

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Potensi Minyak Atsiri sebagai Antioksidan**

Minyak atsiri atau *essential oil* merupakan cairan minyak yang bersifat mudah menguap, tersusun atas campuran senyawa kimia dengan komposisi yang bervariasi. Aroma khas minyak atsiri mirip dengan aroma tanaman asalnya. Pada beberapa tanaman, minyak atsiri dapat ditemukan hampir di seluruh bagian tanaman seperti daun, batang, buah, akar, bunga, dan biji [1]. Salah satu metode yang umum digunakan untuk memperoleh minyak atsiri yaitu destilasi uap [13,14].

Minyak atsiri adalah hasil dari metabolisme sekunder tanaman yang dihasilkan sebagai pertahanan diri dari musuhnya seperti mikroorganisme patogen, penyakit, gangguan serangga dan herbivora. Senyawa utama penyusun minyak atsiri dihasilkan melalui 3 jalur utama biosintetis yaitu jalur *mevalonate* menghasilkan senyawa seskuiterpen, jalur *methyl erithrytol* menghasilkan monoterpen dan diterpen, serta jalur *shikimic acid* menghasilkan fenilpropen [1]. Komponen bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri berperan penting terhadap adanya aktivitas biologis suatu tanaman. Minyak atsiri mempunyai potensi sebagai antioksidan, antibakteri, antiproliferatif, antiinflamasi, antidiabetes dan antikanker. Secara umum minyak atsiri telah diaplikasikan dalam industri farmasi, makanan, parfum, aromaterapi, kosmetik, dan pertanian [2,3].

Saat ini minyak atsiri telah banyak dikembangkan dan menjadi komoditas ekspor Indonesia meliputi minyak nilam, pala, akar wangi, kenanga, kayu putih, serai wangi, cendana, kayu manis dan cengkeh [15]. Beberapa tanaman penghasil minyak atsiri tersebut mempunyai potensi sebagai antioksidan alami. Minyak bunga kenanga dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas dengan konsentrasi minyak sebesar 2,29 mg/mL [16]. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan Rachmi, dkk [17] menunjukkan minyak biji pala mempunyai aktivitas antiosidan yang rendah dengan nilai  $IC_{50} > 1000 \mu\text{l/ml}$ . Minyak jeruk purut sebagai minyak atsiri pendatang baru di Indonesia mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih efektif dan perlu untuk dikembangkan [5].

## 2.2 Komposisi Kimia Minyak Jeruk Purut

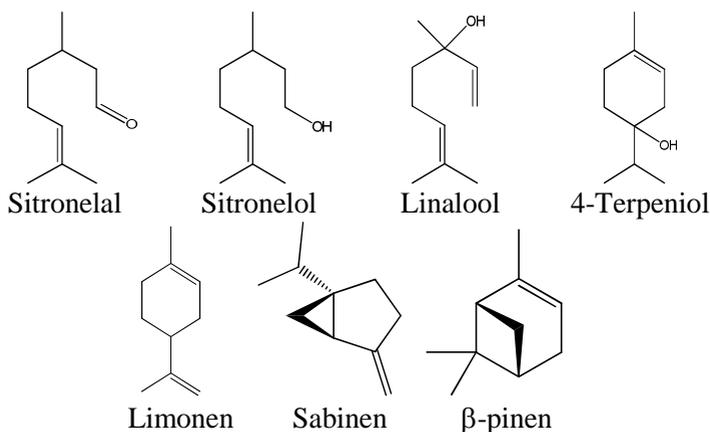
Minyak jeruk purut merupakan salah satu minyak atsiri pendatang baru di Indonesia [4]. Dalam perdagangan internasional minyak jeruk purut dikenal sebagai *kaffir lime oil* dengan harga jual 91.23-151.96 USD/kg sesuai dengan tingkat kemurniannya [18]. Beberapa studi melaporkan bahwa minyak jeruk purut mempunyai beberapa aktivitas biologis antara lain antimikroba, antibakteri [6], antioksidan [5], anti nyamuk [7], dan mempunyai potensi efek sitotoksik terhadap sel leukimia [8].

Aplikasi minyak jeruk purut dalam berbagai bidang telah banyak dilakukan. Pada industri pangan minyak jeruk purut digunakan sebagai pemberi cita rasa (*flavor*) pada makanan. Minyak jeruk purut juga digunakan sebagai bahan dasar pembuatan parfum, kosmetik, aromaterapi dan minyak gosok untuk pengobatan alami [18]. Dalam bidang kesehatan, minyak jeruk purut dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, dan *insect repellent* [19,20].

Pada tanaman jeruk purut, minyak atsiri dapat ditemukan pada bagian daun, ranting daun, ranting dan kulit buah jeruk purut. Minyak jeruk purut yang diperoleh dari sumber berbeda mempunyai komposisi kimia yang bervariasi [5]. Senyawa penyusun minyak jeruk purut antara lain sabinen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -mircen,  $\alpha$ -cimen, (-)-limonen, trans- $\beta$ -ocimen,  $\gamma$ -terpinen, linalol oksida, l-linalol,  $\beta$ -sitronelal, (-)-isopulegol, 4-terpeneol, 1-dodekin-4-ol, rodinol (keprol), cis-linalol oksida, sitronelil asetat, geronil asetat, trans- $\beta$ -karyopilen, dan nerodinol [4,5].

Penelitian yang dilakukan oleh Warsito dkk [5], menunjukkan komposisi kimia pada minyak jeruk kulit buah (MJP-KB) tersusun atas senyawa monoterpen hidrokarbon dan monoterpen teroksigenasi dengan rasio 52,91%:47,1%. Komponen utama penyusun minyak jeruk purut kulit buah terdiri atas  $\beta$ -pinen 21,44%, sitronelal 20,91%, limonen 12,59%, 4-terpeniol 11,93% dan sabinen 9,21%. Sedangkan minyak jeruk purut ranting (MJP-R) didominasi oleh senyawa monoterpen teroksigenasi dengan komponen utama berupa sitronelal 46,40%, linalool 13,11%, sitronelol 11,03% dan sabinen 5,91%. Fraksi minyak jeruk purut ranting (MJP-FR) mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan minyak jeruk purut tanpa fraksinasi [5]. Metode yang digunakan untuk mendapatkan fraksi minyak jeruk purut ranting yaitu destilasi fraksinasi dengan tekanan

5 mbar. Destilat fraksi ini diambil pada suhu 87-87,5°C. Komponen utama penyusun fraksi minyak jeruk purut ranting yaitu sitronelal 50,65%, linalool 12,94% dan sabinen 9% [4]. Struktur komponen kimia dalam minyak jeruk purut ditunjukkan oleh Gambar 2.1 berikut [1].



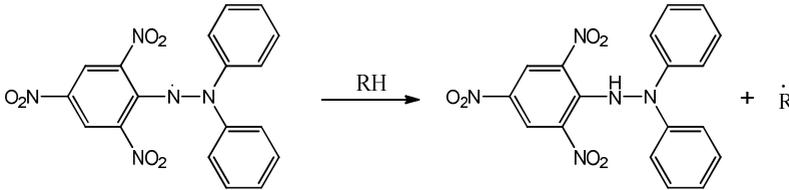
**Gambar 2.1** Struktur kimia komponen minyak jeruk purut [1].

### 2.3 Aktivitas Antioksidan Minyak Jeruk Purut

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, menghambat terjadinya kerusakan sel dan berperan penting dalam pencegahan timbulnya penyakit degeneratif. Produksi radikal bebas dalam tubuh dipicu oleh faktor lingkungan seperti polusi udara, asap dan cahaya matahari. Antioksidan dalam darah, sel, dan cairan jaringan berperan penting dalam menurunkan tingkat stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya [21].

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul reaktif yang memiliki elektron tak berpasangan. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan suatu radikal bebas dengan warna ungu gelap yang mempunyai serapan pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Radikal DPPH dapat distabilkan oleh antioksidan dengan menyumbangkan satu elektronnya kepada atom nitrogen yang mempunyai satu elektron tak berpasangan pada DPPH. Stabilisasi

DPPH oleh antioksidan ditunjukkan oleh perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat. Reaksi antara radikal DPPH dan antioksidan (RH) ditunjukkan oleh Gambar 2.2 berikut [22].



**Gambar 2.2** Reaksi antara DPPH dan antioksidan [22].

Pada produk makanan olahan sering ditambahkan antioksidan sintetik untuk mencegah terjadinya oksidasi. Antioksidan sintetik yang umum digunakan yaitu BHT (butil hidroksi toluena), BHA (butylated hidroxyanisole), TBHQ (tertiary butylhydroquinone), dan PG (propylgallate). Namun, beberapa studi menunjukkan senyawa tersebut memiliki potensi bersifat karsinogenik terhadap hewan. Sehingga dibutuhkan antioksidan alami sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetik pada makanan. Tingginya aktivitas antioksidan dapat dilihat melalui parameter nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi suatu senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya [23].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Warsito, dkk [5] minyak jeruk purut mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada antioksidan sintetik BHT (butil hidroksi toluena). Nilai  $IC_{50}$  minyak jeruk purut dari kulit buah (MJP-KB), daun (MJP-D), ranting daun (MJP-RD), dan fraksi minyak jeruk purut ranting (MJP-FR) berturut sebesar 6,43; 6,8; 9,48; dan 2,40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Aktivitas antioksidan MJP-KB lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan MJP-D maupun MJP-RD. Sedangkan MJP-FR mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih unggul daripada minyak jeruk purut tanpa fraksinasi. Aktivitas antioksidan minyak jeruk purut dapat dikaitkan dengan adanya senyawa monoterpen seperti sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -micrene, limonen, linalool, sitronelol dan sitronelal. Ikatan pi ( $\pi$ ) pada senyawa monoterpen telah diketahui berperan penting dalam penurunan aktivitas radikal bebas DPPH.

## 2.4 Mikroenkapsulasi Minyak Atsiri

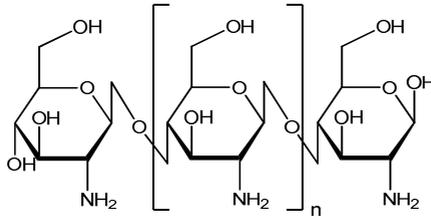
Mikroenkapsulasi adalah proses penyalutan suatu materi oleh bahan penyalut membentuk kapsul kecil yang disebut mikrokapsul. Mikrokapsul berbentuk bola dengan dinding seragam yang mengelilinginya. Materi dalam mikrokapsul disebut inti, isi atau fase internal, sedangkan dinding penyalut disebut pelapis, kulit atau membran. Bahan inti dapat berupa padatan atau cairan, sedangkan bahan penyalut dibuat dari suatu polimer. Mikroenkapsulasi dengan teknik polimerisasi antarmuka dapat menghasilkan mikrokapsul dengan diameter 0,5-1000  $\mu\text{m}$  [10].

Tujuan mikroenkapsulasi adalah untuk memberikan halangan fisik bagi senyawa inti terhadap lingkungan luar. Manfaat penerapan metode mikroenkapsulasi antara lain dapat mengurangi reaktivitas bahan inti dengan faktor lingkungan, mengurangi laju transfer bahan inti ke lingkungan luar, mengontrol laju pelepasan bahan inti pada suatu obat atau pestisida dan menahan penguapan bahan inti yang bersifat volatil [24]. Mikrokapsul dirancang berdasarkan sifat bahan inti, tujuan penggunaan dan lingkungan penyimpanan [10].

Minyak atsiri tersusun atas berbagai komponen bioaktif yang bermanfaat. Namun sifatnya yang mudah menguap atau volatil dapat memperpendek masa penyimpanannya. Volatilitas minyak atsiri dapat menurunkan kualitas dan efektivitasnya sebagai bahan aktif. Untuk mempertahankan eksistensi minyak atsiri dapat diterapkan metode mikroenkapsulasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Soliman dkk [12], mikroenkapsulasi secara efektif dan efisien dapat mengurangi laju evaporasi minyak atsiri cengkeh (*Eugenia caryophyllata*), thyme (*Thymus vulgaris*) dan kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) serta dapat mempertahankan aktivitasnya sebagai anti jamur yang diujikan pada jamur patogen *Aspergillus niger* dan *Fusarium verticillioides*.

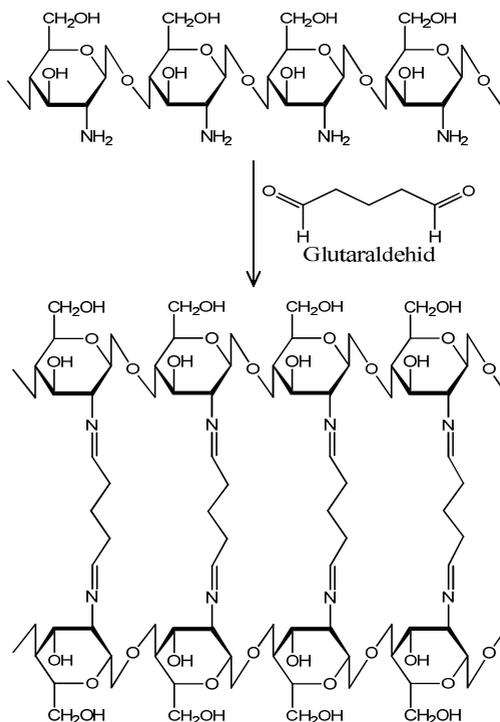
Salah satu metode mikroenkapsulasi yang umum diterapkan pada minyak atsiri adalah metode ikat silang (*cross-linking*). Metode ikat silang berguna untuk membuat dan memodifikasi polimer dengan stabilitas kimia, mekanik dan termal yang lebih baik. Metode ikat silang merupakan proses terbentuknya ikatan kovalen antar polimer yang dihubungkan oleh reagen ikat silang (*cross-linker*). Glutaraldehid adalah salah satu *cross-linker* yang dapat memperkuat dan meningkatkan stabilitas termal polimer [25].

Polimer yang umum digunakan sebagai bahan penyalut adalah kitosan. Kitosan merupakan polisakarida alami yang diperoleh dari proses deasetilasi kitin. Kitin adalah senyawa penyusun kutikula pada tubuh udang dan kepiting. Stuktur polisakarida kitosan tersusun atas unit berulang  $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose (D-glukosamin) dan gugus amino bebas pada rantai polimernya. Kitosan bersifat sebagai basa lemah yang tidak larut dalam air. Pada pH > 6,5 kelarutan kitosan rendah. Beberapa keunggulan dari kitosan antara lain bersifat *biodegradable*, biokompatibel, tidak beracun dan mempunyai potensi yang baik sebagai karier obat serta dapat mengontrol pelepasan obat dalam tubuh [11]. Struktur kitosan ditunjukkan pada Gambar 2.3 berikut [26].



**Gambar 2.3** Struktur molekul kitosan [26].

Metode ikat silang secara kimia menghasilkan suatu *network* atau matriks. Kitosan mempunyai gugus amino yang reaktif. Glutaraldehyd sebagai *cross-linker* membentuk jembatan yang menghubungkan antar polimer kitosan. Gugus aldehyd pada glutaraldehyd membentuk ikatan kovalen dengan gugus amino pada kitosan. Ikatan kovalen yang terbentuk mempengaruhi kekuatan mekanik, *swelling* dan laju pelepasan material inti dalam mikrokapsul [26]. Menurut Ramachandran, dkk [27], terbentuknya ikatan silang antara rantai polimer kitosan oleh glutaraldehyd pada mikrokapsul ditandai dengan adanya serapan inframerah yang muncul pada bilangan gelombang 1610  $\text{cm}^{-1}$ , menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus imina (C=N). Proses ikat silang (*cross-linking*) antar polimer kitosan oleh glutaraldehyd ditunjukkan pada Gambar 2.4 [26].



**Gambar 2.4** Reaksi *cross-linking* kitosan-glutaraldehyd [26].

Berdasarkan penelitian Pecarski, dkk [11] mikroenkapsulasi minyak *thyme* dengan bahan penyalut kitosan dan glutaraldehyd pada pengadukan 10.000 rpm dapat menghasilkan mikrokapsul dengan ukuran diameter 4,71-13,65  $\mu\text{m}$ . Sedangkan menurut Ramachandran, dkk [27], pada kecepatan pengadukan yang lebih rendah yaitu 1.500-3.000 rpm menghasilkan mikrokapsul dengan ukuran 150-300  $\mu\text{m}$ . Pengamatan mikrokapsul dengan mikroskop elektron yaitu berupa bulatan-bulatan (*sphere*) kecil [11].

## 2.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, hipotesis yang diajukan adalah mikrokapsul minyak jeruk purut dan fraksinya mempunyai aktivitas antioksidan.