

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT *CITRUS BERGAMIA* DAN *CITRUS AURANTIFOLIA* DAN PEMANFAATANNYA SEBAGAI PELURUH KALSIMUM BATU GINJAL SECARA *IN VITRO*

Armydha Dwi Susanti¹

¹Program Studi Analis Kesehatan Program Diploma Tiga, AKKES 17 Agustus 1945 Semarang
armydha2122@gmail.com
0895410336040

Abstrak

Batu ginjal bisa terbentuk jika urine terlalu banyak mengandung kristal, seperti kalsium, asam urat, oksalat, ataupun zat-zat lain berbentuk kristal, bisa sangat sulit untuk disaring dan akan tertinggal di ginjal. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan jeruk bergamot (*Citrus bergamia*) banyak dimanfaatkan masyarakat karena mengandung flavonoid terutama pada kulitnya. Penelitian ini mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan jeruk bergamot dan pemanfaatannya sebagai peluruh batu ginjal. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP. Batu ginjal yang terlarut diukur berdasarkan kalsium yang terlarut selama 2 hari perendaman dalam ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan jeruk bergamot secara *in vitro*. Pengukuran menggunakan spektrofotometer Visibel pada panjang gelombang 507,5 nm.

Dari hasil penelitian yang dilakukan, pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk nipis dan bergamot dengan metode FRAP dengan standar asam askorbat, dari analisis data diperoleh total aktivitas antioksidan pada kulit jeruk bergamot sebesar 36,39 mgAAE/g ekstrak. Sedangkan total aktivitas antioksidan dari kulit jeruk nipis sebesar 21,727 mgAAE/g ekstrak. Didapatkan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan ekstrak etanol kulit jeruk bergamot yang dapat meluruhkan batu ginjal setelah dilakukan perendaman selama 48 jam. Hasil dari ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebesar 1321,2 mg/L dan pada ekstrak etanol kulit jeruk bergamot sebesar 2334,8 mg/L. Ekstrak kulit jeruk nipis dan ekstrak kulit jeruk bergamot mampu melarutkan batu ginjal karena adanya kandungan flavonoid.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan ekstrak etanol kulit jeruk bergamot dapat meluruhkan batu ginjal secara *in vitro*.

Kata Kunci: Batu Ginjal, ekstrak etanol, *Citrus bergamia*, *Citrus aurantifolia*

Abstract

Kidney stones can form if urine contains too many crystals, such as calcium, uric acid, oxalate, or other crystalline substances, which can be very difficult to filter and will remain in the kidneys. Lime (*Citrus aurantifolia*) and bergamot (*Citrus bergamia*) are widely used by the public because they contain flavonoids, especially in their skin. This study determines the antioxidant activity of ethanol extracts of lime and bergamot peels and their use as a kidney stone dissolver. Measurement of antioxidant activity using the FRAP method. Dissolved kidney stones are measured based on the calcium dissolved during 2 days of soaking in ethanol extracts of lime and bergamot peels *in vitro*. Measurements using a Visible spectrophotometer at a wavelength of 507.5 nm. From the results of the study, testing the antioxidant activity of lime and bergamot peel extracts using the FRAP method with ascorbic acid standards, from data analysis, the total antioxidant activity of bergamot peels was 36.39 mgAAE/g extract. While the total antioxidant activity of lime peels was 21.727 mgAAE/g extract. Obtained ethanol extract of lime peel and ethanol extract of bergamot orange peel that can dissolve kidney stones after soaking for 48 hours. The results of the ethanol extract of lime peel were 1321.2 mg/L and the ethanol extract of bergamot orange peel was 2334.8 mg/L. Lime peel extract and bergamot orange peel extract are able to dissolve kidney stones due to the flavonoid content.

Based on the results of the research that has been done, it can be concluded that the ethanol extract of lime peel and ethanol extract of bergamot orange peel can dissolve kidney stones *in vitro*.

PENDAHULUAN

Ginjal adalah salah satu organ tubuh yang berfungsi mengatur sistem sekresi dan melakukan penyaringan pada darah. Ginjal manusia ada dua, ginjal kanan dan ginjal kiri. Batu ginjal adalah batu yang terbentuk ditubuli ginjal kemudian berada di kaliks, infundibulum, pelvis ginjal dan bahkan bisa mengisi pelvis serta seluruh kaliks ginjal dan merupakan batu saluran kemih yang paling sering terjadi. Penyebab terjadinya batu saluran kemih diduga berhubungan dengan gangguan aliran urine, gangguan metabolik, infeksi saluran kemih, dehidrasi dan keadaan-keadaan lain yang masih belum lengkap (idiopatik) (Purnomo,2005)

Kalium sitrat pada jeruk nipis mampu meluruhkan batu empedu sebesar 0,35 gram dan batu ginjal luruh tak bersisa selama 144 jam perendaman (Budiyanto, dkk. (2017). Kulit jeruk nipis diketahui mengandung beberapa jenis fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang berfungsi sebagai antibiotik, anti diare, anti diabetes, mempercepat pertumbuhan sel-sel baru, merangsang pembentukan fibroblas, menghambat pertumbuhan bakteri dan juga bersifat antifungsi (Mandalari, *et. al.*, 2006)

Jeruk bergamot merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Mekanisme kerja minyak atsiri kulit jeruk bergamot dengan merusak dinding sel dan menghambat pertumbuhan serta mematikan bakteri dengan mengganggu terbentuknya dinding sel (Yuliani, R., dkk. 2011). Minyak atsiri kulit jeruk bergamot berdasarkan hasil uji GCMS didapatkan senyawa β -Pinene (1,61%), limonen (30,39%), terpinolen (1,43%) α -pinen (2%), linalool (18,7%), 3,3,5-trimethylhexyl acetat (2,09%), α -terpineol (4,7%), bergamiol (28,6%), α -sital (0,66%), α -terpineol acetate (7,96%), geraniol acetate (1,86%) (Cahyani, I.M. dan Retno A., 2017). Kandungan yang terdapat pada kulit jeruk bergamot yaitu minyak esensial bergamot yang memiliki sifat antiseptik, antibakteri, antijamur, analgesik, antiinflamasi, dan antispasmodik yang bermanfaat bagi kesehatan.

Analisis kalsium (Ca) dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis berdasarkan pembentukan senyawa kompleks kalsium (Ca) dengan mureksid. Senyawa mureksid memiliki gugus kromofor yaitu ikatan rangkap C=C dan C=O yang akan berikatan dengan kalsium (Ca). Penelitian ini dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada pembentukan kompleks kalsium (Ca) dengan mureksid $[Ca^{2+}(Mu^-)_2]$ sebagai indikator yang berfungsi sebagai pengikat kalsium agar absorbansi kalsium dapat terbaca pada Spektrofotometri UV-Vis (Atay, N. Z. & Varnali, T., 200)

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot untuk meluruhkan batu ginjal secara *in vitro*. Perendaman batu ginjal dalam ekstrak kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot selama 48 jam secara *in vitro*.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental yang merupakan penelitian yang dilakukan dengan merendam batu ginjal ke dalam ekstrak kulit jeruk nipis dan jeruk bergamot secara *in vitro*. Kemudian batu ginjal yang meluruh sebagai kalsium yang terlarut dalam ekstrak diukur dengan spektrofotometer visible pada Panjang gelombang 507,5 nm. . Pengambilan sampel dengan metode *purposive sampling* dari jeruk yang dijual di pasar Johar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari- Maret 2021, bertempat di Laboratorium Toksikologi Klinik Akademi Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, timbangan analitik, botol ekstrak, oven, kertas saring, blender, spektrofotometer UV-Vis. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk nipis, kulit jeruk bergamot, alcohol 96%, batu ginjal hasil operasi, indicator mureksid, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, NaOH 0,1 N, FeCl_3 0,1%, HCl 2 N, asam tartrat 5%, asam sulfat.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan ekstrak

Kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot dipotong kecil kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. kulit jeruk yang sudah kering diblender hingga menjadi serbuk. Masing-masing serbuk kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot yang didapat ditimbang sebanyak 20 gram. Masing-masing sampel diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml (Simplisia : pelarut = 1:10) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam dengan pengaduk. Filtrat disaring dengan kertas saring whatman kemudian dimasukkan warmer sehingga didapatkan ekstrak kental kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot.

2. Pengujian senyawa aktif ekstrak kulit jeruk nipis dan kulit bergamot.

Uji Flavonoid dengan menambahkan etanol dan FeCl_3 ke dalam ekstrak. Uji Alkaloid pada ekstrak dengan menambahkan HCl 2 N kemudian dipanaskan 2 menit kemudian disaring dan tambahkan reagen wagner. Uji adanya Tannin dalam ekstrak dengan merebus ekstrak kedalam aquades kemudian ditambahkan FeCl_3 0,1%. Uji Saponin dengan ekstrak yang ditambahkan air kemudian dikocok ditandai dengan terbentuknya buih. Uji adanya Kalium dengan menambahkan asam tartrat 5%.

3. Pengujian aktivitas antioksidan kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot

Pengujian Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode FRAP. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan larutan standar asam askorbat pada konsentrasi 60-100 $\mu\text{g/mL}$ dalam asam oksalat 1%. Panjang gelombang maksimum diperoleh dari absorbansi larutan standar asam

askorbat 70 µg/mL. Larutan asam askorbat diambil 1 mL, ditambahkan 1 ml dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$, kemudian campuran diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Kemudian ditambahkan 1 ml trikloro asetat (TCA), larutan disentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama sepuluh menit, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 ml, dan ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml $FeCl_3$, ditambahkan larutan $H_2C_2O_4$, kemudian diukur serapannya pada $\lambda = 692,5$ nm.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan jeruk bergamot dengan pembuatan larutan ekstrak masing-masing dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Kemudian pembuatan deret konsentrasi ekstrak 10-50 µg/mL selanjutnya masing-masing dipipet 1 ml larutan sampel tersebut ditambahkan dengan 1 ml dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$, selanjutnya campuran diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan trikloro asetat, lalu disentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 ml, dan ditambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml Feriklorida, ditambahkan larutan $H_2C_2O_4$ hingga tanda batas, kemudian diukur absorbansinya pada λ 692,5 nm.

Analisis data menggunakan persamaan regresi linier antioksidan standar asam askorbat menggunakan metode FRAP dengan rumus : $y = bx + a$. Absorbansi dari sampel mensubstitusi y dalam persamaan regresi sehingga diperoleh konsentrasi sampel sebagai x. Nilai x selanjutnya dimasukkan ke persamaan :

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{x \cdot V \cdot fp}{\text{gram ekstrak}} \text{ mgAAE/g}$$

4. Pengujian kalsium (batu ginjal) terlarut dalam ekstrak kulit jeruk nipis dan ekstrak kulit jeruk bergamot.

Penimbangan batu ginjal sebanyak 100 mg kemudian direndam dalam ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan ekstrak etanol kulit jeruk bergamot selama 48 jam. Kemudian filtrat yang diperoleh dari perendaman 48 jam diambil 0,5 ml lalu dimasukkan labu ukur 100 ml, ditambahkan 1 ml indikator mureksid, lalu ditambahkan aquadest sampai setengah labu, ditambah dengan 2 ml NaOH 0,1 N, kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda batas. Blanko menggunakan filtrat ekstrak kulit jeruk dalam aquades sampai tanda batas. Kemudian dibaca absorbansinya pada λ 507,5 nm.

Perhitungan kalsium batu ginjal terlarut dalam ekstrak berdasarkan persamaan regresi linier standar kalsium. Absorbansi dari sampel mensubstitusi y pada persamaan regresi sehingga diperoleh konsentrasi Ca batu ginjal terlarut (x), selanjutnya nilai x dikalikan dengan faktor pengenceran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

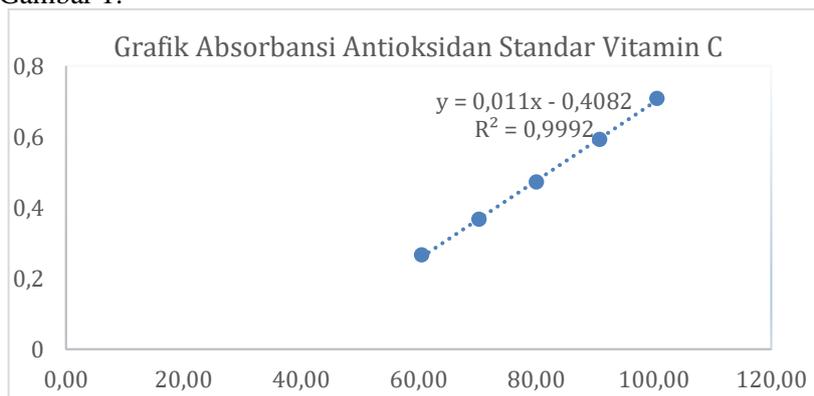
Berdasarkan hasil pengujian fitokimia dan kalium dalam ekstrak kulit jeruk nipis dan jeruk bergamot diperoleh data pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Jeruk Nipis dan Kulit Jeruk Bergamot

No	Golongan Senyawa	Ekstrak Kulit Jeruk Nipis	Ekstrak Kulit Jeruk Bergamot
1	Flavonoid	+	+
2	Alkaloid	+	+
3	Tanin	+	+
4	Saponin	+	+
5	Kalium	-	-

Table 1 menunjukkan bahwa berdasarkan pengujian fitokimia ekstrak kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot mengandung senyawa yang sama yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Pada identifikasi kalsium pada batu ginjal didapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih.

Grafik Absorbansi Antioksidan standar asam askorbat pada konsentrasi 60-100 µg/mL dapat dilihat Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Absorbansi Antioksidan Standar Asam Askorbat

Perhitungan regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) serta larutan pembanding asam askorbat diperoleh persamaan yaitu $y = 0,011x - 0,4082$ dengan nilai $R^2 = 0,992$. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/g ekstrak (AAE). Kandungan antioksidan dinyatakan sebagai equivalen asam askorbat atau *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE). AAE merupakan patokan dasar untuk mengukur sejumlah aktivitas antioksidan yang terdapat dalam suatu sampel terutama ekstrak. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk nipis dan bergamot dengan metode FRAP dengan standar asam askorbat, dari analisis data diperoleh total aktivitas antioksidan pada kulit jeruk bergamot sebesar 36,39 mgAAE/g ekstrak. Sedangkan total aktivitas antioksidan dari kulit jeruk nipis sebesar 21,727 mgAAE/g ekstrak.

Pada penelitian ini pengukuran kalsium batu ginjal menggunakan Spektrofotometri UV-Vis berdasarkan pada reaksi kompleks antara kalsium dengan mureksid membentuk warna ungu

kemerahan karena terbentuk kompleks kalsium mureksid $[Ca^{2+}(Mu^{-})_2]$ (Atay, N. Z. & Varnali, T., 2002). Dalam suasana basa sebagai indikator yang berfungsi untuk mengikat kalsium agar absorbansi kalsium dapat terbaca oleh Spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 507,5 nm. Kalsium batu ginjal yang terlarut dalam ekstrak kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot dari hasil penelitian dapat dilihat pada Table 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentrasi Kalsium Batu Ginjal Terlarut

Sampel	Konsentrasi Ca Terlarut
Ekstrak Kulit Jeruk Nipis	1321,2 mg/L
Ekstrak Kulit Jeruk Bergamot	2334,8 mg/L

Berdasarkan tabel diatas maka dapat diketahui bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot memiliki efek besar dalam meluruhkan batu ginjal. Hasil pengukuran konsentrasi kalsium yang terlarut pada ekstrak kulit jeruk nipis sebesar 1321,2 mg/L dan pada ekstrak kulit jeruk bergamot sebesar 2334,8 mg/L.

Kemampuan ekstrak kulit jeruk nipis dan ekstrak kulit jeruk bergamot dalam melarutkan batu ginjal karena adanya kandungan flavonoid. Proses pelarutan kalsium batu ginjal terjadi karena terbentuk komplek antara flavonoid dengan gugus -OH pada kalsium batu ginjal sehingga terbentuk Ca-flavonoid (Suharjo, B. dan Cahyono, 2009). Mekanisme pelarutan kalsium batu ginjal diduga akibat terbentuknya kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga dengan ion kalsium dan juga membentuk kompleks antara gugus ortho dihidroksil dengan ion kalsium.

Sesuai dengan penelitian Muhammad Taufiq (2014) yang berjudul uji kelarutan batu ginjal dalam ekstrak aquadest daun alpukat (*Persea americana* Mill) secara in vitro dan analisis kadar kalsium menggunakan spektrofotometri serapan atom. Penelitian tersebut menggunakan ekstrak aquadest daun alpukat yang memiliki senyawa flavonoid dan memiliki efek melarutkan kalsium batu ginjal secara in vitro, dimana variasi berat terbaik dari ekstrak aquadest daun alpukat adalah berat 20 gram dengan kadar kalsium terlarut 262,77 mg/L.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil peneliian yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut. Total aktivitas antioksidan pada kulit jeruk bergamot sebesar 36,39 mgAAE/g ekstrak. Sedangkan total aktivitas antioksidan dari kulit jeruk nipis sebesar 21,727 mgAAE/g ekstrak. Ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan kulit jeruk bergamot mampu meluruhkan batu ginjal

dengan hasil konsentrasi kalsium yang terlarut pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebesar 1321,2 mg/L dan pada ekstrak etanol kulit jeruk bergamot sebesar 2334,8 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

Atay, N. Z. & Varnali, T., 2002, A semi empirical study on metal ion/murexide complexation, *Turk. J. Chern.* 26 : 303-309

Budiyanto, Saraswati Putri, Agus Yulianto, Mahardika Prasetya Aji. Meluruhkan batu ginjal dengan menggunakan kalium sitrat pada jeruk nipis. *Jurnal fisika* .2017; 7 (1)

Cahyani, Intan Martha dan Retno A. Efektifitas Minyak Atsiri Kulit jeruk Bergamot (Citrus Bergamia) dalam masker gel peel-off sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *JURNAL ILMIAH MANUNTUNG*, 3(2), 192-196, 2017

Hanifah, Annafsil Muthmainnatil. Analisis Kadar Kalsium (Ca) Pada Susu Sapi Segar Yang Beredar Di Area Madiun Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun*. 2019

Mandalari G, Bennett RN, Bisignano G, Characterization of flavonoids and pectins from bergamout (Citrus bergamia Risso) peel, a major byproduct of essential oil extraction. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(1):197-203.

Purnomo B. 2005 *Panduan Diagnosa Keperawatan. Definisi dan Klasifikasi*. Jakarta: Prima Medika.

Suharjo, B., & Cahyono. (2009). *Batu Ginjal, kanisius*, Yogyakarta.

Taufiq, Muhammad. Uji Kelarutan Batu Ginjal Dalam Ekstrak Akuades Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Secara *In Vitro* dan Analisis Kadar Kalsium Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang. 2014.

Yuliani, R., Peni, I., & Septi S.R. 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacom.* 12(2): 50-4