

AKTIVITAS ANTIOKSIDASI CAMPURAN EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH DAN KULIT KAYU MANIS

Yayuk Kartika¹, Syaefudin¹, Mega Safithri^{1,2*}

¹Departemen Biokimia, IPB University, Indonesia

²Pusat Studi Biofarmaka Tropika, LPPM IPB University, Indonesia

ABSTRAK: Daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) berkhasiat sebagai tanaman obat. Tanaman tersebut memiliki kandungan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidasi formula campuran ekstrak daun sirih merah dan kulit kayu manis dengan metode Thiobarbituric acid (TBA) dan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Proses ekstraksi daun sirih merah dan kulit kayu manis dilakukan secara terpisah dengan pelarut air. Ekstrak air daun sirih merah dicampur dengan kulit kayu manis dengan perbandingan 5:0, 4:1, 3:2, 2.5:2.5, 0:5. Hasil penelitian menunjukkan formula 3:2 konsentrasi 200 ppm (61%) memiliki daya hambat yang sama dengan vitamin E terhadap pembentukan malondialdehida. Sementara itu, Formula 2.5:2.5 konsentrasi 25 ppm (59%) memiliki daya hambat yang sama dengan vitamin E terhadap penghambatan radikal DPPH.

Kata Kunci: aktivitas antioksidasi, *Piper crocatum*, *Cinnamomum burmanii*.

ABSTRACT: *Piper crocatum* leaves and *Cinnamomum burmanii* bark are medicinal plants. The plants compounds as antioxidant. The objectives of this research are to determine the antioxidant activity of the extract mixture *P. crocatum* and *C. burmanii* with Thiobarbituric acid method (TBA) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method (DPPH). Extraction process of *P. crocatum* and *C. burmanii* was conducted separately by using the solvent water. *P. crocatum* extract mixed with extract of *C. burmanii* with a ratio of 5:0, 4:1, 3:2, 2.5:2.5, 0:5. The results showed that the 3:2 concentration 200 ppm (61%) had the same inhibitory activity as vitamin E against malondialdehida formation. Meanwhile, formula 2.5:2.5 concentration 25 ppm (59%) had the same inhibitory activity as vitamin E against DPPH radical inhibition

Keywords: antioxidative activity, *Piper crocatum*, *Cinnamomum burmanii*.

PENDAHULUAN

Perubahan gaya hidup masyarakat yang cenderung serba praktis telah meningkatkan prevalensi konsumsi makanan siap saji, yang dalam jangka panjang dapat memicu terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas ini berperan dalam perkembangan berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes, aterosklerosis, stroke, reumatik, dan penyakit jantung koroner. Untuk mengatasi dampak buruk radikal bebas, dibutuhkan senyawa yang dapat menetralsirkannya, yaitu antioksidan. Berbagai jenis tanaman obat telah diketahui memiliki kandungan senyawa antioksidan, salah satunya adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang mengandung alkaloid, flavonoid, dan tanin dengan aktivitas antioksidan yang terbukti signifikan. Tanaman lain yang juga memiliki potensi antioksidan adalah kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*), yang mengandung

senyawa seperti sinamaldehyd dan eugenol yang dapat menghambat radikal bebas.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidasi campuran ekstrak daun sirih merah dan kulit kayu manis, yang diharapkan dapat memberikan efek sinergis dalam menangkal radikal bebas. Penelitian dilakukan secara in vitro dengan menggunakan dua metode pengujian, yaitu metode Thiobarbituric acid (TBA) dan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Dengan mengkombinasikan ekstrak kedua tanaman ini, diharapkan dapat meningkatkan bioaktivitas antioksidan secara lebih efektif, sehingga memberikan alternatif pengobatan atau pencegahan terhadap penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

METODE

1. Bahan dan Alat

¹ Email korespondensi : safithri@apps.ipb.ac.id

Bahan yang digunakan adalah Bahan uji yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*), kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*), pemanis stevia, larutan standar 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) 6 M, asam trikloroasetat (TCA) 20%, asam tiobarbiturat (TBA) 1%, bufer fosfat 0.1 M pH 7, asam linoleat 50 mM, asam asetat 50%, etanol absolut, vitamin E (α -tokoferol), akuades, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dan metanol absolut.

Adapun alat yang digunakan antara lain alat gelas, botol gelap berulir, penangas air, oven, neraca analitik, rotary evaporator, mikropipet, laminar air flow hood, vorteks, spektrofotometer, tabung sentrifus, dan sentrifus Hettich Universal (0-6000 rpm).

2. Prosedur Penelitian

2.1 Pengeringan Bahan Uji (Safithri 2012)

Daun sirih merah dan kulit kayu manis dikeringkan di bawah sinar matahari selama 3 jam (10.00 - 13.00 WIB) agar didapatkan sampel kering dengan kadar air tidak lebih dari 12% (b/b). Daun sirih merah dan kulit kayu manis yang sudah kering digiling untuk mendapatkan serbuk dengan ukuran 20 mesh.

2.2 Analisis Kadar Air Metode Oven Biasa (AOAC 2006)

Cawan aluminium dikeringkan dalam oven pada suhu 100oC selama 15 menit, lalu didinginkan dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dengan neraca analitik. Sampel ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 2 gram. Sampel tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 100 - 105 oC selama kurang lebih 3 jam, didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Selanjutnya, sampel dikeringkan kembali dalam oven selama 15-30 menit, lalu ditimbang kembali.

2.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis (Modifikasi Safithri & Fahma 2008)

Pada masing-masing bahan uji kering berbentuk serbuk dilakukan proses ekstraksi dengan air secara terpisah. Ekstraksi daun sirih merah yang telah dikeringkan dilakukan dengan menimbang sampel kering sebanyak 10 g dan ditambahkan akuades sebanyak 200 mL (1:20), lalu direbus dalam keadaan tertutup sampai mendidih, dibiarkan mendidih selama 15 menit, disaring dan diukur volume filtrat yang diperoleh. Selanjutnya pada filtrat ditambahkan akuades sampai volume mencapai 100 mL, dan disebut sebagai larutan stok sirih

merah. Pada ekstraksi kulit kayu manis, sampel kering ditimbang sebanyak 20 g, dan ditambahkan akuades sebanyak 200 mL (1:10), lalu direbus dengan air dalam keadaan tertutup sampai mendidih, dan dibiarkan mendidih selama 15 menit, disaring, diukur volume filtrat yang diperoleh, dan ke dalam filtrat ditambahkan akuades sampai volume mencapai 100 mL, dan disebut sebagai larutan stok kayu manis.

2.4 Pembuatan Formula Campuran Ekstrak Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis (Safithri 2012)

Larutan stok sirih merah dicampur dengan larutan stok kayu manis pada perbandingan 5:0, 4:1, 3:2, 2.5:2.5, 0:5, selanjutnya dinamakan formula campuran 5:0, 4:1, 3:2, 2.5:2.5, 0:5. Pada masing-masing formula campuran ditambahkan bahan pemanis stevia sebanyak 0.67% (b/v), diaduk sampai rata. Setelah siap, kelima formula di rotary evaporator dan freeze dryer untuk menghasilkan sampel dalam bentuk serbuk.

2.5 Penentuan Kurva Standar Larutan 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) (Kikuzaki & Nakatani 1993)

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menggunakan larutan 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) dengan konsentrasi 0, 5, 8, 10, 13, 15, 18, 20 μ M. Tiap larutan dipipet 1 mL dan ditambahkan 2 mL larutan TCA 20% dan 2 mL larutan TBA 1% dalam asam asetat 50%. Campuran reaksi diletakkan dalam penangas air 100oC selama 10 menit. Setelah dingin larutan disentrifus dengan kecepatan 300 rpm selama 15 menit. Kemudian serapannya diukur pada panjang gelombang 532 nm. Larutan blanko menggunakan 1 mL akuades yang diberi perlakuan seperti larutan konsentrasi TMP lainnya (konsentrasi 0 TMP).

2.6 Penentuan Waktu Inkubasi Asam Linoleat (Kikuzaki & Nakatani 1993)

Penentuan waktu inkubasi asam linoleat dengan menggunakan 6 mL bufer fosfat 0.1 M pH 7, kemudian ditambah 6 mL asam linoleat 50 mM dalam etanol 99.8%, dan 3 mL air bebas ion dicampurkan. Sebanyak 1 mL campuran ditempatkan di botol gelap kemudian campuran diinkubasi pada suhu 40oC. Pengukuran intensitas serapannya dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL campuran asam linoleat yang telah diinkubasi ditambahkan 2 mL larutan TCA 20% dan 2 mL larutan TBA 1% dalam asam asetat 50%. Campuran reaksi diletakkan dalam

penangas air 100oC selama 10 menit. Setelah dingin larutan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian panjang gelombangnya diukur pada panjang gelombang 532 nm. Pengukuran dilakukan setiap hari hingga tercapai serapan maksimum. Larutan blanko digunakan 1 mL campuran 3 mL etanol 99.8% dan 2 mL bufer fosfat 0.1 M pH 7, kemudian ditambahkan 2 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 1% dalam asetat 50%. Larutan blanko tersebut diletakkan dalam penangas air 100oC selama 10 menit. Setelah dingin larutan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.

2.7 Analisis Konsentrasi Malondialdehida (MDA) dengan metode TBA (Kikuzaki & Nakatani 1993)

Analisis antioksidasi formula campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis dibuat dalam konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm. Masing-masing sampel diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 mL bufer fosfat 0.1 M pH 7 dan 2 mL asam linoleat 50 mM dalam etanol 99.8%. larutan kontrol positif digunakan 1 mL α -tokoferol (200 ppm), 2 mL bufer fosfat 0.1 M pH 7 dan 2 mL asam linoleat 50 mM dalam etanol 99.8%. Semua larutan ini kemudian dimasukkan dalam botol gelap dan diinkubasi di penangas 40oC selama waktu inkubasi optimum dari metode TBA dengan mengambil 1 mL dari setiap larutan, kemudian ditambahkan 2 mL larutan TCA 20% dan 2 mL larutan TBA 1% dalam asam asetat 50%. Campuran reaksi diletakkan dalam penangas air 100oC selama 10 menit. Setelah dingin larutan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm (diameter rotor sentrifus 130 mm) selama 15 menit. Kemudian panjang gelombangnya diukur pada panjang gelombang 532 nm. Larutan blanko digunakan 1 mL campuran 3 mL etanol 99.8% dan 2 mL bufer fosfat 0.1 M pH 7, kemudian ditambahkan 2 mL TCA 20 % dan 2 mL TBA 1% dalam asetat 50%. Larutan blanko tersebut diletakkan dalam penangas air 100oC selama 10 menit. Setelah dingin larutan disentrifus dengan kecepatan 300 rpm selama 15 menit.

2.8 Uji Aktivitas Antioksidasi dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Alfarabi 2010)

Sampel ekstrak dilarutkan dalam metanol absolut dengan berbagai konsentrasi (25, 50, 75, 100, 200 ppm). Sebanyak 2 mL larutan ekstrak yang akan diuji ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0.1mM (larutan DPPH di dalam

metanol). Larutan kontrol adalah 2 mL larutan DPPH dicampurkan dengan 2 mL metanol. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Senyawa α -tokoferol dengan berbagai konsentrasi (1, 2.5, 5, 7.5, 10 ppm) digunakan sebagai pembanding. Adapun aktivitas persen penangkapan radikal DPPH (%) dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ daya hambat} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban ekstrak}}{\text{absorban kontrol}} \times 100\%$$

3. Prosedur Analisis Data

Analisis statistik terhadap aktivitas antioksidasi menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), yaitu dengan uji analysis of varian (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf $\alpha=0.05$. Data dianalisis dengan program perangkat lunak Statistical Programme for Social Science (SPSS) PASW 18.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. HASIL

1.1 Kadar Air dan Rendemen Formula

Daun sirih merah dan kulit kayu manis dianalisis kadar air terlebih dahulu sebelum digunakan untuk pembuatan formula. Hasil analisis kadar air menunjukkan bahwa proses pengeringan dengan cahaya matahari selama 9 jam mampu menurunkan kadar air hingga dibawah 10%.

Tabel 1 Kadar air daun sirih merah dan kulit kayu manis

Jenis sampel	%Kadar air (basis kering)
Daun sirih merah	9.47 ± 0.45
Kulit kayu manis	9.47 ± 0.78

n = 3 kali ulangan

Tahap ekstraksi dilakukan dengan merebus sirih merah dan kayu manis selama 15 menit yang dilakukan secara terpisah menggunakan pelarut akuades. Terdapat lima formula yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu formula sirih merah tunggal (5:0), formula kayu manis tunggal (0:5), formula campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis dengan perbandingan (4:1), (3:2), dan (2.5:2.5) (v/v). Volume yang digunakan setiap masing-masing formula sebesar 1000 mL. Kelima formula yang telah jadi tersebut dipekatkan dengan rotary evaporator selama 3 jam dan dikeringkan dengan freeze drying. Rendemen tertinggi hasil

freeze drying diperoleh formula sirih merah tunggal (5:0) sebesar 14.85%, disusul oleh formula 4:1, 0:5, 3:2, dan 2.5:2.5 dengan nilai berturut-turut sebesar 14.25%, 12.45%, dan 10.20%.

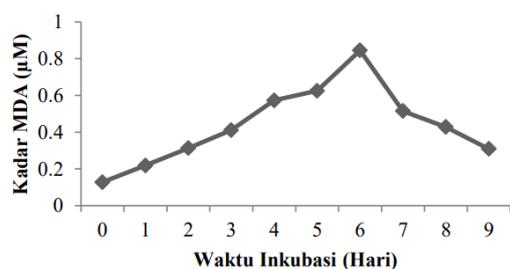
Tabel 2 Rendemen ekstrak formula campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis

Jenis Formula SM:KM	%Rendemen ekstrak
5:0	14.85
4:1	14.25
3:2	10.20
2.5:2.5	10.20
0:5	12.45

n = 3 kali ulangan

1.2 Aktivitas Antioksidasi Terhadap Penghambatan Malondialdehida (MDA)

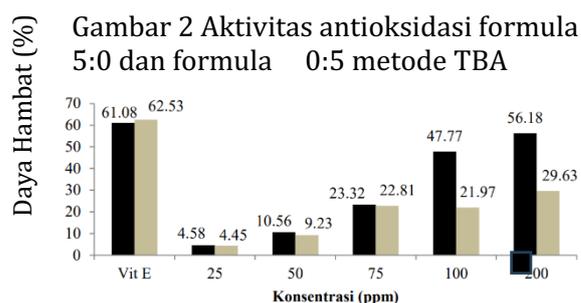
Asam linoleat yang teroksidasi oleh oksigen pada tahap awal akan membentuk hidroperoksida. Kadar hidroperoksida ini akan semakin meningkat dan setelah mencapai kadar maksimum, hidroperoksida akan mengalami dekomposisi membentuk malondialdehida yang merupakan produk akhir dari reaksi peroksidasi lipid. Hasil percobaan menunjukkan kadar MDA dari hari ke-0 hingga hari ke-6 mengalami peningkatan dan setelah hari ke-6 mengalami penurunan. Pembentukan MDA sebagai produk hasil oksidasi asam linoleat terjadi maksimum pada hari ke-6 (Gambar 3). Tabel harus diberi nomor dan judul sesuai urutan dalam naskah (Tabel 1. Koefisien Regresi) dan diletakkan pada posisi tengah (centered).



Gambar 1 Kurva kadar MDA terhadap waktu

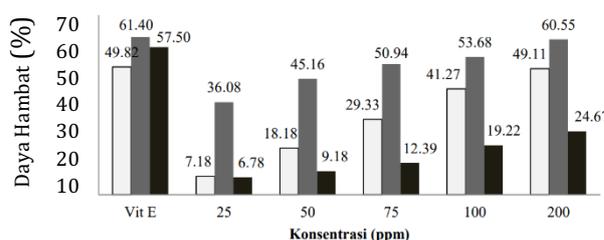
Formula sirih merah tunggal (5:0) dan formula kayu manis tunggal (0:5) terjadi peningkatan daya hambat terhadap pembentukan MDA yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi (Gambar 4). Vitamin E konsentrasi 200 ppm digunakan sebagai kontrol positif. Analisis statistika menunjukkan bahwa formula 5:0 dan formula

0:5 pada konsentrasi 25 dan 50 ppm tidak berbeda nyata ($P < 0.05$). Namun demikian, konsentrasi 25 dan 50 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 75, 100 dan 200 ppm. Formula 5:0 konsentrasi 200 ppm (56.18%) memiliki daya hambat yang sebanding dan tidak berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 200 ppm (61.08%). Hasil berbeda terjadi pada formula 0:5, Konsentrasi 200 ppm memiliki daya hambat lebih kecil (29.66%) dan berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 200 ppm (62.50%)



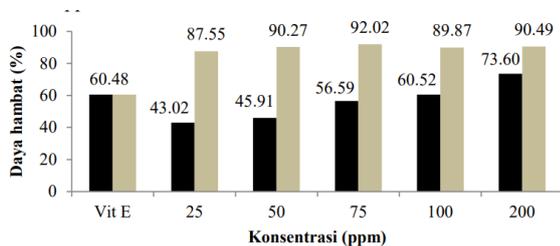
Gambar 2 Aktivitas antioksidasi formula 5:0 dan formula 0:5 metode TBA

Formula campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menghambat terjadinya oksidasi asam linoleat (Gambar 5). Analisis statistika menunjukkan bahwa formula 4:1 konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 200 ppm berbeda nyata ($P < 0.05$). Formula 3:2 pada konsentrasi 75 dan 100 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 25, 50 dan 200 ppm ($P < 0.05$). Formula 2.5:2.5 pada konsentrasi 25 dan 50 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 100 dan 200 ppm ($P < 0.05$). Konsentrasi 200 ppm formula 4:1 (49.15%) dan formula 3:2 (60.55%) memiliki daya hambat yang sebanding dan tidak berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 200 ppm. Hasil berbeda ditunjukkan formula 2.5:2.5, konsentrasi 200 ppm memiliki daya hambat lebih kecil (24.67%) dan berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 200 ppm (57.50%)



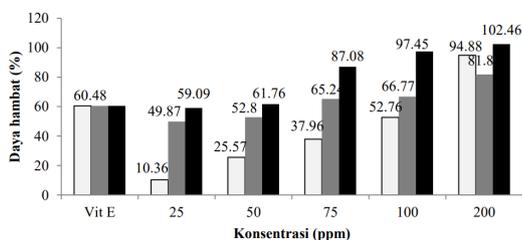
Gambar 3 Aktivitas antioksidasi formula □ 4:1, dan ■ formula 3:2, ▨ formula 2.5:2.5

1.3 Aktivitas Antioksidasi Terhadap penghambatan Radikal DPPH



Gambar 4 Aktivitas antioksidasi ■ formula 5:0 dan ▨ formula 0:5 metode DPPH

Hasil uji aktivitas antioksidasi dengan DPPH menunjukkan bahwa setiap formula campuran sirih merah dan kayu manis memiliki kemampuan yang berbeda-beda (Gambar 7). Analisis statistika menunjukkan bahwa formula 4:1 dan formula 2.5:2.5 pada konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 200 ppm berbeda nyata ($P < 0.05$). Formula 2.5:2.5 pada konsentrasi 25 ppm (59.09%) memiliki daya hambat sebanding dan tidak berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm (60.48%). Formula 3:2 pada konsentrasi 75 dan 100 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 25, 50 dan 200 ppm. Formula 4:1 dan formula 3:2 berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm.



Gambar 5 Aktivitas antioksidasi □ formula 4:1, ▨ formula 3:2, ■ formula 2.5:2.5

2. PEMBAHASAN

2.1 Pembuatan Formula Campuran Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis

Proses pengeringan daun sirih merah dan kulit kayu manis dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mempermudah penggerusan atau pembuatan serbuk (Katno *et al.* 2008). Bahan dikeringkan dengan penjemuran di bawah sinar matahari langsung, hal ini mengacu pada pengeringan secara tradisional dan mengefisienkan biaya yang dikeluarkan. Namun pengeringan dengan matahari sulit dikontrol dan mudah terkontaminasi, oleh karena itu

pada penelitian ini bahan yang dikeringkan ditutup dengan kain jaring hitam. Standar kadar air maksimum simplisia adalah 10% (Depkes 2008), karena kandungan air yang tinggi dalam suatu bahan dapat mendorong terjadinya reaksi enzimatik yang mengakibatkan terjadinya perubahan kimia. Hasil pengukuran kadar air dari kedua simplisia didapatkan di bawah 10%, sehingga simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu lama tanpa adanya kerusakan oleh mikroba (Suharmiati & Maryani 2003).

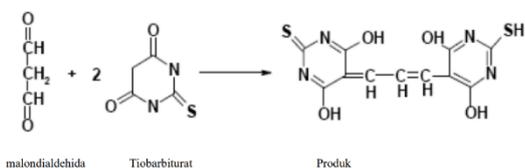
Tahap ekstraksi dilakukan dengan merebus sirih merah dan kayu manis yang dilakukan secara terpisah menggunakan pelarut air. Metode ini mengacu pada penelitian Safithri (2012), dan juga didasarkan pada kebiasaan masyarakat yang sering mengkonsumsi bahan herbal dengan cara menyeduh dan melarutkannya dalam air. Terdapat lima formula yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu formula sirih merah tunggal (5:0), formula kayu manis tunggal (0:5), formula campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis dengan perbandingan (4:1), (3:2), dan (2.5:2.5) (v/v). Basis bahan dibuat dengan total volume 1000 ml untuk mempermudah formulasi. Pembuatan formulasi diharapkan mampu meningkatkan bioaktivitas antioksidan, dibandingkan dengan komponen tunggalnya. Kelima formula tersebut dipakatkan dengan rotary evaporator, bertujuan untuk menguapkan pelarut sehingga didapat ekstrak cairan (liquid) (Nugroho *et al.* 2000). Suhu yang digunakan yaitu 50°C, karena meminimalisir kerusakan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak (Kuswardhani 2007). Proses pengeringan ekstrak dilakukan dengan metode freeze drying. Metode freeze drying dilakukan dengan cara memasukkan produk beku ke dalam ruang vakum, dalam hal ini kristal es pada bahan akan mengalami pengeringan (sublimasi) (Food Review 2013). Metode ini mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, mempertahankan stabilitas produk, serta dapat menghambat aktivitas mikroba (Nofrianti 2013).

2.2 Potensi Antioksidan Formula Campuran Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis Terhadap Penghambatan MDA

Salah satu target dari serangan radikal bebas dalam sel makhluk hidup adalah lipid pada membran sel. Sebagian besar asam lemak di dalam tubuh tidak terbentuk bebas tetapi berupa lipid, biasanya trigliserida, fosfolipid

atau ester kolesterol. Peroksidasi lipid merupakan reaksi tidak terkendali dari radikal bebas terhadap komponen sel seperti asam lemak tak jenuh ganda (polyunsaturated fatty acid, PUFA) pada membran sel yang sedikitnya mengandung tiga ikatan rangkap, sehingga terbentuk radikal bebas baru yang sangat peka terhadap oksigen (radikal 9 peroksi lipid) (Hasanah 2008). Reaksi ini berlanjut hingga membentuk produk sekunder yaitu malondialdehida (MDA).

Aktivitas antioksidasi metode asam tiobarbiturat (TBA) didasarkan pada pengukuran kadar (MDA) yang merupakan produk akhir dari reaksi lipid peroksida (Gambar 8). Penelitian ini menggunakan asam linoleat yang merupakan asam lemak tak jenuh, karena dapat dengan mudah diserang oleh radikal bebas pada ikatan rangkapnya sehingga menghasilkan lipid peroksida. Asam lemak dapat rusak akibat teroksidasi oleh beberapa faktor seperti suhu, cahaya, ion-ion logam, dan oksigen (Raharjo 2004). Oleh karena itu laju oksidasi asam linoleat dipercepat dengan mengatur suhu tetap pada 40oC, dan disimpan pada botol gelap berulir bertujuan menghindari faktor lain selain suhu dan oksigen.



Gambar 6 Reaksi malondialdehida dan tiobarbiturat (Murray *et al.* 2003)

Penelitian ini dimulai dengan pengukuran hidroperoksida, yang merupakan produk utama dari oksidasi asam linoleat, menggunakan metode diena terkonjugasi. Pengukuran ini bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi maksimum, yang pada penelitian ini menunjukkan absorbansi terbesar pada hari ke-6, konsisten dengan hasil penelitian Alfarabi (2010). Potensi antioksidasi kemudian diuji pada hari ke-8, setelah hidroperoksida terdekomposisi menjadi MDA, dengan menggunakan kurva standar yang dihasilkan dari larutan 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP), senyawa turunan MDA yang stabil. Hasil analisis kurva standar menunjukkan persamaan garis $y = 0.049 + 0.040x$ dengan nilai koefisien determinasi (r) sebesar 99.13%, yang menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi MDA dan absorbansi.

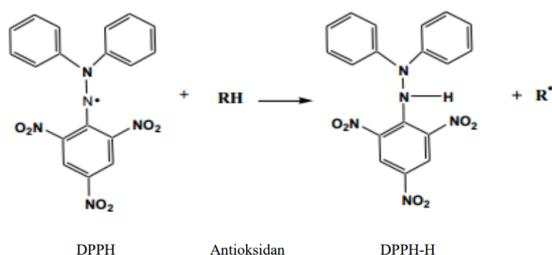
Vitamin E, sebagai senyawa fenolik yang larut dalam lemak, berfungsi sebagai antioksidan pemecah rantai radikal bebas, terutama pada membran sel dan lipoprotein plasma. Vitamin E terdiri dari campuran α -tokoferol, β -tokoferol, δ -tokoferol, dan γ -tokoferol, dengan α -tokoferol sebagai komponen yang paling dominan. Pada penelitian ini, antioksidan diuji dengan konsentrasi ekstrak sirih merah dan kayu manis yang bervariasi (25, 50, 75, 100, dan 200 ppm), serta kontrol positif berupa vitamin E pada konsentrasi 200 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan kadar MDA yang terbentuk, yang tercermin dari warna merah jambu yang semakin memudar pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi.

Berdasarkan hasil uji daya hambat, formula kombinasi daun sirih merah dan kulit kayu manis dengan perbandingan 3:2 (60.55% daya hambat) pada konsentrasi 200 ppm menunjukkan efektivitas yang sebanding dengan vitamin E pada konsentrasi 200 ppm (62.50%). Formula ini dipilih sebagai formula terbaik karena memberikan daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula sirih merah tunggal (56.18%) dan formula sirih merah dan kayu manis dengan perbandingan 4:1 (49.15%). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan kayu manis sebanyak 40% dapat meningkatkan aktivitas antioksidasi terhadap penghambatan pembentukan MDA. Oleh karena itu, formula 3:2 dapat dijadikan alternatif yang efektif untuk mencegah pembentukan peroksida lipid pada membran sel akibat radikal bebas.

2.3 Potensi Antioksidan Formula Campuran Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis Terhadap Penghambatan Radikal DPPH

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) adalah radikal bebas dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar yang akan bereaksi dengan atom hidrogen (berasal dari antioksidan sampel) membentuk DPPH tereduksi (DPPH Hidrazin) yang stabil (Molyneux 2004). Beberapa molekul dapat memberikan elektron atau hidrogen ketika bereaksi dengan DPPH, sehingga akan memudahkan warna DPPH, melalui reaksi reduksi dengan perubahan warna ungu menjadi kekuningan oleh elektron dari senyawa antioksidan (Gambar 7). Pemilihan metode DPPH untuk penentuan aktivitas antioksidan

pada penelitian ini didasarkan pada beberapa keunggulan, diantaranya sederhana, cepat, dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Prakash 2001). Metode ini sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman. Metode DPPH melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 517 nm, dimana sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke dalam larutan reagen DPPH.



Gambar 7 Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash *et al.* 2001)

Hasil uji aktivitas antioksidasi dengan DPPH menunjukkan bahwa kelima formula sirih merah dan kayu manis memiliki kemampuan menghambat senyawa radikal DPPH. Hal ini terjadi karena nilai absorban setiap konsentrasi ekstrak lebih kecil dibandingkan dengan kontrol negatif (larutan DPPH tanpa ekstrak). Kontrol positif vitamin E juga direaksikan dengan senyawa radikal bebas DPPH sebagai pembanding. Formula sirih merah tunggal (5:0) pada konsentrasi 100 ppm (60.52%) memiliki nilai yang sebanding dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm (60.48%). Formula kayu manis tunggal (0:5) berbeda nyata dengan konsentrasi vitamin E konsentrasi 10 ppm. Konsentrasi 25 ppm (87.55%) daya hambatnya lebih tinggi dibanding vitamin E (60.48%), namun konsentrasi 100 dan 200 ppm daya hambatnya menjadi tidak stabil. Hal ini dikarenakan formula kayu manis tunggal memiliki kandungan utama sinamaldehida, sehingga lebih mengarah terhadap aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase (Safithri 2012).

Campuran sirih merah dan kayu manis formula (4:1) dan formula (3:2) berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm. Sementara itu, formula 2.5:2.5 pada konsentrasi 25 ppm (59.09%) memiliki daya hambat sebanding dan tidak berbeda nyata dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm (60.48%). Oleh karena

itu, formula 2.5:2.5 dipilih sebagai formula terbaik, karena pada konsentrasi terkecil memiliki daya hambat yang sama dengan vitamin E. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan kayu manis sebanyak 50% dapat meningkatkan aktivitas antioksidasi terhadap penghambatan radikal DPPH. Sehingga kandungan antioksidan yang dimiliki formula 2.5:2.5 dapat digunakan sebagai penangkap senyawa radikal bebas (radical scavenging).

SIMPULAN

Formula 3:2 mampu menghambat pembentukan malondialdehid sebesar 60.54% dan memiliki aktivitas antioksidasi yang sama dengan vitamin E 200 ppm (61.40%). Sementara itu, Formula 2.5:2.5 konsentrasi 25 ppm (59.09%) memiliki daya hambat yang sama dengan vitamin E konsentrasi 10 ppm (60.48%).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui secara pasti senyawa bioaktif dari campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis yang berperan sebagai antioksidan. Selain itu, perlu dilakukan analisis potensi antioksidasi campuran daun sirih merah dan kulit kayu manis secara *in vivo*

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada program kerja sama dunia usaha dan kreasi reka (Kedaireka) Matching Fund tahun anggaran 2022 dengan nomor kontrak 15397/IT3.L2/HK.07.00/P/T/2022 a.n. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si. perihal bantuan dana dari seluruh penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfarabi M. 2010. Kajian antidiabetogenik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) *in vitro* [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Arthanika OM. 2012. Pengaruh pemberian formula ekstrak 4 tanaman obat (temulawak, sambiloto, meniran, temu ireng) terhadap gambaran histopatologi bursa fabricius ayam broiler [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- [AOAC] The Association of Official Analytical chemists. 2006. Official Methods of Analysis.

- Ed ke-18. Washington DC (US): Association of Official Analytical Chemist Publisher.
- [Depkes]. 2008. Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1. Jakarta (ID) : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Food Review. 2013. Freze Drying Technology : for Better Quality & Flavor of Dried Products. Jakarta (ID) : Food Review Indonesia.
- Hasanah SNR. 2008. Aktivitas ekstrak etil asetat daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) sebagai agen pengkelat logam Fe dan penangkap malonaldehida (MDA) [skripsi]. Surakarta (ID) : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. Tanaman Berkhasiat Antioksidasi. Jakarta (ID) :Penebar Swadaya.
- Irawan D. 2006. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak mahkota dewa, temu putih, sambiloto, dan keladi tikus secara in vitro [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Katno, Kusumadewi AP, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati belanda (*Guazoma ulmifolia* Lamk.). *The Journal of Indonesian Medicinal Plant* 1(1).
- Kikuzaki H, Nakatani K. 1993. Antioxidant effect of some ginger constituents. *J Food Sci.* 58: 1407-1410.
- Kumalaningsih S. 2006. Antioksidasi Alami. Surabaya (ID) : Trubus Agrisarana.
- Kurtubi M. 2006. Potensi ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) sebagai antioksidasi [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Kuswardhani DS. 2007. Mempelajari proses pemekatan karotenoid dari minyak sawit kasar dengan metode fraksinasi bertahap [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Lehninger AL. 2004. Dasar-Dasar Biokimia. Thenawidjaja M, penerjemah; Jakarta (ID) : Erlangga. Terjemahan dari : Principles of Biochemistry.
- Marlina PWN. 2008. Konsentrasi flavonoid dan lethal concentration 50 (LC50) ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 1999. Biokimia Harper. Ed ke-24. Hartanto A, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: Harper's Biochemistry.
- Nely F. 2007. Aktivitas antioksidan rempah pasar dan bubuk rempah pabrik dengan metode polifenol dan uji AOM (Active Oxygen Method) [skripsi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Nilsen AC. 2008. Market global untuk konsumsi fast food dalam satu minggu. *Majalah Appetite Journey* 1(5).
- Nofrianti R. 2013. Metode freeze drying bikin keripik makin crunchy. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2(1).
- Nugroho BW, Dadang, Prijono D. 2000. Pengembangan dan Pengembangan Insektisida Alami. Bogor (ID) : Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu IPB.
- Prakash A, Rigelhof F, Miller E. 2001. Antioxidant activity. *Analithycal Progress* 19:2.1- 4.
- Raharjo S. 2004. Oksidasi Lemak Pada Makanan : Implikasinya Pada Mutu Makanan dan Kesehatan. Yogyakarta (ID) : Universitas Gadjah Mada press.
- Rismunandar FB, Paimin. 2001. Kayu Manis Budidaya dan Pengolahan. Jakarta (ID) : Penebar Swadaya.
- Safithri M, Fahma F. 2008. Potency of Piper crocatum decoction as an antyhiperglycemia in rat strain Sparague dawley. *Hayati J. Biosci* 15(1):45-48.
- Safithri M. 2012. Kajian mekanisme antihiperqlikemik campuran ekstrak daun sirih merah dan kulit kayu manis yang berpotensi sebagai minuman fungsional [disertasi]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Saleh, Mahmoud A, Shavon C, Brooke W, Suziat ADS. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activities of essential oils. *Ethnicity & Disease* 20:78-82.
- Suharmiati, Maryani H. 2003. Khasiat dan Manfaat Jati Belanda si Pelangsing Tubuh dan Peluruh Kolesterol. Jakarta (ID) : Agro Media.
- Theroux P, Libby P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *irculation* 111: 3481-3488.
- Wen Lin, Chia, Chia WY, Sung CW, Kuang HY. 2009. DPPH free radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils. *Journal of food and drugs analysis* 17(5):386-395.