlin JI. 1999. *Annonaceous Acetigenins : Recent Progress Journal of Natural Product*. 62(3) : 504-40
- Awalia. 2016. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Nonpolar Herba Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Sel T47D [skripsi]. Surakarta. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N., Davidovic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chem*.
- Amarowicz, R., Naczki, M., dan Shahidi, T., 2000, Antioxidant Activity of Crude Tañi of Canola and Rapeseed Hulls, 957-961, JAOCS.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, & Gnanaprakash K. A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2010: 1276-1285.
- Choi, S.Y., Ko, H.C., Ko, S.Y., Hwang, J.H., Park, J.G., Kang, S.H., Han, S.H., Yun, S.H., and Kim, S.J. 2007. Correlation between Flavonoid Content and the NO Production Inhibitory Activity of Peel Extracts from Various Citrus Fruits. *Biol. Pharm. Bul*, 30 : 772-778
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Jakarta : Depkes RI.
- [Departemen Kesehatan]. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Departemen Kesehatan]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Departemen Kesehatan]. 1985, *Tanaman Obat Tradisional*, jilid I, dit jen POM,

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 74-75
- [Departemen Kesehatan]. 1986, Sediaan Galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.1987. *Analisis Obat Tradisional, Jilid I*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Doyle, A., Griffith, S .J . B., 2000. Cell and Tissue Culture for Medical Research, 49, John Willey and Sons, Ltd., New York.
- Dianingati, Ragil, S., Novarina, A., Hana, A.K., dan Muntafi'ah, A.L. 2013. Fortifikasi ekstrak kulit jeruk bali pada susu tinggi kalsium: terobosan baru dalam pengatasan osteoporosis pada wanita menopause, teruji in vivo dan *molecular docking*. Yogyakarta : Program studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N.S., 2009, Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and Its Essential Oil Composition, *Grasas Aceites*, 60(4),405-412.
- Freshney RI. 2000. Animal Cell Culture. A manual of Basic Theqnique 5 edition. New York.
- Fehr, A.R., Perlman, S. (2015). Coronavirus: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015 ; 1282: 1–5
- Haryanti S. and Katno, 2011, Aktivitas Sitotoksik (*Ocimum sanctum* L) pada Sel Kanker Kolon WiDr, *Simposium Nasional V PERHIPBA*, (November), 1–7.
- Hajialyani M, Hosein Farzaei M, Echeverría J, Nabavi SM, Uriarte E, Sobarzo Sánchez E. Hesperidin as a neuroprotective agent: a review of animal and clinical evidence. *Molecules*. 2019;24(3):648. doi:10.3390/molecules24030648.
- Huang A, Zhang Y, Huang C, et al. Research progress of synthesis and biological activity of hesperidin and hesperetin derivatives. *Pharm Prog*. 2018;42(7):56–65.
- <http://ayoyogya.com/read/2020/04/03/39018/p-eneliti-ugm-senyawa-jeruk-berpotensi-cegah-covid-19>.
- Jones W.P,A.D. Kinghorn. 2006. *Extraction Of Plant Secondary Metabolites*. In: Sarker, S. D., Latif,Z. And Gray,A. I.,eds. *Natural Product Isolation* 2nd Ed. New Jersey Humana Press.P.341-342.
- Junedi S. 2000. Uji Sitotoksik metode MTT. Yogyakarta : *Cancer Chemoprevention Researc center*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Korsman, S.N.J., van Zyl, G.U., Nutt, L., Andersson, M.I, Presier, W. (2012). *Virology*. Chins: Churchill Livingston Elsevier.
- Krishnawasmy, RN. 1996. *Learning Organic Chemistry Thourgh natural Products*, Bungalow, India.
- Kim, S.C., Magesh, V., Jeong, S.J., Ahn, K.S., Lee, H.J., Lee, E.O., Kim, S.H., Lee, M.H., Kim, J.H., 2010, Ethanol Extract of *Ocimum sanctum* Exerts Anti-metastatic Activity Through Inactivation of Matrix Metalloproteinase-9 and Enhancement of Anti-oxidant Enzymes, *Food Chem Toxicol* 48(6):1478-1482. .
- Mandal S, Yadav S, Nema R. Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*2009: 102-104.
- Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free RadicalDiphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Tecnol*.
- Meneguzzo, F., Ciriminna, R., Zabini, F., & Pagliaro, M. 2020. Review of Evidence Available on Hesperidin-Rich Products as Potential Tools Against COVID-19 and Hydrodynamic Cavitation-Based Extraction as a Method of Increasing their Production. *Processes*, 8(5), 1–19.
- Nugraheni, 2007, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung



- (*Sunchus arvensis* L.) serta Penentuan EC50 dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Skripsi, 36-39, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang. Olivia, Femi, Alam, Voigt R. 1994. Buku Pelajara Teknologi Farmasi, diterjemahkan oleh Soendaninoerono, edisi ke-5, penyempurnaan, cetakan pertama. Yogyakarta: Gajah Mada University Press Indonesia.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2020). Panduan Praktik Klinis: Pneumonia 2019-nCoV. PDPI: Jakarta.
- Peterson, J.J., Beecher, G.R., Bhagwat, S.A., Dwyer, J.T., Gebhardt, S.E., Haytowitz, D.B., Hoden, J.M., 2006, Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature.
- Raharjo, M., 1992, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Roohbakhsh A, Parhiz H, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life Sci*. 2015;124:64–74. doi:10.1016/j.lfs.2014.12.030. Silalahi, J. 2006. Makanan fungsional, Yogyakarta : Kanisius.
- Sun Q, Xu C, Liu X, et al. Simultaneous determination of aurantiamarin and 5, 7-dimethoxycoumarin in *Citri sarcodactylis* Fructus from Sichuan by HPLC. *Huaxi Pharm J*. 2017;32(6):646–648. WHO. (2020). WHO Director-General’s remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. Cited Feb 13rd 2020. Available on: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-generals-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>. (Feb 12th 2020).
- Sastrohamidjojo, H. 2001. Spektroskopi. Liberty. Yogyakarta.
- Shivaprasad, H.N., Mohan, S., Kharya, M.D., Shiradkar, M.R., dan Lakshman, K., 2005, *In-Vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation: a Review*, <http://www.pharmainfo.net/reviews/vitro-models-antioxidant-activityevaluation-review>, diakses tanggal 4 Mei 2012.
- Tallei, T. E., Tumilaar, S. G., Niode, N. J., Fatimawali, F., Kepel, B. J., Idroes, R., & Effendi, Y. 2020. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. Preprints, April, 2020040102
- Wang, Z., Qiang, W., Ke, H. (2020). A Handbook of 2019-nCoV Pneumonia Control and Prevention. Hubei Science and Technology Press. China
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, A., dan Erowati, T.I., 2001, Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali, *Artocarpus*, Surabaya, 1 (1), 34-43.