

3. IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA KAYU MANIS DAN OREGANO

Tabel 1. Antioksidan Alami Kayu Manis dengan Analisa Aktivitas Antioksidan

No	Jenis Kayu Manis	Pelarut	Aktivitas Tertinggi	Referensi
1	Cinnamomum verum	Etanol	DPPH : 90.18 ± 2.12 % FRAP : 132.82 ± 3.12 $\mu\text{mol/g}$	Shahid <i>et al</i> , 2018
2	Cinnamomum zeylanicum	-	DPPH IC ₅₀ : 0,29 mg/ml FRAP : 2.19 mM/mg Superoxide anion scavenging : 84.30%	Nanasombat dan Wimuttigosol, 2010
3	Cinnamomum verum	Etanol	DPPH IC ₅₀ : 221,0429 $\mu\text{g/mL}$	Tomagola <i>et al</i> ,2016
4	Cinnamomum verum	-	DPPH : 81.33 ± 0.002 %	Vidanagamage <i>et al</i> , 2016
5	Cinnamomum zeylanicum	Metanol	DPPH : 85% ABTS : 68% Superoxide scavenging activity : 87%	Varalakshmi <i>et al</i> , 2012
6	Cinnamomum cassia	Etanol	DPPH IC ₅₀ : 0.072 ± 0.003 mg/mL ABTS : 335.78 ± 77.15 mmol trolox /g	Yang <i>et al</i> , 2012
7	Cinnamomum cassia	Metanol	DPPH IC ₅₀ : 42.03 ± 0.06 $\mu\text{g/ml}$ ABTS IC ₅₀ : 5.13 ± 0.07 $\mu\text{g/ml}$	Brodowska <i>et al</i> , 2016
8	Cinnamomum cassia	Metanol, fraksinasi ethyl asetat	DPPH IC ₅₀ : 5.98 $\mu\text{g/ml}$ TBARS : 44.38 ± 3.45 %	Bozan <i>et al</i> , 2003

Tabel 2. Antioksidan Alami Oregano dengan Analisa Aktivitas Antioksidan

No	Jenis Oregano	Pelarut	Aktivitas Tertinggi	Referensi
1	Origanum vulgare L.	metanol dengan fraksinasi ethyl aasetat	DPPH IC ₅₀ : 9.3 ± 0.3 µg/mL	Boroski <i>et al</i> , 2018
2	Origanum vulgare L.	Metanol	DPPH IC ₅₀ : 111 mg/ml	Gomes <i>et al</i> , 2016
3	Origanum vulgare L.	Etanol	DPPH : 10.30%	Singh <i>et al</i> , 2017
4	Origanum vulgare L.	-	DPPH IC ₅₀ : 0.332 ± 0.040 mg/ml	Han <i>et al</i> , 2017
5	Origanum vulgare L.	-	DPPH : 65.93%	Asensio <i>et al</i> , 2011
6	Origanum vulgare L.	Metanol	DPPH : 0.18 µmol Trolox equivalent/g	Bhale <i>et al</i> , 2007
7	Origanum vulgare L.	Metanol	DPPH IC ₅₀ : 3.90 g/l TBARS IC ₅₀ : 0.021 g/l FRAP : 1.28 ± 0.00 mM Trolox/l	Viuda- Martos <i>et al</i> , 2010
8	Origanum vulgare L.	Heksana	DPPH IC ₅₀ : 0.17 µg/mL	Bozin <i>et al</i> , 2006
9	Origanum vulgare L.	Metanol	DPPH IC ₅₀ : 0.78 g/l	Lagouri <i>et al</i> , 2011
10	Origanum vulgare L.	-	DPPH IC ₅₀ : 0.50 g/l	Kulisic <i>et al</i> , 2004

Rempah-rempah kayu manis dan oregano memiliki suatu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan alami serta dapat digunakan sebagai pengganti penggunaan antioksidan sintetis. Dalam tabel 2 terdapat 8 jurnal dimana pada kayu manis terdapat beberapa jenis diantaranya *Cinnamomum verum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum cassia* serta tabel 3 berisi 10 jurnal yang membahas komponen senyawa antioksidan pada oregano (*Origanum vulgare*). Jurnal yang didapat dari luar negeri dan Indonesia namun sebagian besar berasal dari luar negeri.

Penelitian antioksidan kayu manis dan oregano diuji dalam bentuk minyak atsiri/ *essensial oil* dan ekstrak serta terdapat berbagai macam pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pengujian aktivitas antioksidan yang banyak ditemukan adalah DPPH, FRAP, ABTS, TBRAS, Superoxide Anion Scavenging, Pengukuran aktivitas antioksidan

dinyatakan dalam IC_{50} dan juga dalam persentase. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan sebesar 50% untuk menangkap radikal bebas pada DPPH. Nilai IC_{50} lebih kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat (Brodowska *et al.*, 2016)

3.1. Pengaruh Perlakuan dalam Metode Ekstraksi

3.1.1. Perbedaan Pelarut

Pada jurnal yang didapat, masing-masing memiliki perlakuan metode dalam menguji aktivitas antioksidan salah satunya dengan membandingkan berbagai solven/ pelarut. Penelitian Singh *et al.*, (2017) menggunakan ekstrak oregano dengan berbagai solven seperti air, etanol, metanol, aseton dan di ethyl eter. Dilihat dari data Total Phenolic Content, pelarut etanol mendapat hasil yang lebih tinggi dibanding dengan pelarut yang lain sebesar 457.5 ± 3.4 mg GAE/g begitupun dengan hasil DPPH yang menunjukkan hasil tertinggi sebesar 10.30%. *Extraction yield* yang didapat menggunakan pelarut metanol sebesar 6.82% sedangkan pelarut air sebesar 7.06%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil ekstraksi meningkat seiring dengan meningkatnya polaritas pelarut. Selain itu senyawa selain fenolat dapat di ekstraksi menggunakan pelarut air serta protein dan karbohidrat lebih larut pada air dan metanol dibandingkan dengan pelarut etanol, aseton dan di ethyl eter (Zieliński dan Kozłowska *et al.*, 2000).

Berbeda dengan penelitian Lagouri *et al.*, (2011) yang dilakukan perbandingan pelarut n-heksana dan metanol pada oregano ekstrak serta dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Hasil ekstrak oregano dengan metanol lebih unggul dengan perolehan DPPH IC_{50} sebesar 0.78 g/l sementara dengan n-heksana DPPH IC_{50} sebesar 3.76 ± 0.03 g/L. Penelitian Varalakshmi *et al* (2012) pada kayu manis juga dilakukan ekstraksi dengan beberapa macam pelarut yaitu *aqueous*, metanol dan klorofom dan dilakukan pengujian FRAP. Hasil FRAP terbaik ada pada kayu manis dengan pelarut metanol yaitu sebesar 3.05 ± 0.09 . Pelarut etanol dikenal baik sebagai ekstraksi polifenol dan aman saat dikonsumsi manusia. Pelarut metanol penggunaannya lebih efisien untuk ekstraksi polifenol dengan berat molekul rendah, namun penggunaannya terbatas dikarenakan memiliki efek toksik (Dai dan Mumper 2010 ; Boroski *et al.*, 2018). Beberapa faktor yang

mempengaruhi hasil ekstraksi adalah polaritas pelarut, rasio antara pelarut dan sampel, pH, suhu, waktu ekstraksi, dan komposisi sampel.

3.1.2. Fraksinasi

Perlakuan fraksinasi pada ekstraksi berfungsi untuk mengetahui polaritas antioksidan dan mengevaluasi pelarut yang mampu diterapkan dalam mendapatkan ekstrak dengan kapasitas antioksidan terbesar. Penelitian Bozan *et al*, (2003) menggunakan fraksinasi dalam tahap proses ekstraksi pada kayu manis. Tahapan metode ekstraksi adalah dengan menghilangkan komponen lemak menggunakan petroleum eter dan dilanjut ekstraksi awal menggunakan pelarut metanol serta diuapkan dengan vakum pada suhu 40°C. Hasil ekstrak dengan metanol yang dilanjut fraksinasi menggunakan pelarut n- heksana dan kemudian etil asetat. Hasil DPPH EC₅₀ dengan fraksi etil asetat lebih unggul dengan perolehan sebesar 5.98 µg/ml sedangkan fraksi n- heksana sebesar 210.48 µg/ml. Pada oregano juga dilakukan penggunaan fraksinasi dari penelitian Boroski *et al*, (2018) yang menggunakan pelarut metanol pada ekstraksi awal, kemudian dilarutkan dengan akuades dan dilanjut tahap fraksi menggunakan pelarut yang polaritasnya semakin meningkat seperti heksana, ethyl asetat dan butanol. Hasil DPPH IC₅₀ menunjukkan fraksi ethyl asetat lebih tinggi sebesar 9.3 ± 0.3 µg/mL dan dilanjut fraksi butanol sebesar 13.7 ± 0.7 µg/mL serta nilai aktivitas antioksidan terendah ada pada fraksinasi heksana sebesar 407.2 ± 1.4 µg/mL. Fraksi menggunakan pelarut ethyl asetat dan butanol dianggap memiliki potensi dalam membuat aktivitas antioksidan lebih tinggi (Aguiar *et al.*, 2011). Faktor lainnya yang dapat mempengaruhi senyawa antioksidan menurut Hussain *et al*, (2011) adalah pelarut yang dipakai, lokasi tanaman, pemupukan, iklim serta menurut Gomes *et al*, (2016) ditentukan oleh struktur, konsentrasi, suhu, jenis substrat, dan kondisi fisik sistem.

3.2. Identifikasi Komposisi Senyawa Antioksidan dengan GC-MS

Beberapa jurnal menyebutkan komponen aktivitas antioksidan yang diuji dengan menggunakan metode GC-MS (*Gas chromatography-mass spectrometry*). Analisa GC-MS mampu mendeteksi senyawa bioaktif lebih sensitif. Selain mendeteksi komponen

antioksidan pada ekstrak tumbuhan juga bisa digunakan untuk mengetahui sifat antimikroba dan antikanker (Silvério *et al.*, 2007; Arunkumar dan Muthuselvam., 2009 ; Kaushik *et al.*, 2014). Pada kayu manis jenis *Cinnamomum cassia* memiliki komponen antioksidan seperti (E)-Cinnamaldehyde 82.85%, Benzaldehyde 2.22 %, (E)-Cinnamyl acetate 1.48%, β -Pinene 1.08% (Brodowska *et al.*, 2016). *Cinnamomum cassia* berasal dari Cina selatan yang sudah tersebar luas di negara Asia bagian selatan dan timur (Yan *et al.*, 2015). Sedangkan untuk kayu manis jenis *Cinnamomum zeylanicum* menurut Tepe dan Ozaslan, (2020) memiliki hasil (E)-Cinnamaldehyde 81.39 % dan (E)-cinnamyl acetate 4.20 %. *Cinnamomum zeylanicum* tersebar di Madagaskar, Sri Lanka, Kepulauan Komoro, Asia Tenggara dan India (Simić *et al.*, 2004). Menurut Gruenwald *et al.*, (2010) menjelaskan bahwa komponen utama pada kayu manis adalah (E)-Cinnamaldehyde, eugenol dan linalool dan diperkuat dengan hasil GC-MS pada kayu manis dengan komponen tertinggi ada pada (E)-Cinnamaldehyde. Cinnamaldehyde adalah senyawa dengan gugus aldehyd dan alkena yang terkonjugasi cincin benzene yang memberikan cita rasa pedas dan aroma pada kayu manis (Gupta *et al.*, 2008 ; Singh *et al.*, 2007). Penelitian Han *et al.*, (2017) menganalisa komponen antioksidan oregano / *Origanum vulgare* L. dengan hasil carvacrol 30.73%, thymol 18.81%, P-cymene 10.88%, caryophyllene 7.73%, dan 3-carene (4.06%).

3.3. Metode Analisa Aktivitas Antioksidan pada Kayu Manis dan Oregano

3.3.1. Metode DPPH

Pada kayu manis, peneliti Shahid *et al.*, (2018) mendapat hasil DPPH sekitar 90.18% dan Varalakshmi *et al.*, (2012) sebesar 85% yang dinyatakan memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas. Sedangkan DPPH dalam bentuk IC₅₀ ditemukan hasil 0.072 \pm 0.003 mg/ml dan 0.29 mg/ ml yang menyatakan antivitas antioksidan kayu manis sangat kuat (Yang *et al.*, 2012 ; Nanasombat dan Wimuttigosol, 2010). Berdasarkan teori Molyneux, (2004) bahwa IC₅₀ (inhibition concentration) atau EC₅₀ (efficient concentration) merupakan konsentrasi yang dapat menangkal radikal bebas sebesar 50% serta IC₅₀ dengan hasil <50 ppm, 50 ppm – 100 ppm, >100 ppm memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, kuat, lemah. Hasil DPPH IC₅₀ oregano menurut Bozin *et al.*,

(2006) yaitu 0.17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang dalam penelitiannya juga lebih unggul dibanding basil dan thyme serta menurut Asensio et al, (2011) oregano memiliki aktivitas antioksidan sebesar 65.93%. Terdapat pengukuran DPPH dari Trolox dimana digunakan sebagai standar dalam mengubah kemampuan menangkap radikal bebas larutan ekstrak menjadi aktivitas antioksidan setara dengan Trolox. Peneliti Bhale *et al*, (2007) mengukur DPPH oregano dengan Trolox dan hasil yang didapat adalah 0.18 μmol Trolox equivalent/g dimana nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan peneliti dari Sun *et al*, (2007) mengenai beberapa jenis warna paprika yang memiliki hasil DPPH paling tinggi 3.9 ± 1.0 μmol Trolox equivalent/g dan paling rendah 2.1 ± 0.6 μmol Trolox equivalent.

3.3.2. Metode FRAP dan TBARS

Berdasarkan penelitian Nanasombat dan Wimuttigosol, (2010) pada kayu manis dengan konsentrasi 1 mg/ml dihasilkan FRAP sebesar 2.19 mM/mg yang merupakan hasil tertinggi dibanding beberapa rempah – rempah yang diteliti seperti *prikhom* (0.26 mM/mg) dan *mace* (0.22 mM/mg). Pengujian FRAP pada oregano memberikan hasil sebesar 1.28 ± 0.00 mM Trolox/l yang hasil tersebut sebanding dengan beberapa antioksidan yang juga diteliti yaitu dari ekstrak cengkeh serta antioksidan buatan seperti asam askorbat dan BHT (Viuda-Martos *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian Bozan *et al*, (2003) pada kayu manis dengan fraksinasi ethyl asetat memiliki hasil TBARS sebesar 44.38 ± 3.45 % yang pada penjelasannya dikatakan lambat saat peroksida asam linoleat namun mampu menangkal radikal bebas dengan baik. Sedangkan untuk oregano menurut Viuda-Martos *et al*, (2010) mendapatkan hasil TBARS yang diuji dengan emulsi kuning telur sebesar EC_{50} 0.021 g/l . Kayu manis dan oregano masing-masing memiliki potensi sebagai antioksidan jika di uji dengan TBARS.

3.3.3. Metode ABTS dan Superoxide Anion Scavenging

Hasil ABTS IC_{50} kayu manis pada penelitian Brodowska *et al*, (2016) sebesar 5.13 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Menurut Molyneux, (2004) hasil tersebut masuk dalam golongan antioksidan sangat kuat. Peneliti Yang *et al* (2012) pada penelitiannya membandingkan ekstrak kayu

manis dilihat dari bagiannya (tunas, batang, daun) memiliki hasil ABTS (dengan TEAC) paling tinggi aktivitas antioksidan pada bagian batang sebesar 335.78 ± 77.15 nmol trolox /g dan dilanjut oleh daun (297.34 ± 65.23 nmol trolox /g) dan akar (133.04 ± 11.32 nmol trolox /g).

Metode Superoxide Anion Scavenging digunakan dalam menguji antioksidan kayu manis dalam penelitian Nanasombat dan Wimuttigosol, (2010) dengan hasil 84.30% yang merupakan hasil paling tinggi dibandingkan adas manis (82.62%), adas sowa (80.83%) dan kapulaga (80.55%). Selain itu, Varalakshmi *et al*, (2012) juga meneliti ekstrak kayu manis dengan metode superoxide anion scavenging yang memberikan hasil sebesar 87%. Kedua hasil tersebut menunjukkan bahwa kayu manis sifat antioksidan serta memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas.

