

3. IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA CENGKEH DAN KUNYIT

Tabel 8. Komponen Antioksidan pada Cengkeh

| No. | Komponen Antioksidan | Jenis Cengkeh | Pelarut Ekstrak | Aktivitas Tertinggi | Referensi |
|-----|---|-------------------------------------|--------------------------|--|-------------------------------------|
| 1. | Eugenol, B-Caryophyllene, Trans-ocimene, Eugenol acetate, Patchoulane | <i>Eugenia aromaticum</i> | - Ethanol - N-Heksana | - | Pratiwi, <i>et al.</i> , 2016. |
| 2. | Eugenol dan Acetyl Eugenol | <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb. | - Ethanol - Air | - DPPH: 74% - DPPH: 62% | Gülçin, <i>et al.</i> , 2004. |
| 3. | Phenolic acids (gallic acid), flavonol glucosides, phenolic volatile oil (eugenol, acetyl eugenol), tannins | <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb. | Methanol | - ABTS ^{•+} : 168,66 mmol/100 g of DW | Shan, <i>et al.</i> , 2005. |
| 4. | Eugenol | <i>Eugenia caryophyllus clovis</i> | - | - DPPH: 31,58 ± 4,73% - ABTS ^{•+} : 46,68 ± 0,73% - ORAC: 3084 ± 65 µmol Trolox/g - FRAP: 7,00 ± 0,13% | Dudonné, <i>et al.</i> , 2009. |
| 5. | Eugenol | <i>Eugenia caryophyllata</i> | Ethanol | - DPPH IC ₅₀ : 16,06 µg/mL | Gülçin, 2011. |
| 6. | Eugenol, Eugenyl acetate, B-caryophyllene | <i>Syzygium aromaticum</i> L. | - | - DPPH: 78,10% | El-Mesallamy, <i>et al.</i> , 2012. |
| 7. | Eugenol | <i>Syzygium aromaticum</i> L. | - | - DPPH IC ₅₀ : 3,20 µg/mL | Chatterjee and Bhattacharjee, 2013. |
| 8. | Eugenyl acetate | <i>Caryophyllus aromaticus</i> | - | - DPPH: 81,59% | Vanin, <i>et al.</i> , 2014. |
| 9. | Eugenol | <i>Syzygium aromaticum</i> L. | - | - DPPH: 94,86% | Radünz, <i>et al.</i> , 2018. |
| 10. | Eugenol, Eugenyl acetate | <i>Syzygium aromaticum</i> | Air | - DPPH: 91,4% - ABTS ^{•+} : 99,49% | El-Maati, <i>et al.</i> , 2016. |

Tabel 9. Komponen Antioksidan pada Kunyit

| No. | Komponen Antioksidan | Jenis Kunyit | Pelarut Ekstrak | Aktivitas Tertinggi | Referensi |
|-----|---|-------------------------------|---------------------------|---|-----------------------------------|
| 1. | Curcumin, Demethoxycurcumin | <i>Curcuma longa</i> | – | - DPPH: 0,120 mM of BHA E / gr - ABTS ⁺ IC ₅₀ : 3,3 mg/ml | Lee, <i>et al.</i> , 2019. |
| 2. | Curcumin | <i>Curcuma longa</i> | – | - 1,9 mg/ml - 2,1 mg/ml - DPPH IC ₅₀ : 3,5 mg/ml | Gounder & Lingamallu, 2012. |
| 3. | (1) bisabolone-9-one (2) 4-methylene-5-hydroxybisabola-2,10-diene-9one, (3) turmeronol B, (4) 5-hydroxy-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-hepten-3-one, (5) 3-hydroxy-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-6hepten-1,5-dione (6) cyclobisdemethoxycurcumin (7) bisdemethoxycurcumin (8) demethoxycurcumin (9) curcumin | <i>Curcuma longa</i> | MeOH | - DPPH IC ₅₀ : 26,4 µg/mL - ORAC: 14,090 µmol Trolox equivalent/g extract | Akter, <i>et al.</i> , 2019. |
| 4. | Curcumin, Demethoxycurcumin, Bidesmetoksikurkumin | <i>Curcuma longa</i> | - Methanol - N-Heksana | - DPPH IC ₅₀ : 43,57 ppm - DPPH IC ₅₀ : 1429,4 ppm | Rachman, <i>et al.</i> , 2008. |
| 5. | Curcumin, Demethoxycurcumin, Bidesmetoksikurkumin | <i>Curcuma longa</i> | – | - DPPH: 64,6 ±2,4% | Maizura, <i>et al.</i> , 2011. |
| 6. | Curcumin, Demethoxycurcumin, Bidesmetoksikurkumin | <i>Curcuma longa</i> | Air | - DPPH: 0,00454 mmol BHA E/mL of extract | Park, <i>et al.</i> , 2019. |
| 7. | – | <i>Curcuma domestica Val.</i> | Ethanol | - DPPH: 43,96% | Suparmajid, <i>et al.</i> , 2016. |

| | | | | |
|-------------|---|---------------|---|--|
| 8. Curcumin | <i>Curcuma domestica</i> <i>Val.</i> | - Ethanol | - DPPH IC ₅₀ : 51,17 ± 0,8 mg/L | Wahyuningtyas, <i>et al.</i> , 2017 |
| | | - Methanol | - DPPH IC ₅₀ : 55,09 ± 2,1 mg/L | |
| | | - Aseton | - DPPH IC ₅₀ : 56,42 ± 0,7 mg/L | |
| | | - Isopropanol | - DPPH IC ₅₀ : 59,43 ± 1,2 mg/L | |
| | | | | |

Pada Tabel 1., merupakan tabel yang menunjukkan data komponen antioksidan dan aktivitas antioksidan yang ditemukan pada cengkeh. Pada tabel 1., ditemukan 10 jurnal penelitian yang membahas tentang senyawa antioksidan dan metode pengujian aktivitas antioksidan pada cengkeh. Perbedaan asal cengkeh tidak memengaruhi senyawa antioksidan yang terkandung di dalamnya. Namun, perbedaan penggunaan pelarut ekstraksi dapat memengaruhi total fenolik dan aktivitas antioksidan pada cengkeh tersebut.

Pada Tabel 2., merupakan tabel yang menunjukkan data komponen antioksidan dan aktivitas antioksidan yang ditemukan pada kunyit. Pada Tabel 2., ditemukan 8 jurnal penelitian yang membahas tentang senyawa antioksidan dan metode pengujian aktivitas antioksidan pada kunyit. Perbedaan perlakuan dari preparasi bahan dan pelarut ekstraksi dapat memengaruhi total fenolik dan aktivitas antioksidan pada kunyit tersebut.

Berdasarkan pada Tabel 1. dan 2., penentuan senyawa antioksidan digunakan metode GCMS. Kemudian, pengujian aktivitas antioksidan yang banyak digunakan yaitu DPPH, ABTS, FRAP, dan ORAC. Pengukuran aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk IC₅₀ atau persentase aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Aktivitas antioksidan dalam cengkeh dan kunyit dibandingkan juga dengan aktivitas antioksidan buatan seperti BHT.

3.1. Faktor yang Mempengaruhi Identifikasi Antioksidan

3.1.1. Metode Preparasi

Berdasarkan pada jurnal penelitian tentang cengkeh, bahan yang digunakan yaitu cengkeh yang belum dikeringkan, cengkeh yang sudah dikeringkan, dan minyak atsiri cengkeh. Perbedaan perlakuan dalam persiapan bahan tersebut dapat mempengaruhi total fenolik dan antioksidan yang terkandung di dalamnya. Pada jurnal penelitian Chatterjee and Paramita (2013), cengkeh yang diolah menjadi *microencapsulated powders*, komponen bioaktif seperti eugenol, komponen fenolik, dan antioksidan yang terkandung didalamnya yaitu 60-65%. Komponen eugenol dan komponen fenolik pada *microencapsulated powders* lebih rendah dibandingkan dengan *dry clove buds*. Sedangkan antioksidan dalam *microencapsulated powders* lebih tinggi dibandingkan dengan *dry clove buds*. Hal tersebut dikarenakan pelepasan antioksidan yang terkendali dari ekstrak cengkeh yang dienkapsulasi mungkin dapat mencegah efek sinergis dari aktivitas pro dan anti-oksidan.

Berdasarkan jurnal penelitian tentang kunyit, bahan yang digunakan yaitu kunyit segar dan kunyit yang dikeringkan. Perbedaan perlakuan dalam persiapan bahan tersebut dapat mempengaruhi jumlah komponen antioksidan yang terkandung di dalam kunyit, dan aktivitas antioksidan kunyit tersebut. Pada jurnal penelitian Singh, *et al.* (2010), kunyit segar memiliki komponen utama seperti alpha-turmerone dan beta-turmerone yang lebih tinggi dibandingkan dengan kunyit yang dikeringkan. Pada kunyit yang dikeringkan, presentase alpha- dan beta-turmerone yang relative lebih sedikit daripada kunyit segar dapat disebabkan oleh berkurangnya cincin aromatic dan adanya dua ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat mengalami oksidasi atau polimerisasi akibat dari proses pengeringan. Kandungan utama dalam kunyit tersebut berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Kunyit segar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan kunyit yang dikeringkan. Aktivitas antioksidan kunyit segar yang lebih tinggi dapat disebabkan oleh kandungan alpha- dan beta-turmerone yang lebih tinggi dibandingkan dengan kunyit yang dikeringkan.

Namun, pada jurnal penelitian Gounder & Lingamallu (2012), kunyit segar memiliki kandungan alpha-turmerone yang lebih tinggi dibanding kunyit yang dikeringkan dan kunyit *cured*. Sedangkan kunyit segar memiliki kandungan beta-turmerone dan ar-

turmerone yang lebih rendah disbanding kunyit yang dikeringkan dan kunyit *cured*. Hal tersebut dapat disebabkan karena oksidasi atau penataan ulang alpha-turmerone yang lebih sedikit menjadi ar-turmerone dan beta-turmerone yang lebih stabil (Su, *et al.*, 1982). Kemudian pada aktivitas antioksidan, kunyit yang dikeringkan dan kunyit *cured* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik disbanding kunyit segar. Hal tersebut dikarenakan kandungan ar-turmeron dan beta-turmeron yang lebih tinggi pada kunyit yang dikeringkan dan kunyit *cured*.

3.1.2. Metode Esktraksi

Pada proses ekstraksi, perbedaan jenis pelarut dapat mempengaruhi jumlah komponen antioksidan yang terdapat di dalam bahan, yang kemudian akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Pada jurnal penelitian Pratiwi, dkk (2016), pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi cengkeh yaitu etanol dan n-heksana. Ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol memiliki kandungan eugenol yang lebih banyak disbanding dengan ekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksana. Ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol memenuhi syarat SNI yaitu kandungan eugenol minimum sama dengan 78%. Sedangkan ekstrak dengan pelarut n-heksana belum memenuhi standar tersebut. Eugenol diketahui dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu senyawa kimia yang dapat menghambat proses ootoksidasi lemak tidak jenuh (Nurdjannah, 2004).

Pada jurnal penelitian Wahyuningtyas, dkk (2017), pelarut yang digunakan untuk mengekstrak kunyit yaitu etanol, methanol, aseton, dan isopropanol. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak kunyit dengan menggunakan pelarut etanol memiliki kadar kurkumin yang paling tinggi, diikuti dengan methanol, aseton, dan isopropanol. Kurkumin memiliki sifat kelarutan yang tinggi di dalam etanol sehingga menyebabkan kurkumin dapat terekstrak dengan baik. Kurkumin merupakan senyawa yang termasuk golongan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas (Jayaprakasha *et al.*, 2005; Jayaprakasha *et al.*, 2006). Hasil penelitian tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Popuri (2013), bahwa pelarut etanol lebih baik disbanding dengan berbagai pelarut hidrokarbon lainnya. Kemudian pada total fenol, ekstrak kunyit dengan menggunakan pelarut etanol memiliki total fenol yang paling tinggi, kemudian diikuti dengan methanol, aseton, dan isopropanol. Senyawa fenol memiliki cincin

aromatic dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH^-) dan gugus-gugus lainnya. Senyawa fenol biasanya disebut sebagai polifenol karena kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu (Lestari, *et al.*, 2014). Senyawa polifenol memiliki sifat polar yang dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, air, aseton, dimetil formamida, butanol, dan dimetil sulfoksida (Lenny, 2006). Hal tersebut menyebabkan ekstrak kunyit dengan pelarut etanol memiliki total fenol yang tinggi karena etanol memiliki kepolaran yang sama dan lebih efektif untuk melarutkan polifenol dalam ekstrak kunyit. Kemudian, kadar kurkumin dan total fenol mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan juga. Ekstrak kunyit dengan menggunakan pelarut etanol menghasilkan aktivitas antioksidan yang baik, kemudian diikuti oleh methanol, aseton, dan isopropanol. Menurut Bimakra (2010), etanol merupakan pelarut yang memiliki toksisitas rendah jika dibandingkan dengan methanol sehingga lebih aman.

3.2. Identifikasi Komponen Antioksidan

Dalam kebanyakan jurnal penelitian, analisa komponen kimia hasil ekstraksi dilakukan menggunakan metode gas kromatografi / *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS). GC-MS merupakan alat analisis untuk mengidentifikasi dan menghitung secara kuantitas senyawa volatile. GC-MS mampu memisahkan komponen-komponen dalam suatu analit sekaligus menentukan jenis komponen tersebut melalui spectrum massanya. Prinsip kerja GC-MS yaitu sampel yang berbentuk cair diinjeksikan ke injector yang kemudian diuapkan. Setelah itu, sampel yang berupa uap dibawa oleh gas pembawa ke kolom untuk pemisahan. Setelah proses pemisahan, masing-masing komponen akan melewati ruang pengion dan berinteraksi dengan elektron sehingga terionisasi. Fragment-fragment ion yang telah dihasilkan, kemudian akan ditangkap oleh detector dan menunjukkan spectrum massa (Fowles, 1998). Pada jurnal penelitian El-Mesallamy, dkk (2012), didapatkan hasil identifikasi komponen antioksidan pada cengkeh dengan metode GC-MS, didapatkan komponen utama yaitu eugenol 75,8%, eugenyl acetate 18,9%, β -caryophyllene 4,2%. Pada jurnal penelitian Pratiwi, dkk (2016), Berdasarkan teori Verzar-Petri and Meszaros (1985), komponen utama pada cengkeh yang memiliki kualitas terbaik yaitu eugenol 80-90%, eugenol acetate 15%, β -caryophyllene 5-12%. Berdasarkan SNI No. 06-2387-2006, kandungan eugenol dalam cengkeh minimum 78%. Pada teori Alma *et al.*, 2007; US EPA, 2008; Bhuiyan *et al.*, 2010 kandungan eugenol

pada cengkeh dapat mencapai 70-96%. Kandungan senyawa-senyawa dalam minyak cengkeh digolongkan dalam senyawa phenol (sebagai eugenol) dan senyawa non eugenol. Senyawa eugenol dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu senyawa kimia yang dapat menghambat proses otooksidasi lemak tidak jenuh (Nurdjannah, 2004).

Pada jurnal penelitian Lee, *et al.*, (2020), didapatkan hasil komponen fenolik dalam kunyit yaitu curcumin dan demethoxycurcumin yang diidentifikasi menggunakan UPLC-Q-TOF MS. Dan komponen utama aromatiknya yaitu ar-turmerone, turmerone, dan curlone yang diidentifikasi menggunakan GC-MS. Komponen fenolik paling banyak yaitu curcumin yang diikuti dengan demethoxycurcumin, sedangkan komponen aromatic paling banyak yaitu ar-turmerone dan diikuti dengan turmerone, curlone, dan bisabolene. Hal ini sesuai dengan penelitian Gopalan *et al.*, (2000) yang menyatakan bahwa komponen utama (~60%) minyak kunyit yang diekstraksi dengan metode SC-CO₂ yaitu ar-turmerone dan turmerone yang diidentifikasi menggunakan GC-MS.

3.3. Metode Analisis Aktivitas Antioksidan

3.3.1. Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Pada jurnal penelitian Gülçin (2011), didapatkan hasil uji DPPH pada senyawa eugenol yang didapat dari cengkeh yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 16,06 µg/mL. Hasil uji DPPH senyawa eugenol tersebut dibandingkan dengan antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT, dan antioksidan sintetik tersebut memiliki nilai IC₅₀ sebesar 25,51 µg/mL dan 34,01 µg/mL. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa senyawa eugenol dari cengkeh memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding dengan BHA dan BHT. Pada jurnal penelitian Chatterjee and Paramita (2013), didapatkan hasil uji DPPH pada cengkeh yaitu dengan nilai sebesar 3,20 µg/mL.

Pada jurnal penelitian Rachman, dkk (2008), didapatkan hasil aktivitas antioksidan kunyit dengan pelarut methanol dengan uji DPPH sebesar 43,57 ppm, dan kunyit dengan pelarut n-heksana sebesar 1429,4 ppm. Berdasarkan teori Hidayat (2005), aktivitas antioksidan kunyit dengan pelarut methanol tergolong sangat tinggi, sedangkan kunyit dengan pelarut n-heksana tergolong sangat lemah.

3.3.2. Metode ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)

Pada jurnal penelitian Dudonné, *et al.* (2009), hasil uji ABTS pada cengkeh yaitu $46,68 \pm 0,73\%$. Pada jurnal penelitian Gounder & Lingamallu (2012), hasil uji ABTS pada kunyit segar, kering, dan *cured* secara berturut-turut yaitu 3,3; 1,9; dan 2,1 mg/ml.

3.3.3. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Pada jurnal penelitian Dudonné, *et al.* (2009), didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan FRAP pada cengkeh sebesar $7,00 \pm 0,13\%$. Reaksi reduksi Fe^{+3} yang terjadi merupakan indikator potensi pendonor electron sebagai suatu mekanisme aktivitas antioksidan (Dorman, *et al.*, 2003). Ekstrak yang memiliki kandungan fenolik yang tinggi menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang relative tinggi juga (Heim, *et al.*, 2002). Aktivitas antioksidan senyawa fenol memiliki sifat redoks yang dapat menetralkan Aktivitas antioksidan fenolat terutama disebabkan oleh karakteristik redoksnya, yang radikal, meredam oksigen singlet, dan triplet atau oksida pengurai (Osawa, 1994).

3.3.4. Metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Pada jurnal penelitian Dudonné, *et al.* (2009), didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan dari cengkeh dengan ORAC sebesar $3084 \pm 65 \mu\text{mol Trolox/g}$. Pada jurnal penelitian Akter, *et al.* (2019), didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan dari kunyit dengan ORAC yaitu sebesar $14,090 \mu\text{mol Trolox equivalent/g extract}$.