

# AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)

## (ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BETLE LEAF (*Piper betle* L.))

Nuri Andarwulan<sup>1)</sup>, C. Hanny Wijaya<sup>1)</sup>, Didik Tri Cahyono<sup>2)</sup>

### ABSTRACT

*Antioxidant extraction from betle leaf was done with ethanol according to the procedure of Hammerschmidt and Pratt (1978). The leaves extracted were green and yellow, fresh and freeze dried, and the aroma was removed by soxhlet and steam distillations. Antioxidant extract had a common specific aroma, i.e., betle leaf aroma, green aroma and ethanol aroma. On the other hand, the extract colors of the green, brown and the yellow leaves were significantly different. From the eight different kind of extract, green betle leaf extract wick freeze dried and steam distilled had highest yield. The extract of green betle leaf which was freeze dried and steam distilled also has highest activity of antioxidant (FP 9.83). The highest total phenol (32.71 mg/ml), was obtained from the antioxidant extract of the yellow betle leaf which was freeze dried and extracted with the soxhlet method. The antioxidative activity of the extracts (50, 100 and 200 ppm) were tested in crude soybean oil and refined-bleached-deodorized (RBD) soybean oil held at 60°C in a light free environment. During storage, the 200 ppm antioxidant extract tested in RBD soybean oil showed the highest antioxidant activity (FP 9.59). The combinations beetwen 50, 100 and 200 ppm extracts and 0.01, 0.02 and 0.04 % citric acid, studied in emulsion linolic and stored at 37°C, did not increase antioxidant effect (negative synergism).*

### PENDAHULUAN

Salah satu bahan aditif yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak adalah antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan. Tetapi walaupun terdapat secara alami, jika bahan pangan tersebut diolah maka senyawa tersebut dapat mengalami degradasi kimia atau fisika sehingga fungsinya berkurang. Tetapi penggunaan antioksidan untuk keperluan industri makanan belakangan ini semakin meningkat.

Antioksidan digolongkan menjadi dua golongan yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) sangat efektif dalam menghambat reaksi oksidasi lemak. Akan tetapi, penggunaan BHT dan BHA banyak menimbulkan kekhawatiran akan efek sampingnya. Dari hasil uji BHA pada bermacam-macam binatang percobaan oleh FAO/WHO (1989) didapatkan senyawa BHA ini dapat menyebabkan pembengkakan organ hati dan mempengaruhi aktivitas enzim di dalam hati. Selain itu, BHA juga

menyebabkan pendarahan yang fatal pada rongga pleural dan peritoneal dan juga pada organ testes epididymis dan pankreas. BHT juga menyebabkan perubahan dalam tiroid tikus, stimulasi sintesis DNA dan induksi enzim (Farago et al., 1989).

Karena kekhawatiran akan efek samping tersebut, maka belakangan ini banyak penelitian dilakukan untuk menggali potensi antioksidan dari sumber-sumber alami, seperti pada rempah-rempah, biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran, buah-buahan dan lain-lain. Senyawa alami mempunyai kelebihan karena kemungkinan lebih aman untuk dikonsumsi (Kikuzaki dan Nakatani, 1993). Sumber antioksidan alami terutama adalah rempah-rempah. Dari beberapa penelitian (Chipault et al., 1952; Chang et al., 1977; dan Wu et al., 1982) telah diketahui bahwa rempah-rempah mempunyai aktivitas antioksidan. Salah satu kelemahan ekstrak rempah-rempah yang akan digunakan untuk antioksidan adalah berasa dan beraroma rempah-rempah.

Sirih sudah dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sejak lama. Chang et al., (1981) yang dikutip oleh Houlihan dan Ho (1985) menyatakan bahwa oleresin yang terdapat dalam daun sirih yang diekstrak dengan metanol dan heksan menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dari BHT saat ditambahkan ke dalam lemak babi pada konsentrasi 0,06 persen. Dari hasil-hasil penelitian tersebut dan mengingat budidaya tanaman sirih tidak membutuhkan penanganan

<sup>1)</sup> Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB, Kotak Pos 220, Kampus Darmaga, Bogor 16002

<sup>2)</sup> Alumni Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB



khusus mendorong dilakukan penelitian untuk memproduksi antioksidan alami dari daun sirih.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari cara ekstraksi dan menguji aktivitas antioksidan alami dari daun sirih.

## METODOLOGI

### Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau dan daun sirih kuning yang diperoleh dari pekarangan rumah di wilayah sekitar Bogor. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol absolut, heksan, BHA, asam linoleat kemurnian 88%, amonium tiosianat, asam klorida, bufer fosfat, besi (II) klorida, asam sitrat, natrium karbonat, kalium klorida, minyak kedelai dan pereaksi *Folin-Denis* yang dibuat dari asam tungstat, asam fosfomolibdat,  $H_3PO_4$  dan  $H_2O$ .

Peralatan yang digunakan adalah alat ekstraksi destilasi uap, alat ekstraksi soxhlet, oven, shaker, penangas air, alat saring, kertas *whatman 42*, rotavapor, inkubator, timbangan analitik dan peralatan gelas.

### Metode

Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian tahap pertama dan penelitian tahap kedua. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mencari cara ekstraksi alami dari daun sirih dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Pada penelitian tahap kedua uji aktivitas antioksidan dalam emulsi minyak kedelai dan efek interaksinya dengan asam sitrat.

### Metode Penghilangan Aroma

Aroma daun sirih direduksi dengan metode ekstraksi destilasi uap dan soxhlet. Untuk metode ekstraksi destilasi uap, bahan dengan berat 25 g (berat kering) didestilasi uap sampai minyak atsiri yang dihasilkan tidak terdeteksi (3 jam). Residu dari daun sirih kering beku dikeringkan dengan alat kering beku (*freeze drying*), sedangkan residu daun sirih segar dikeringkan di udara terbuka. Dengan metode soxhlet, bahan dengan berat 25 g dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam labu soxhlet dan diekstraksi dengan pelarut heksan selama 26 jam. Residu dari daun sirih segar dan kering beku dikeringkan di udara terbuka.

### Ekstraksi dengan Pelarut

Prosedur yang digunakan pada ekstraksi dengan pelarut ini adalah prosedur menurut Hammerschmidt dan Pratt (1978) dengan modifikasi sedikit waktu ekstraksi. Ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol. Sirih sebanyak 20 g

(berat kering) dihomogenkan dengan 100 ml pelarut dan digoyang (*shaker*) selama 3 jam. Setelah ditambah 70 ml pelarut, kemudian campuran dipanaskan dalam penangan air 70°C selama 1 jam dan disaring dengan alat penyaring vakum menggunakan *Whatman 42*. Residu dicuci dengan 100 ml pelarut panas, kemudian dua filtrat dicampur. Filtrat disaring kembali secara manual dengan menggunakan kertas *Whatman 42* dan kemudian diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C. Ekstrak yang pekat hasil dari rotavapor ditepatkan beratnya menjadi 2 g dengan pelarut etanol, tetapi sebelumnya ditimbang beratnya untuk mengetahui rendemen ekstrak. Filtrat yang diperoleh disebut ekstrak antioksidan. Ekstrak antioksidan yang diperoleh dihitung total fenolnya dan diuji aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat (Mitsuda et al., 1966)

### Uji Aktivitas Antioksidan dalam Sistem Emulsi

Emulsi minyak yang digunakan adalah minyak kedelai kasar dan minyak kedelai murni yang belum ditambahkan antioksidan. Emulsi minyak dibuat dari 10 g (56%) minyak, 7,7 g (43%) air dan 1 g Tween 20 sebagai emulsifier. Campuran emulsi tersebut diaduk dengan *stirer magnetik* selama 1 jam. Ekstrak antioksidan dengan konsentrasi 50, 100 dan 200 ppm ditambah kedalam emulsi minyak, untuk kontrol tidak ditambahkan ekstrak antioksidan. Selanjutnya emulsi minyak disimpan pada ruang gelap pada suhu 60°C selama 14 hari dan setiap 2 hari sekali dihitung bilangan peroksidanya (AOAC, 1984).

### Uji Interaksi Ekstrak Antioksidan dengan Asam Sitrat

Ekstrak antioksidan alami dari daun sirih yang menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi selanjutnya akan dilihat aktivitasnya dengan kombinasi antioksidan lain (asam sitrat). Konsentrasi ekstrak antioksidan yang dicobakan adalah 50, 100, 200 ppm, sedangkan konsentrasi asam sitrat adalah 0,01, 0,02 dan 0,04 persen. Aktivitas antioksidan tersebut diukur dengan menggunakan metode tiosianat (Mitsuda et al., 1966).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi Pelarut dengan Etanol

Ekstraksi antioksidan alami dari daun sirih dilakukan dengan pelarut organik etanol. Pemilihan pelarut dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Huang et al. (1981) yang dikutip Houlihan dan Ho (1985) yang menyatakan bahwa oleoresin yang terdapat dalam daun sirih yang diekstrak dengan metanol dan heksan menunjukkan



aktivitas antioksidasi yang lebih tinggi dari BHT saat ditambah kedalam lemak babi 0,06 persen. Sedangkan dari penelitian Andarwulan (1994) yang mengekstrak oleoresin antioksidan dari daun sirih dengan tiga pelarut yaitu metanol, heksan-metanol dan heksan-etanol memberikan hasil bahwa aktivitas antioksidan yang diekstrak dengan heksan-etanol menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi.

Penggunaan etanol untuk mengekstrak disebabkan oleh asumsi bahwa komponen aktif antioksidan dari daun sirih bersifat polar. Disamping itu etanol juga melarutkan asam lemak rantai panjang maupun minyak atsiri (Synder dan Kirkland, 1979). Menurut Larson (1988), senyawa antioksidan di dalam tanaman tingkat tinggi selain senyawa protein, senyawa bernitrogen, karotenoid, dan vitamin C, adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan primer dalam tanaman bersifat polar, dapat berupa vitamin E, flavonoid, asam fenolat dan senyawa fenol yang lain. Senyawa-senyawa fenolik tersebut larut dalam pelarut etanol. Ekstrak antioksidan alami dari daun sirih yang diperoleh dari beberapa perlakuan menghasilkan warna aroma, rendemen, total fenol dan aktivitas antioksidan yang beraneka ragam. Adapun karakteristik secara organoleptik terhadap warna dan aroma ekstrak antioksidan dari daun sirih dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 didapat 8 jenis ekstrak oleoresin daun sirih yang telah dipekatkan dengan rotavapor berwarna hitam dan mempunyai aroma yang khas. Hasil ekstrak dari rotavapor ditepatkan menjadi 2 gram dengan pelarut etanol, tetapi sebelumnya dihitung beratnya untuk menghasilkan rendemen ekstrak yang diperoleh. Hasil ekstrak yang telah ditepatkan menjadi 2 gram mempunyai warna yang beraneka ragam.

Ekstrak antioksidan yang didapat mempunyai warna yang bervariasi dari warna hijau, kuning dan coklat. Warna hijau ini diduga adalah senyawa pigmen klorofil sedangkan warna coklat diduga minyak atsiri yang larut dalam etanol. Untuk daun sirih segar warna ekstrak yang dihasilkan lebih dominan ke arah kuning kecoklatan. Hal ini disebabkan pigmen klorofil lebih sulit terekstrak bila dibandingkan dengan daun sirih kering beku (Soemarno, 1987).

Ekstrak antioksidan dari daun sirih ini mempunyai aroma yang khas. Aroma ini merupakan campuran dari aroma daun sirih, hijau daun (*green*) dan pelarut etanol. Aroma ekstrak ini tidak dapat dihilangkan, tetapi dari hasil ekstrak yang didapat aromanya telah berkurang dibandingkan dalam keadaan segar. Pada metode soxhlet, daun sirih hijau ternyata menghasilkan aroma yang lebih kuat dari pada daun sirih kuning. Hal ini disebabkan daun sirih hijau mempunyai aroma yang lebih tajam bila dibandingkan dengan

Tabel 1. Karakteristik aroma dan warna ekstrak antioksidan daun sirih

Perlakuan	Daun Sirih	Aroma	Warna
Sokhlet	Hijau segar	++	Hijau-kekuningan
	Hijau keringbeku	++	Hijau-kecoklatan
	Kuning segar	+	Coklat-kekuningan
	Kuning keringbeku	+	Coklat-kehijauan
Destilasi Uap	Hijau segar	+	Hijau-kekuningan
	Hijau keringbeku	++	Kuning-kecoklatan
	Kuning segar	++	Kuning-kehijauan
	Kuning keringbeku	++	Hitam

+, ++ : menyatakan kekuatan aroma dari ekstrak antioksidan dari daun sirih. Aroma yang timbul adalah campuran aroma daun sirih, aroma hijau daun (*green*) dan aroma etanol.

daun sirih kuning. Ekstrak antioksidan daun sirih yang didestilasi uap pada umumnya mempunyai aroma yang lebih kuat kecuali daun sirih hijau segar.

#### Rendemen Ekstrak

Dari hasil ekstraksi pelarut dengan etanol didapat ekstrak antioksidan dengan rendemen seperti terlihat pada Gambar 1.

Rendemen ekstrak antioksidan yang tertinggi adalah ekstrak dari daun sirih kering beku yang didestilasi uap (7,75 persen). Dari bentuk daun, daun sirih kering beku dan segar mempunyai perbedaan rendemen ekstrak yang cukup besar. Hal ini berkaitan dengan ukuran partikel. Menurut Quenther (1948) ukuran partikel yang lebih kecil (luas permukaan menjadi lebih besar) memudahkan dalam hal ekstraksi suatu komponen dari suatu bahan. Disamping itu penghancuran daun akan memecahkan sel-sel yang terdapat dalam daun sehingga komponen yang akan diekstrak akan cepat keluar dari suatu bahan.

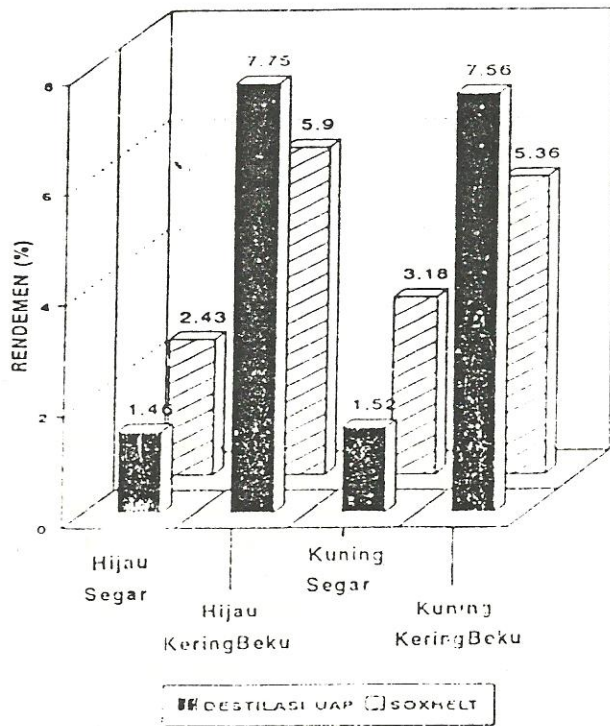
#### Total Fenol

Dari hasil ekstraksi antioksidan dengan pelarut etanol didapatkan total fenol seperti terlihat pada Gambar 2.

Total fenol rata-rata tertinggi terdapat pada daun sirih hijau kering beku soxhlet yaitu 32,71 mg/ml, sedangkan yang paling rendah adalah daun sirih kuning segar destilasi uap dengan total fenol sebesar 9,97 mg/ml.

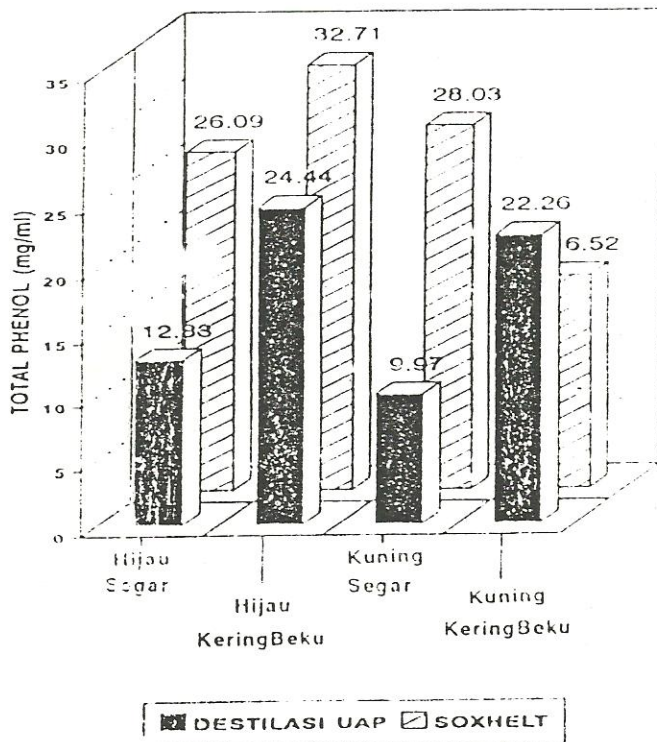
Menurut Dharma (1985) dan Tampubolon (1981) minyak atsiri tersusun atas beberapa komponen kimia yang digolongkan sebagai senyawa fenol dan senyawa selain fenol. Senyawa-senyawa fenol penyusun minyak atsiri





Gambar 1. Rendemen ekstrak antioksidan dari daun sirih.

daun sirih tersebut terdiri dari 2 komponen fenol yaitu isomer betel fenol dari kavikol dan eugenol dengan berbagai kombinasi fenol seperti allil



Gambar 2. Total fenol ekstrak antioksidan dari daun sirih

pirokatekol, kavibetol, kavakrol, metil eugenol, sineol dan estragol.

Senyawa fenol dapat berfungsi sebagai antioksidan apabila tidak berdiri sendiri. Keteraktifan senyawa fenol dengan radikal-radikal lemak disebabkan karena adanya substitusi grup-grup alkil pada posisi 2, 4, atau 6 meningkatkan densitas elektron pada grup hidroksil. Radikal fenol yang terbentuk setelah fenol bereaksi dengan radikal lemak distabilkan oleh adanya pemindahan lokasi (delokalisasi) elektron yang tidak berpasangan ke bagian cincin aromatik.

Al-Saikhan et al. (1995) menyatakan bahwa variasi aktivitas antioksidan dari beberapa jenis kentang tidak dipengaruhi oleh total fenol maupun oleh warna, akan tetapi aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh beberapa senyawa fenol.

Faktor-faktor yang mempengaruhi keefektifan antioksidan terhadap kecepatan/tingkat otoksidasi adalah struktur antioksidan, kondisi oksidasi dan sampel yang teroksidasi.

#### Aktivitas Antioksidan Dari Daun Sirih

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode tiosianat adalah suatu mekanisme pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Proses terbentuknya senyawa radikal bebas ini disebabkan oleh oksidasi asam linoleat dalam kondisi buffer yang diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 hari dan tiap periode tertentu diukur bilangan peroksida dengan menggunakan  $FeCl_2$  dan amonium tiosianat. Bilangan peroksida dalam metode tiosianat dinyatakan sebagai senyawa yang dapat mengoksidasi  $Fe^{2+}$  menjadi  $Fe^{3+}$  yang menghasilkan warna merah yang dapat dinyatakan dalam absorbansi pada panjang gelombang 500 nm.

Pengukuran aktivitas dapat dinyatakan dalam periode induksi dan faktor protektif. Periode induksi adalah waktu yang diperlukan untuk mencapai nilai ketetapan tertentu. Baniyas et al. (1992) menyatakan periode induksi dinyatakan dalam waktu yang diperlukan untuk mencapai bilangan peroksida sebesar 20 meq/Kg, sedangkan Chen et al. (1995) menetapkan periode induksi dinyatakan dalam waktu yang diperlukan untuk mencapai bilangan peroksida sebesar 20 meq/Kg, sedangkan Chen et al. (1995) menetapkan periode induksi dinyatakan dalam waktu yang dibutuhkan untuk mencapai nilai absorbansi 0,300 pada panjang gelombang 500 nm (metode tiosianat). Taylor dan Richardson (1980) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai faktor protektif. Faktor protektif didapat dari perbandingan antara oksidasi pada emulsi yang ditambah antioksidan (menit). Faktor protektif dalam penelitian ini dinyatakan sebagai perbandingan

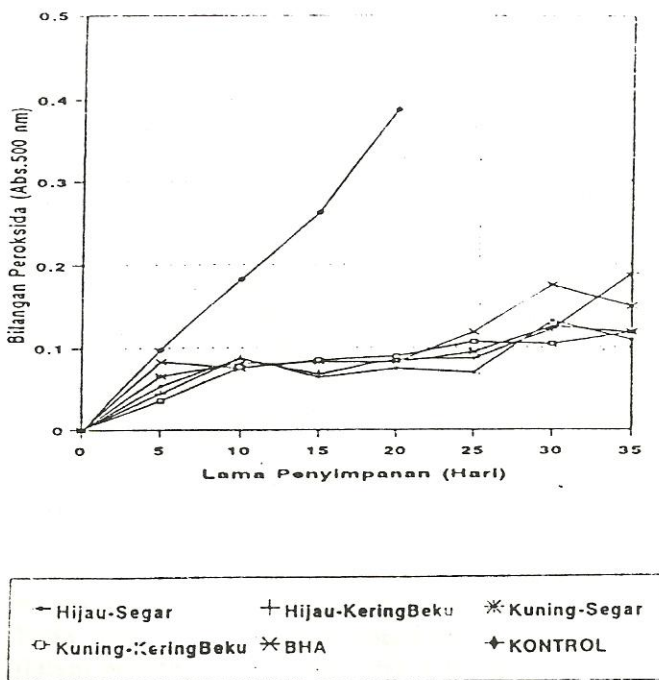


antara periode induksi sampel (hari) dengan periode induksi kontrol (hari).

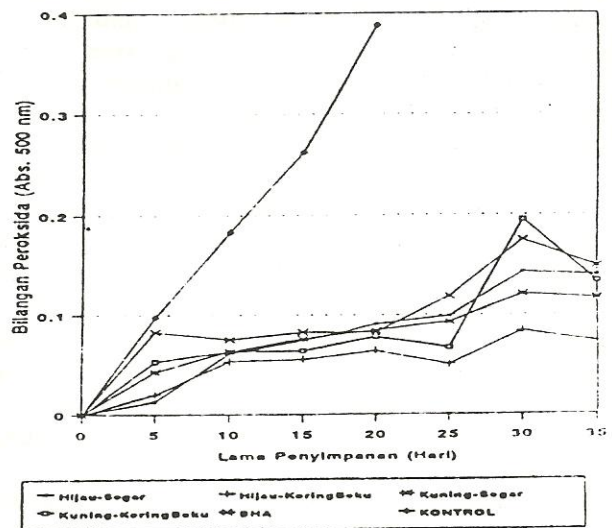
Dari delapan ekstrak antioksidan yang didapat dari kombinasi 3 perlakuan yaitu jenis daun, bentuk daun dan metode penghilangan aroma menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari kontrol dan BHA. Kedelapan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Dari Gambar 3 dan Gambar 4 dapat dilihat bahwa nilai absorbansi belum mencapai 0,300 (kecuali kontrol). Dari gambar tersebut terlihat adanya kecenderungan membentuk garis linear pada nilai absorbansi 0,000 sampai 0,300 (kontrol), sehingga dari data tersebut diasumsikan bahwa data ekstrak antioksidan dan bersifat garis linear pada nilai absorbansi 0,000 sampai 0,300.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa ekstrak antioksidan yang dengan metode soxhlet tidak teratur kenaikan nilai absorbansinya. Hal ini ditunjukkan dari nilai absorbansi yang naik turun. Dari nilai faktor protektif di dapat nilai tertinggi adalah daun sirih kuning segar (6,62). Sedangkan dari gambar 4 dapat dilihat bahwa ekstrak antioksidan yang didestilasi uap lebih teratur



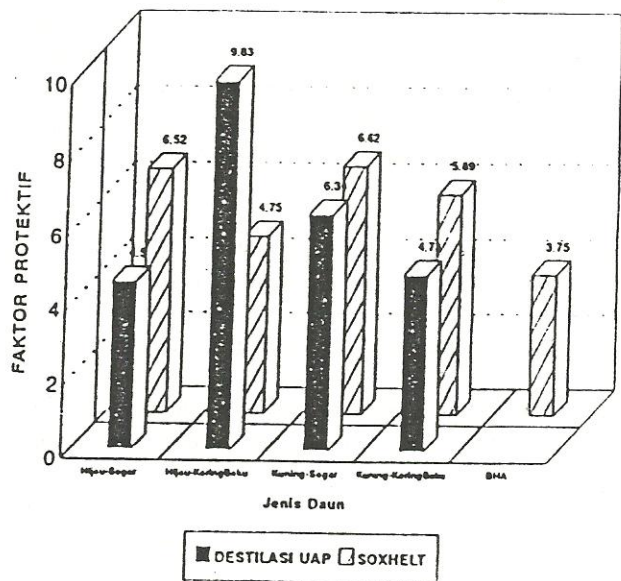
Gambar 3. Aktivitas antioksidan dari ekstrak dengan penghilangan aroma menggunakan metode soxhlet.



Gambar 4.. Aktivitas antioksidan dari ekstrak dengan penghilangan aroma menggunakan metode destilasi uap.

kenaikan nilai absorbansinya. Dari nilai faktor protektif didapat nilai tertinggi adalah daun sirih hijau kering beku (9,83).

Aktivitas antioksidan alami dari daun sirih dinyatakan dalam faktor protektif. Nilai faktor protektif dari kedelapan ekstrak antioksidan dapat dilihat pada Gambar 5.



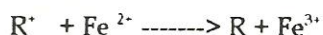
Gambar 5. Faktor protektif ekstrak antioksidan dari daun sirih.



Dari hasil penelitian ini aktivitas antioksidan dari daun sirih hijau lebih tinggi dari pada daun sirih kuning, hal ini diduga aroma dari daun sirih hijau yang lebih pedas dari pada daun sirih kuning berfungsi sebagai senyawa aktif antioksidan.

Total fenol dari ekstrak antioksidan alami dari daun sirih tidak menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang tertinggi adalah ekstrak antioksidan dari daun sirih kering beku destilasi uap yang total fenolnya sebesar 24,44 mg/ml lebih rendah dari ekstrak antioksidan dari daun sirih hijau kering beku soxhlet yaitu sebesar 32,71 mg/ml.

Dengan menggunakan metode tiosianat dapat diduga sifat dari antioksidan yang kita teliti, hal ini dapat dilihat dari pengujian bilangan peroksida yang dapat mengoksidasi Fe<sup>2+</sup> menjadi Fe<sup>3+</sup>. Maka dari hasil analisis diduga bahwa antioksidan alami daun sirih dapat bersifat reduktor. Mekanisme ini dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme kerja oksidasi fero menjadi feri.

#### Aktivitas Antioksidan dalam Emulsi Minyak

Penambahan ekstrak antioksidan dari daun sirih yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (daun sirih hijau kering beku destilasi uap) dalam emulsi minyak kedelai dan minyak kedelai murni yang dipanaskan pada suhu 60°C menunjukkan adanya kestabilan aktivitas antioksidannya.

Dengan menggunakan ekstrak antioksidan pada konsentrasi 50,100 dan 200 ppm memberikan efek antioksidan yang berbeda baik dalam minyak kedelai kasar maupun dalam minyak kedelai murni. Minyak kedelai kasar mempunyai stabilitas lebih tinggi dari pada minyak kedelai murni, hal ini terlihat dari nilai bilangan peroksida minyak kedelai kasar lebih rendah dari pada minyak kedelai murni setelah disimpan 14 hari pada suhu 60°C (Gambar 7).

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 7. Dalam emulsi minyak kedelai kasar pada hari kedua emulsi yang ditambahkan ekstrak antioksidan mempunyai bilangan peroksida yang lebih tinggi dari kontrol. Pada umumnya aktivitas antioksidan daun sirih dalam beberapa konsentrasi (50, 100 dan 200 ppm) tidak menunjukkan perbedaan yang besar sampai hari kesembilan. Pada hari kesembilan baru kelihatan perbedaan dimana ekstrak antioksidan pada konsentrasi 50 ppm menunjukkan bilangan peroksida yang paling tinggi (35,34 mgq/Kg), sedangkan pada konsentrasi 100 ppm adalah 28,5 meq/Kg dan 200 ppm adalah 22,27 meq/Kg.

Untuk minyak kedelai murni, pada hari kedua, kontrol dan ekstrak antioksidan 50 ppm sudah dapat menunjukkan perbedaan dibandingkan dengan ekstrak antioksidan 100 dan 200 ppm. Setelah hari kesembilan, bilangan peroksida ekstrak antioksidan 100 ppm mulai lebih tinggi dari pada ekstrak antioksidan 200 ppm.

Pengukuran aktivitas antioksidan disamping dengan melihat grafik dapat pula dinyatakan dalam periode induksi dan faktor protektif. Banias et al. (1992) menetapkan periode induksi dalam hari yang diperlukan untuk mencapai bilangan peroksida 20 meq/Kg. Data analisis periode induksi dan faktor protektif ini dapat dilihat pada Gambar 8.

#### Interaksi Ekstrak Antioksidan dengan Asam Sitrat

Ekstrak antioksidan dengan aktivitas tertinggi (daun sirih hijau kering beku destilasi uap) diuji efek interaksinya dengan antioksidan lain yaitu asam sitrat. Konsentrasi ekstrak antioksidan yang dicobakan adalah 50, 100 dan 200 ppm, sedangkan konsentrasi asam sitrat adalah 0,01, 0,02 dan 0,04 persen. Uji interaksi ini menggunakan metode tiosianat. Pengukuran efek sinergis dinyatakan dalam persen sinergis (Banias et al., 1992)

$$\text{Syn \%} = \frac{100 \times ((IP_m - IP_c) - (IP_p - IP_c) - (IP_a - IP_c))}{(IP_m - IP_c)}$$

Keterangan :

IP<sub>m</sub> = Periode Induksi campuran

IP<sub>c</sub> = Periode Induksi kontrol

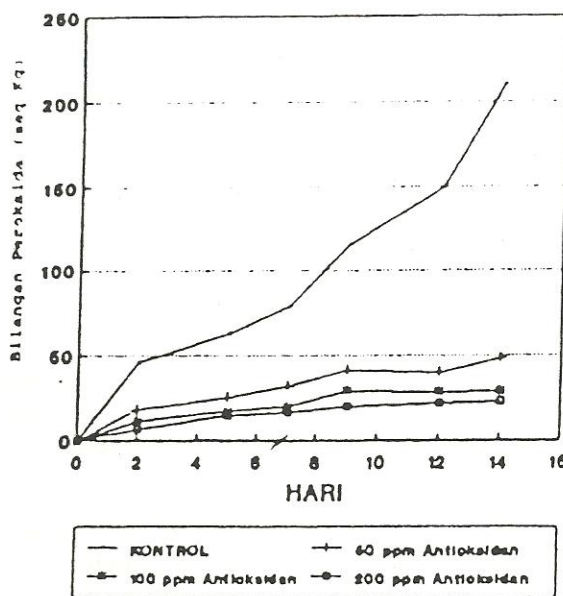
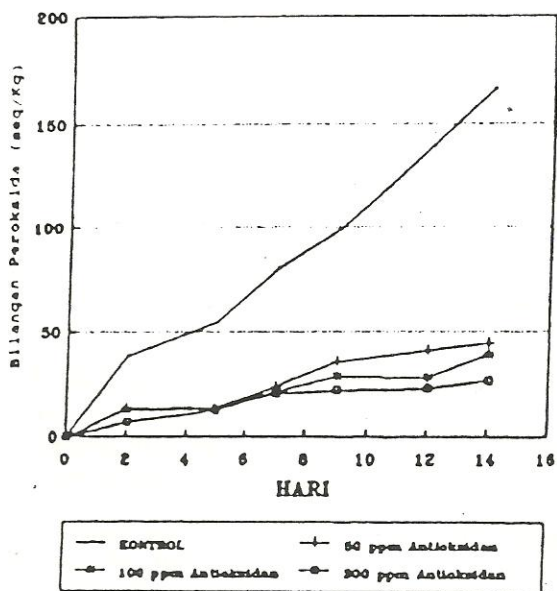
IP<sub>p</sub> = Periode Induksi antioksidan sirih

IP<sub>a</sub> = Periode Induksi asam sitrat

Hasil uji interaksi antioksidan dengan asam sitrat dengan metode tiosianat dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa interaksi ekstrak antioksidan dengan asam sitrat menunjukkan efek sinergis negatif.

Dari uji aktivitas, ekstrak antioksidan dan asam sitrat menunjukkan aktivitas yang tinggi. Hal ini dilihat dari nilai periode induksi yang tinggi menyebabkan ekstrak antioksidan daun sirih maupun asam sitrat lebih efektif bila tidak dicampur.

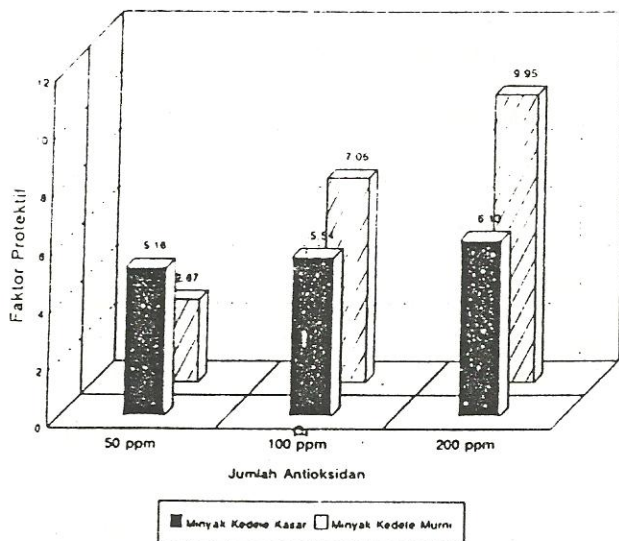




(a)

(b)

Gambar 7. Aktivitas antioksidasi ekstrak antioksidan daun sirih dalam emulsi minyak kedelai kasar dan minyak kedelai murni.



Gambar 8. Faktor protektif ekstrak antioksidan dalam emulsi minyak kedelai.

**KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak antioksidan alami dari daun sirih yang diekstrak dengan pelarut etanol memberikan efek

antioksidan dalam sistem emulsi asam linoleat-etanol yang disimpan pada suhu 37°C. Dari kedelapan ekstrak antioksidan yang didapat dari perlakuan jenis daun (hijau dan kuning), bentuk daun (segar dan kering beku) didapatkan bahwa ekstrak antioksidan dari daun sirih hijau kering beku yang didestilasi uap menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi.

Ekstrak antioksidan alami dari daun sirih yang diperoleh dari pekatan ekstrak etanol mempunyai aroma yang khas yaitu campuran antara aroma daun sirih, pelarut etanol dan hijau daun (*green*). Warna dari ekstrak antioksidan mempunyai warna yang bervariasi dari warna hijau, kuning sampai coklat.

Dari hasil ekstraksi antioksidan ini diketahui rendemen tertinggi adalah daun sirih kering beku yang didestilasi uap (7,75%), sedangkan yang paling rendah adalah daun sirih segar destilasi uap (1,46 persen).

Dalam penetapan total fenol didapat bahwa ekstrak antioksidan daun sirih hijau kering beku yang disokhlet memiliki total fenol yang tinggi yaitu 32,71 mg/ml, sedangkan total fenol yang paling kecil adalah daun sirih segar yang didestilasi uap yaitu 9,97 mg/ml. Dari penelitian ini total fenol yang tinggi tidak menunjukkan bahwa ekstrak antioksidan tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi pula.



Tabel 2. Efek interaksi ekstrak antioksidan dengan asam sitrat

Antioksidan sirih (ppm)	Asam sitrat							
	0 %		0,01 %		0,02 %		0,04 %	
	IP a	Syn % b	IP	Syn %	IP	Syn %	IP	Syn %
0	12,86	-	85,72	-	96,60	-	93,54	-
50	103,78	-	87,50	-119,35	64,14	-239,78	175,00	-6,01
100	102,25	-	102,33	-81,41	68,27	-211,85	77,16	-164,20
200	133,37	-	97,13	-120,36	58,41	-346,78	81,26	-193,73

a. Periode induksi : waktu yang dibutuhkan untuk mencapai absorbansi 0,300

b.  $Syn \% = 100 * ((Plm - Plc) - (Plp - Plc) - (Pla - Plc)) / (Plm - Plc)$ ;

dimana Plm, Plc, Pla adalah suatu waktu induksi dari campuran, kontrol, antioksidan sirih, dan asam sitrat

Dari hasil uji kestabilan antioksidan dengan konsentrasi 50, 100 dan 200 ppm di dalam emulsi minyak kasar dan minyak kedelai murni, diketahui bahwa ekstrak antioksidan tahan pada suhu 60°C. Hal ini ditandai dengan aktifnya ekstrak antioksidan pada berbagai tingkat konsentrasi. Aktivitas antioksidan yang paling tinggi adalah ekstrak antioksidan 200 ppm yang ditambahkan dalam minyak kedelai murni (faktor protektif 9,59), sedangkan yang paling rendah adalah ekstrak antioksidan 50 ppm di dalam emulsi minyak kedelai murni.

Dari uji interaksi ekstrak antioksidan pada konsentrasi 50, 100 dan 200 ppm dengan asam sitrat 0,01, 0,02 dan 0,04 persen didapatkan efek interaksi negatif.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Saikhan, M.S., L.R. Howard dan J.c. Miller. 1995. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tubersalum* L.). J. Food Sci. 60:2

Andarwulan, N. 1994. Usulan Proyek Penelitian (Tidak Dipublikasikan). Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.

AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agriculture Chemists. AOAC Inc. Washington.

Banias, C., V. Orepoulou dan C.D. Thomopoulos. 1992. The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. J. Am. Oil Chem. Soe., 69 (6) : 50

Chang, S.S., B. Ostric-Matijasevic, O.A.L. Hsieh dan C.L. Huang. 1977. Natural antioxidant from rosemary and sage. J. Food Sci. 42 : 1102

Chen, H.M., K. Muramoto dan F. Yamauchi. 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean  $\beta$ -conglycinin. J. Agric. Food Chem. 43:574

Chipault, J.R., G.R. Mizuno, J.M. Howkins dan W.O. Lundberg. 1952. The antioxidant properties of natural spices. Di dalam M.S. Peterson (ed). Food Research. Vol 17. The Gerrard Press, Champaign, Illinois.

Chipault, J.R., G.r. Mizuno dan W.O. Lundberg. 1955. Antioxidant properties of spices in oil-in-water emulsions. Di dalam M.S. Peterson (ed.). Food Research. Vol 20. The Gerrard Press, Champaign, Illinois.

Dharma. A. P. 1985. Tanaman Obat Tradisional Indonesia. Balai Pustaka. Jakarta.

Farago, R.S., A.Z.M.A. Badel, F.M. Hewdel dan G.S.A. El-Baroty. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation ini aqueous media. J. Am. Oil Chem. Soc.66:792

Hammarschmidt, P.A. dan D.E. Pratt. 1978. Phenolic antioxidants. Di dalam D.B. Min dan T.H. Smouse. Flavor Chemistry of Fats and Oils. American Oil Chemists' Society, USA.



- Kikuzaki, H dan N. Nakatani. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *J. Food Sci.* 58:1407
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 27:969
- Mitsuda, H., K. Yasomoto dan K. Iwami. 1966. Antioxidative Action of Indole Compounds During the Autoxidation of Linoleic Acid. *Eiyoko to Syokuryo*, 19:210
- Quenther, E. 1984. *The essential Oils, Vol II.* Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Soemarno. 1987. Pemeriksaan Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper betle* L.). Segar dan yang Telah Dikeringkan. Skripsi. Departemen Farmasi, ITB, Bandung.
- Somaatmadja, D. 1985. Rempah-rempah Indonesia. Departemen Perindustrian, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Hasil Pertanian, Bogor.
- Synder, L.R. dan J.J. Kirkland. 1979. *Introduction to Modern Liquid Chromatography.* John Wiley & Sons, Inc., Canada.
- Tampubolon, O.T. 1981. *Tanaman Obat.* Bharata Karya Aksara, Jakarta.
- Taylor, M.J. dan T. Richardson. 1980. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in linoleic emulsion oxidized by haemoglobin. *J. Food Sci.* 45 : 1223
- Wu, J.W., M.H. Lee, C-T. Ho dan S.S. Chang. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59:339