Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology
Journal Homepage : http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/
Research Article

IDENTIFICATION OF ESSENTIAL OILS FROM THE BARK OF BALIK ANGIN (*Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. ex Kurz*)

Dyera Forestryana[1], Hafiz Ramadhan[1]*, Putri I. Sayakti[1], Tika Nurjanah[1], Nella Faradillah[1], Nafila[2]

[1]Department of Pharmacy, University of Borneo Lestari, South Borneo, Indonesia
[2]Department of health science and science technology, University of Borneo Lestari, South Borneo, Indonesia

Submitted 22 October 2022; Revised 2 November 2022; Accepted 22 December 2022; Published 31 December 2022

*Corresponding author: hafizramadhan14@gmail.com

Abstract

One of the components that make up essential oils is phenolic compounds which are widely contained in the leaves and bark of the Balik Angin plant (*Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. ex Kurz*). This study aimed to identify phenolic compounds and antioxidant activity of essential oils from the bark of the Balik Angin plant. The essential oils isolation using hydrodistillation and the compounds were analyzed using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). Qualitatively antioxidant activity test used thin layer chromatography (TLC) and quantitatively by measuring the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals residue that did not react against compounds reducer. The results showed the essential oils contain major compounds which are methyl salicylate followed by methyl palmitate, 2,2-Dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione, and methyl 12-acetoxyoleate. Qualitative test results of antioxidant activity with TLC there were four yellow spots on a purple background. The scavenging activity showed the essential oils had an IC_{50} of 229.056 ppm, while the gallic acid as a comparative standard obtained an IC_{50} of 0.618 ppm. The conclusion is the essential oils of Balik Angin bark that produces very weak antioxidant activity.

Keywords: *Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. ex Kurz*; Antioxidant; Balik Angin bark; Essential oils.

IDENTIFIKASI MINYAK ATSIRI DARI KULIT KAYU BALIK ANGIN (*Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz*)

Abstrak

Salah satu komponen penyusun minyak atsiri adalah senyawa fenolik yang banyak terkandung dalam daun dan kulit batang tanaman Balik Angin (*Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. ex Kurz*). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan minyak atsiri dari kulit batang tanaman Balik Angin. Isolasi minyak atsiri menggunakan hidrodistilasi dan senyawanya dianalisis secara kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS). Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan secara kuantitatif dengan mengukur absorbansi residu radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yang tidak bereaksi terhadap senyawa pereduksi. Hasil penelitian menunjukkan minyak atsiri mengandung senyawa utama yaitu metil salisilat diikuti oleh metil palmitat, 2,2-dimetil-1,3-dioksan-4,6-dion, dan metil 12-asetoksioleat. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan dengan KLT terdapat empat bercak kuning berlatar belakang ungu. Aktivitas penangkalan radikal menunjukkan minyak atsiri memiliki IC_{50} sebesar 229.056 ppm, sedangkan asam galat sebagai standar pembanding diperoleh IC_{50} sebesar 0.618 ppm. Kesimpulannya adalah minyak atsiri kulit batang Balik Angin menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Kata Kunci: *Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. Kurz*; Antioksidan; Kulit kayu Balik Angin; Minyak atsiri.

1. Pendahuluan

Perkembangan penggunaan obat tradisional khususnya yang berasal dari tumbuh-tumbuhan untuk membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat sudah cukup meluas, sehingga penelitian ke arah obat-obatan tradisional semakin meningkat, hal ini disebabkan karena keterjadian efek samping oleh obat tradisional tergolong rendah. Minyak atsiri atau minyak eteris (*essential oil*) adalah salah satu obat tradisional yang banyak memiliki khasiat dan kebutuhannya semakin tahun semakin meningkat seiring dengan meningkatnya perkembangan industri modern seperti industri parfum, kosmetik, makanan, farmasi, aromaterapi dan obat-obatan[1]. Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan terpena yang disintesis melalui jalur asam mevalonat[2]. Selain itu, komponen lain di balik kelompok triterpenoid yang menyusun minyak atsiri adalah senyawa fenolik[3]. Senyawa fenol memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena, yang berpotensi besar sebagai antioksidan[4,5].

Minyak atsiri dapat dihasilkan dari berbagai bagian tanaman, seperti akar, batang, ranting, daun, bunga, atau buah dan merupakan campuran dari senyawa–senyawa volatil yang dapat diperoleh dengan distilasi, pengepresan atau pun ekstraksi. Penghasil minyak atsiri berasal dari berbagai spesies tanaman yang sangat luas. Minyak atsiri tanaman diperoleh dari tanaman beraroma yang tersebar diseluruh dunia[6]. Salah satu ciri utama minyak atsiri yaitu mudah menguap dan beraroma khas[7]. Tanaman yang diduga mengandung minyak atsiri karena pada bagian kulit batang berbau harum yaitu *Alphitonia incana (Roxb.) Teijsm. & Binn. ex Kurz*. Tanaman ini dikenal sebagai kayu Balik Angin dan dapat tumbuh bebas di hutan Kalimantan dan dapat berpotensi sebagai antioksidan alami[8].

Kalimantan Selatan memiliki Hutan Pendidikan yang dimiliki oleh univeritas Lambung Mangkurat, yang dikenal dengan nama Hutan Pendidikan Lambung Mangkurat (LMEF). LMEF tergolong hutan hujan tropis dengan keanekaragaman flora dan faunanya. Lima puluh enam spesies yang termasuk dalam 37 famili tanaman obat ditemukan di LMFE. Jumlah ini lebih tinggi dari jenis tumbuhan yang dilaporkan dari beberapa Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) di Indonesia. Namun, jumlah tersebut relatif kecil karena spesies tanaman obat yang diperoleh hanya 0,12% dari total luas LMFE dan spesies yang dikategorikan sebagai tanaman obat di LMFE tetapi tidak ditemukan di area pengambilan data. Salah satu tumbuhan yang tidak terdapat dikoleksi data adalah tanaman Balik Angin[9].

Balik angin merupakan spesies tumbuhan yang belum banyak diketahui memiliki khasiat sebagai tumbuhan obat[9]. Balik angin dikenal dengan sebutan "*soap tree*"[10], memiliki potensi antara lain untuk pencegahan dan pengobatan infeksi saluran kemih, penyakit autoimun, dan perdarahan saluran cerna. Balik Angin adalah spesies dari genus *Alphitonia* yang banyak ditemukan di daerah tropis Asia Tenggara, Australia, dan Pasifik, dengan beberapa spesies tersebar luas dan yang lainnya endemik di suatu wilayah[11]. Hampir setengah dari spesies genus *Alphitonia* telah dilaporkan untuk penggunaan obat tradisional (tradisional dan kontemporer), termasuk untuk pengobatan kulit, sakit kepala, sakit perut, peradangan, dan nyeri tubuh seperti nyeri sendi dan nyeri saat melahirkan[12]. Kandungan senyawa dalam genus *Alphitonia* teridentifikasi antara lain *alphitolic acid, betulinic acid, ceanothic acid, alphitexolide, trans-coumaroyl alphitolic acid, cis-coumaroyl alphitolic acid, betulin* dan *emmolic acid acetate*[13,14] yang mana pada bagian batang Balik Angin berhasil diisolasi *triterpenoid lupeol, betulinic acid, ceanothic acid*[8]. Senyawa *ceanothic acid, alphitolic acid, dan batulinic acid* terbukti memiliki aktivitas sitotoksik secara *in vitro*, aktivitas antiinflamasi dan antimikroba[13].

Tanaman Balik Angin ini memiliki kandungan fenolik pada bagian daun dan kulit batang serta memberikan bau khas aromatik dari kulit batangnya, sehingga kemungkinan mengandung minyak atsiri yang dapat dikembangkan dalam alternatif pengobatan[15]. Kandungan tersebut menguatkan penelitian

Sutomo dkk.[16] yang membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% kulit batang Balik Angin memiliki aktivitas antioksidan secara kualitatif menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), akan tetapi kandungan spesifik dan bioaktivitas minyak atsiri dari kulit batangnya ini belum pernah dilaporkan sebelumnya. Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan minyak atsiri dari kulit batang tanaman Balik Angin. Pada penelitian ini akan dilakukan analisis senyawa metabolit sekunder minyak atsiri tanaman Balik Angin dari desa Mandi Angin Kalimantan Selatan menggunakan GC-MS untuk mengidentifikasi senyawa fenolik dan melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap minyak atsiri dari kulit batang tanaman Balik Angin menggunakan metode DPPH.

2. Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari seperangkat alat gelas antara lain seperangkat alat gelas labu *erlenmeyer*, labu ukur, *chamber*, pipa kapiler, serangkaian alat destilasi, neraca analitik, pipet volume, mikropipet, *termometer*, lampu UV 254 nm dan 366 nm, *spektrofotometer* UV-Vis (PG instrument T60 ®), Gas *Chromatography-Mass Spectrometer* (GC-MS) (Shimadzu ®).

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain simplisia segar kulit batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz* (hasil determinasi di Pusat Riset Biologi BRIN No. B-208/V/DI.05.07/1/2022), asam asetat (Merck®), methanol p.a. (Merck®), aquades, etil asetat (Merck®), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma Aldrich®) dan plat KLT silica gel 60 GF254 (Merck®).

2.3. Prosedur

2.3.1. Pembuatan Simplisia

Tanaman Balik Angin di peroleh dari Mandi Angin Timur yang terletak di Kecamatan Karang Intan, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan dimana sampel yang digunakan adalah bagian kulit batangnya. Kulit batang yang telah dikumpulkan, dicuci, ditiriskan, dipotong-potong dan dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam serta waktu pengeringan sampai jam 11.00 pagi. Bahan yang telah kering, digiling, hingga diperoleh simplisia[16].

2.3.2. Proses Destilasi

Tahap ini dilakukan dengan cara memasukan simplisia segar kulit batang Balik Angin sebanyak 200 g dan pelarut aquadest 1000 ml kedalam labu alas bulat pada rangkaian alat destilasi, kemudian dilakukan proses destilasi kurang lebih 4 jam. Kemudian destilat minyak atsiri dipisahkan dari hidrolit dengan partisis cair-cair menggunakan corong pisah dengan natrium sulfat. Pemanasan distilasi dipertahankan pada suhu 60°-90°C agar panas tetap stabil[17].

2.3.3. Pemeriksaan Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk, bau dan rasa dari isolat minyak atsiri kulit batang dan simplisia kulit batang Balik Angin.

2.3.4. Identifikasi Gugus dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

Pengujian dengan GC-MS dilakukan di Balai Standarisasi dan Pelayanan Jasa Industri Banjarbaru[18].

2.3.5. Identifikasi Aktivitas Antioksidan menggunakan KLT

Fase gerak berupa etil asetat, metanol dan asam asetat dengan perbandingan 6:3:1 dijenuhkan dalam *chamber*. Minyak atsiri ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Bercak diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta sebagai penampak bercak disemprotkan pereaksi DPPH 0,4 mM. Noda bercak pada kromatogram diukur dan dihitung nilai Rf[19].

2.3.6. Uji Aktivititas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan secara kuantitatif

Tabel 1. Dugaan Senyawa yang teridentifikasi dalam kulit Batang Balik Angin

Kode	Waktu Retensi (menit)	(m/z)	Mass Peak	Base Peak	Konsentrasi
a	11,561	**120,05**	208	152	52,427
b	1,175	42,95	152	58	6,606
c	21,784	74,051	280	270	8,133
d	23,068	55,00	292	296	1,641

menggunakan uji DPPH dilakukan pada konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm dalam metanol. Standar asam galat juga dibuat konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 10 ppm. Satu mL larutan DPPH (0,4 mM) ditambahkan ke masing-masing 4 mL larutan sampel maupun standar pembanding dan ditempatkan di ruangan gelap selama 30 menit setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Persentase penghambatan DPPH dihitung hasilnya untuk mendapatkan nilai IC_{50} (ppm)[20].

3. Hasil

3.1. Identifikasi Gugus dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

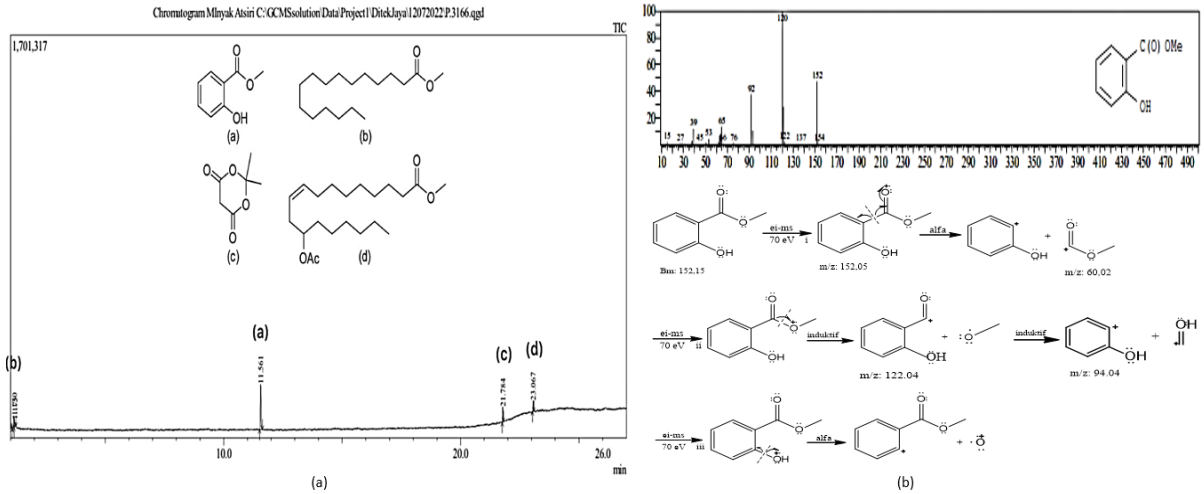
Minyak atsiri adalah minyak yang bersifat volatil sehingga dalam identifikasinya digunakan GC-MS. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat minyak atsiri mengandung senyawa-senyawa antara lain metil palmitat yang muncul pada waktu retensi 1,175 menit diikuti oleh metil salisilat (11,561 menit), 2,2-dimetil-1,3-dioksan-4,6-dion (21,784 menit), dan metil 12-asetoksioleat (23,068 menit) seperti yang ditampilkan pada Gambar 1.

Hasil pengujian dengan GC-MS juga dapat menyediakan data m/z yang menunjukkan bobot molekul dari hasil analisis pada senyawa uji. Berdasarkan nilai tersebut dapat diprediksi kebenaran kandungan senyawa yang diidentifikasi. Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa metil salisilat yang memiliki nilai m/z *basepeak* yaitu 152 (kode a) sesuai dengan bobot molekul yang dimilikinya serta senyawa tersebut merupakan senyawa komponen utama tertinggi penyusun minyak atsiri pada kulit batang Balik Angin dengan konsentrasi 52,472%.

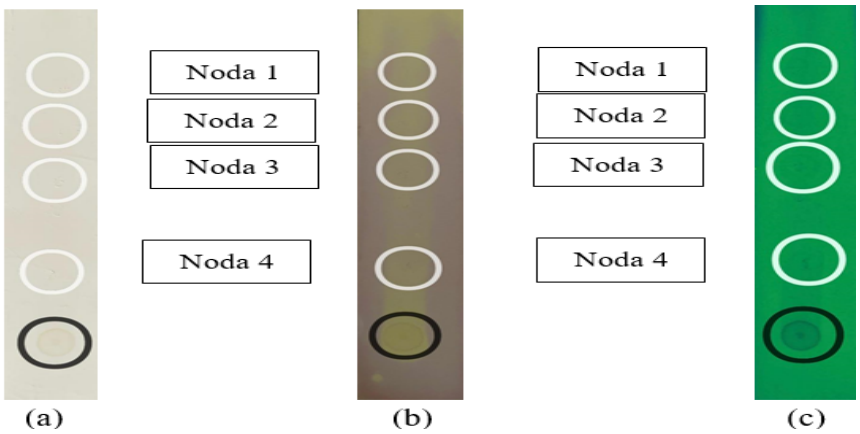
Hasil prediksi senyawa utama pada isolat minyak atsiri dari kulit batang Balik angin yaitu metil salisilat dapat dibuktikan dengan anilisis fragmentasi pada spektrum massa yang terbentuk pada Gambar 1. Nilai m/z yang ditunjukkan pada analisis fragmentasi dari gambar tersebut juga memberikan kesesuaian dengan ion molekul dan ion fragmen dari metil salisilat.

3.2. Identifikasi Aktivitas Antioksidan menggunakan KLT

Aktivitas antioksidan dari minyak atsiri kulit batang Balik Angin secara kualitatif diujikan dengan kromatografi lapis tipis



Gambar 1. (a) Profil Kromatogram Minyak Atisiri Kulit Batang Balik Angin, (b) Spektrum Massa dan Analisis Fragmentasi Senyawa Metil Salisilat[21].



Gambar 2. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan dari kulit batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz* menggunakan KLT : (a) Sebelum Penenyemprotan dengan DPPH 0,4 mM (b) Sesudah Penyemprotan dengan DPPH 0,4 mM dan (c) pencahayaan dibawah sinar UV-254

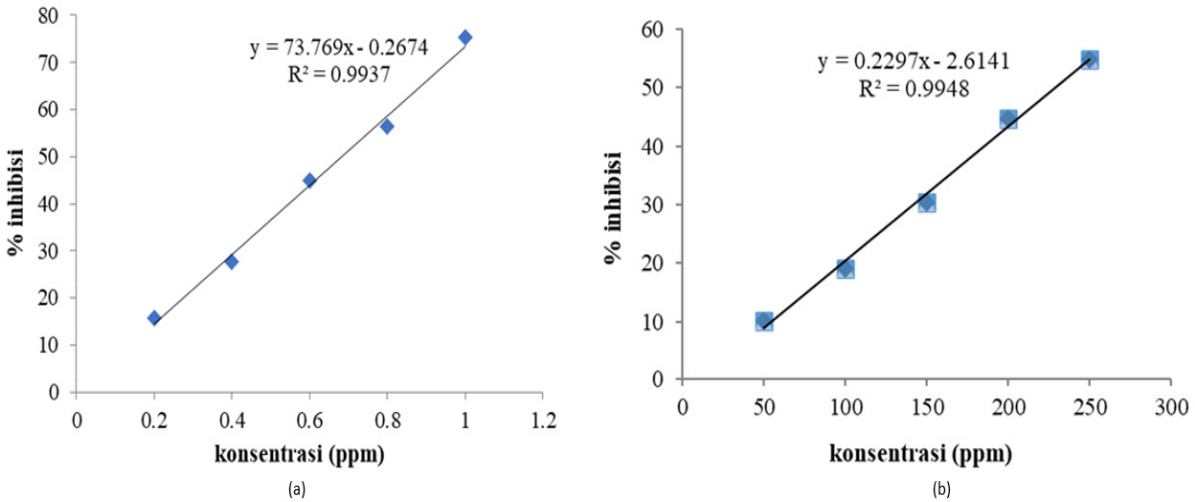
(KLT) yang disemprot dengan larutan DPPH 0,4 mM. Hasil pengamatan terdapat 4 bercak noda yang dapat menghasilkan warna kuning setelah penyemprotan DPPH yang berwarna ungu. Hasil tersebut menunjukkan bahwa spot yang terbentuk memiliki aktivitas antioksidan karena mampu mereduksi DPPH menjadi bentuk yang lebih netral, sehingga terjadi perubahan warna seperti pada Gambar 2.

3.3. Uji Aktivititas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan dari isolat minyak atsiri secara kuantitatif juga dilakukan menggunakan metode DPPH. Tujuan dari pengujian ini untuk mengetahui seberapa besar potensi yang dihasilkan minyak atsiri sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50}. Nilai tersebut didapatkan dari kurva baku hubungan antara seri konsentrasi uji dan % inhibisi (Gambar 3). Sebagai pembanding digunakan asam galat yang merupakan senyawa bahan alam golongan fenolik yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat seperti ditampilkan pada Tabel 2.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dari isolat minyak atsiri juga didapat dari kurva baku hubungan antara seri konsentrasi sampel dengan % inhibisi seperti pada Gambar 3. Persamaan kurva baku yang didapat y = 0,2297x - 2,6141 digunakan untuk mendapatkan nilai IC_{50} dari isolat minyak atsiri. Hasil perhitungan menunjukkan isolat minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin tergolong sangat lemah sebagai antioksidan seperti pada Tabel 3.

4. Pembahasan



Gambar 3. (a) Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Asam galat dan (b) Kurva Hubungan Konsentrasi dan % inhibisi Isolat Minyak Atsiri dari Kulit Batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz*

Tabel 2. Nilai Uji Aktivitas Antioksidan pembanding Asam galat

Konsentrasi (ppm)	Rerata % Inhibisi ± SD	IC*50* (ppm)	Kategori Aktivitas Antioksidan
0,2	15,819 ± 0,692		
0,4	27,632 ±0,251		
0,6	44,919 ± 0,305	0,681	Sangat Kuat
0,8	56,387 ± 1,180		
1,0	75,211 ± 0,466		

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang dari pohon *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz* yang pada awalnya dikumpulkan dan dilakukan proses sortasi basah dengan memisahkan bagian tanaman yang tidak dibutuhkan atau bahan yang rusak. Kulit batang Balik Angin yang telah ditimbang kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel[22]. Setelah dicuci kulit batang Balik Angin dipotong kecil-kecil agar dapat masuk kedalam labu alas bulat pada alat destilasi. Simplisia segar tersebut diekstraksi dengan menggunakan metode destilasi pada suhu pemanasan 90°C dengan pelarut aquadest mengacu pada penelitian Torres-Martinez dkk[17]. yaitu menggunakan metode hidrodestilasi. Hidrodestilasi memungkinkan terjadinya hidrodifusi uap air kedalam jaringan sel tanaman sehingga pecah dan menyebabkan minyak akan terdorong keluar. Hidrodestilasi adalah proses penyulingan suatu bahan yang berwujud cairan yang tidak saling bercampur dengan tujuan memisahkan kandungan pada suatu bahan tersebut sehingga membentuk dua fasa atau dua lapisan. Kelenjar minyak pada kulit batang Balik Angin akan terbawa dengan mudah oleh uap air setelah dinding sel pada kulit batang pecah atau lisis[23,24]. Setelah itu destilat yang didapatkan ditimbang untuk menghitung nilai % rendemen isolat minyak atsiri terhadap kulit batang Balik Angin yang diperoleh sebesar 25% b/b.

Hasil pengujian pada GC-MS seperti pada tabel 1 menunjukkan bahwa komponen terpenting yang terkandung dalam isolat minyak atsiri adalah senyawa pada puncak (a) yang diduga adalah metil salisilat. Hasil tersebut ditegaskan dengan perbandingan kromatogram seperti pada gambar 1. Hasil dari analisis terhadap spektra pada puncak (a) dengan waktu retensi 11,561 pada gambar 1 diduga senyawa metil salisilat dengan rumus $C_8H_8O_3$. Hasil tersebut sudah sesuai dengan penelitian Sulistyo dkk[25]. yang juga menyebutkan bahwa waktu retensi dari seyawa metil salisilat yaitu pada 11,505 menit. Spektrum masa senyawa (a) memiliki puncak yang paling dulu terdeteksi merupakan ion molekul dengan m/z 152 yang memiliki kesamaan dengan bobot molekul (BM) metil salisilat menurut hasil analisis fragmentasi. Salisilat, termasuk asam salisilat (SA), metil salisilat, saligenin dan masing-masing glukosidanya, merupakan produk alami dari metabolisme tanaman yang telah lama diketahui memiliki sifat terapeutik. Metil salisilat merupakan senyawa turunan dari ester asam salisilat. Metil salisilat memiliki efek sebagai analgesik dan antiinflamasi, namun penggunaan melalui oral akan menyebabkan iritasi pada lambung karena metil salisilat bersifat toksik[26].

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan

Tabel 3. Nilai uji Aktivitas Antioksidan Isolat Minyak Atsiri dari Kulit Batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz*

Konsentrasi (ppm)	Rerata % Inhibisi ± SD	IC_{50} (ppm)	Kategori Aktivitas Antioksidan
50	10,2028 ± 1,035		
100	19,07631 ± 0,069		
150	30,47386 ± 0,070	229,0557	Sangat Lemah
200	44,61604 ± 1,195		
250	54,86915 ± 0,196		

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada isolat minyak atsiri dari kulit batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn Ex Kurz*. Hasil pengujian secara kualitatif dengan fase gerak etil asetat: metanol: asam asetat (6:3:1) pada silica gel 60 GF_{254} terlihat 4 bercak noda dengan nilai Rf yang optimum yaitu pada noda 1: 0,75 cm, noda 2 : 0,58 cm, noda 3 : 0,45 cm, dan noda 4 : 0,16 cm (Gambar 2). Rf yang optimum yaitu berada pada rentang 0,2-0,8[27,28]. Identifikasi senyawa yang berbeda ditunjukkan dengan nilai Rf yang berbeda. Senyawa yang memiliki nilai Rf tinggi dalam sistem pelarut kurang polar memiliki polaritas rendah sedangkan dengan nilai Rf rendah memiliki polaritas tinggi. Hal ini adalah faktor penyebab eluen optimum yang merupakan sistem pelarut atau fase gerak pada penelitian ini cendrung bersifat kurang polar, dikarenakan kandungan dari minyak atsiri kulit batang Balik Angin yang teridentifikasi merupakan senyawa golongan ester yang bersifat nonpolar[29].

Berdasarkan Gambar 2 isolat minyak atsiri dari kulit batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz* yang diuji secara kualitatif memiliki aktivitas antioksidan yaitu ditunjukkan dengan adanya bercak yang memberikan perubahan warna menjadi kuning dengan latar belakang ungu setelah disemprot dengan larutan DPPH konsentrasi 0,4 mM[30]. Perubahan warna yang terjadi dikarenakan senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu ke merah muda sampai kuning[31]. Senyawa antioksidan merupakan *inhibitor* penghambat oksidasi. Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif menunjukkan bahwa minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin berpotensi sebagai agen antioksidan. Kereaktifan tersebut kemungkinan disebabkan terjadinya mekanisme reaksi penghambatan radikal bebas secara sinergis dari beberapa senyawa golongan asam karboksilat. Minyak atsiri yang terdiri dari asam-asam lemak seperti asam palmitat, etil palmitat dan etil stearat, serta turunan asam karboksilat seperti metil heksadekanoat; etil oktadeka-14,16-dienoat; metil nonadeka-15,17-dienoat, kemungkinan sebagai pendonor proton ke DPPH sehingga terbentuk DPPH nonradikal[32].

Pada uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif, nilai IC_{50} untuk asam galat yang digunakan sebagai kontrol positif mempunyai nilai IC_{50} sebesar 0,681 ppm (Tabel 2) dan untuk sampel isolat minyak atsiri dari kulit batang *A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz* mempunyai nilai IC_{50} sebesar 229,0557 ppm (Tabel 3). Hasil tersebut menjelaskan bahwa asam galat yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat dikarenakan nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi[5]. Kekuatan aktivitas antioksidan dikategorikan menjadi kategori sangat kuat (IC_{50} < 50 ppm), kuat (IC_{50} 50-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-150 ppm), lemah (IC_{50} 151-200 ppm), dan sangat lemah (IC_{50} > 200 ppm)[33]. Asam galat digunakan sebagai senyawa pembanding, karena merupakan salah satu asam fenolik yang banyak terdapat pada tanaman. Asam galat merupakan senyawa fenolik dan diketahui sebagai antioksidan yang sangat kuat, sehingga besarnya persentase penghambatan antioksidan pada asam galat disebabkan oleh banyaknya atom hidrogen yang diberikan 3 gugus fenolik kepada radikal DPPH[34].

Pada sampel isolat minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat lemah dikarenakan nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm. Aktivitas antioksidan minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin lebih rendah dari aktivitas antioksidan asam galat dikarenakan kemungkinan sedikitnya jumlah kandungan senyawa antioksidan dalam minyak atsiri

kulit batang Balik Angin yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian Pujiarti dkk.[35] menyebutkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah pada minyak Kenanga kemungkinan disebabkan adanya kandungan senyawa seskuiterpen hidrokarbon seperti caryophyllene dan seskuiterpen teroksigenasi seperti linalool yang berpotensi sebagai pro-oksidan. Penelitian Ambar dan Salimah[34] juga menyebutkan aktivitas antioksidan minyak atsiri Kembang Leson yang sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 825,78 ppm. Hal ini dikarenakan minyak atsiri tersusun dari senyawa yang heterogen dan juga dipengaruhi oleh senyawa-senyawa lain yang terkandung didalamnya. Tingkat heterogen tersebut memungkinkan adanya senyawa-senyawa yang tidak memiliki aktivitas antioksidan atau menghambat reaksi antioksidan.

Metil salisilat sebagai komponen utama penyusun minyak atsiri kulit batang Balik Angin dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan katagori sedang[36]. Suatu senyawa yang mereduksi radikal *in vitro* tidak serta merta berperilaku sebagai antioksidan dalam sistem *in vivo*. Hal ini dikarenakan radikal bebas mudah berdifusi dan menyebar. Beberapa radikal bebas memiliki rentang hidup yang sangat pendek pada urutan nanodetik, sehingga sulit bagi antioksidan untuk hadir pada waktu dan tempat dimana kerusakan oksidatif sedang dihasilkan. Selain itu, reaksi antara antioksidan dan radikal bebas adalah reaksi orde kedua. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan tidak hanya bergantung pada konsentrasi antioksidan dan radikal bebas tetapi juga tergantung pada faktor-faktor yang berkaitan dengan struktur kimia, media dan kondisi reaksi[37].

Minyak atsiri bersifat nonpolar dalam keadaan segar dan murni. Umumnya minyak atsiri adalah salah satu hasil sisa proses metabolisme dalam tanaman, yang terbentuk karena reaksi antara berbagai persenyawaaan kimia dengan adanya air[38]. Sifat minyak atsiri yang merupakan pelarut nonpolar ini menyebabkan senyawa-senyawa yang tertarik ke dalamnya juga bersifat nonpolar mengikuti prinsip *like dissolve like*[39]. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang digunakan maka nilai kelarutannya semakin rendah. Hal ini dikarenakan semakin tinggi tingkat penggunaan minyak atsiri yang bersifat hidrofobik maka akan menurunkan kandungan gugus hidroksil (OH). Gugus hidroksil (OH) yang lebih mudah larut dalam air akan digantikan dengan gugus hidrofobik dari minyak atsiri seperti hasil identifikasi pada isolat minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin. Hasil identifikasi dengan GC-MS menunjukkan minyak atsiri kulit batang Balik Angin mengandung metil palmitat, metil salisilat, 2,2-dimetil-1,3-dioksan-4,6-dion, dan metil 12-asetoksioleat yang mayoritas ester dari asam karboksilat yang sudah mengalami substitusi gugus hidroksil (OH) menjadi alkoksil (OR) dan cendrung bersifat hidrofobik, sehingga mengurangi kemampuannya sebagai asam dalam mendonorkan atom hidrogen sebagai antioksidan[34].

5. Kesimpulan

Berdasarkan Penelitian yang sudah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa isolat minyak Atsiri dari kulit batang Balik Angin (*A. incana (Roxb.) Teijsm & Binn. Ex Kurz*) secara GC-MS mengandung senyawa utama metil salisilat yang berupa fenolik golongan ester. Minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin juga memiliki aktivitas antioksidan atau penangkal radikal bebas DPPH yang diuji secara kualitatif dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) akan tetapi secara kuantitatif menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Daftar Pustaka

1. Ella, M.U.E., Sumiartha, K., Suniti, N.W., Sudiarta, I.P., Antara, N.S. Uji efektivitas konsentrasi minyak atsiri sereh dapur (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus Sp*. secara *in vitro*. Jurnal Agroekoteknologi Tropika. 2013;2(1):39-48.
2. Bergman, M.E., Davis, B., Phillips, M.A. *Medically Useful Plant Terpenoids: Biosynthesis, Occurrence, and Mechanism*

of Action. Molecules. 2019;24(21):3961.
3. Fokou, J.B.H., Dongmo, P.M.J., Boyom, F.F. *Essential Oil's Chemical Composition and Pharmacological Properties: Essential Oils - Oils of Nature,* El-Shemy, H.A. (Eds.). London: *IntechOpen*; 2020.
4. Lu, J., Dang, Y., Huang, M., Xu, W., Chen, X., dan Wang, Y. *Anti-cancer Properties of Terpenoids Isolated from Rhizoma Curcumae-A Review. J Ethnopharmacol*. 2012;143:406-411.
5. Sayuti, K., dan R. Yenrina. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang : Andalas *University Press*; 2015.
6. Nurhaen., Winarsii, D., Ridhay, A. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri dari Daun, Batang dan Bungan Tumbuhan Salembangu *(Melissa sp.). Natural Sciences: Jurnal of Science and Technology.* 2016;5(2):149-157.
7. Effendi, V.P. dan Widjanarko, S.B. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi dan Rasio Bahan Pelarut. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2014;2(2):1-8.
8. Ahmed, J., Salim, K.A., Lim, L.B.L., Jama, A.M. *Evaluation of Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of Leaves, Barks, Stems and Fruits of Alphitonia philippinensis (Rhamnaceae) From Brunei Darussalam. Pharmacogn Journal*. 2019;11(5):951-961.
9. Nugroho, Y., Soendjoto, M.A., Suyanto, S., Matatula, J., Alam, S., Wirabuana, P.Y.A.P. *Traditional medicinal plants and their utilization by local communities around Lambung Mangkurat Education Forests, South* Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas *Journal of Biological Diversity.* 2022;23(1):306-314.
10. Thompson, A., Munkara, G., Kantilla, M., Tipungwuti, J. *Medicinal plant use in two TiwiIsland communities: Aqualitative research study. J Ethnobiol Ethnomed.* 2019.;15:1-11.
11. Cock, I.A. *Alphitonia excelsa (Fenzl) Benth. leaf extracts inhibitthe growth of a panel of pathogenic bacteria. Pharmacogn Commn*. 2020;10(2):67-74.
12. Al Omar, R., Micklewright, R., Masud, K., Naz, T., Vemulpad, S., Jamie, J. *The genus Alphitonia Reissek ex Endl. (Rhamnaceae): A review of its customary uses, phytochemistry and biological activities. Journal of Ethnopharmacology.* 2022;294:115168.
13. Muhammad, D., Hubert, J., Lalun, N., Renault, J.H., Bobichon, H., Nour, M., Nazabadioko, L.V. *Isolation of Flavonoids and Triterpenoids from the Fruits of Alphitonia neocaledonica and Evaluation of their Anti-oxidant, Antityrosinase and Cytotoxic Activities. Phytochemical Analysis*. 2014;26(2):137-44
14. Hadi, S., Maulana, A., Nastiti, K. Skrining Senyawa Aktif dari Balik Angin A. Excels (Fenzl) Benth Terhadap *Reseptor TNF-alpha convertase* (TACE) dengan Metode *Docking*. Pharmacoscript. 2021;4(2):234-243.
15. Naz, T. *Chemical and Biological Studies of Medicinal Plants Used by the Yaegl Aboriginal Community of Australia. Theses. Departement of Chemistry and Biomolecular Sciences. Macquarie University, Sydney*, Australia; 2013.
16. Sutomo, Arnida, Rizki, M.I., Triyasmono, L., Nugroho, A., Mintowati, E., Salamiah. Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Asal Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. Jurnal *Pharmascience*. 2016;3(1):66-74.
17. Torres-Martínez, R., García-Rodríguez, Y.M., Ríos-Chávez, P., Saavedra-Molina, A., López-Meza, J.E., Ochoa-Zarzosa, A., Garciglia, R.S. *Antioxidant Activity of the Essential Oil and its Major Terpenes of Satureja macrostema (Moc. and Sessé ex Benth.) Briq. Pharmacogn. Mag.* 2018;13:S875-880.
18. Novitasari, M.R., Febrina, L., Agustina, R., Rahmadani, A., Rusli, R. Analisis GC-MS Senyawa Aktif Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Libo (*Ficus variegate Blume*). Jurnal Sains dan Kesehatan. 2016;1(5):221-225.
19. Walker, J.M. *Methods in Molecular Biology: Natural Product Isolation.*

Sarker, S.D. dan Nahar, L. (Eds.). Totowa, *New Jersey: Humana Press*; 2012.
20. Ramadhan, H., dan Forestryana, D. *The Effect of Different Extraction Methods On the Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Galam Sawdust (Melaleuca Leucadendron Linn.)*. Trop J Nat Prod Res. 2021;5(5):805-808.
21. Suratmo, Retnowati, R., Azzuhro, D. Sintesis N,N-dietil-2-hidroksibenzamida Menggunakan Metil Salisilat dari Minyak Gandapura. *NATURAL* B. 2013;2(1):94-102.
22. Khairiah, K., Taufiqurrahman, I., Putri. D.K.T. *Antioxidant Activity Test of Ethyl Acetate Fraction of Binjai (Mangifera caesia) Leaf Ethanol Extract. Dental Journal* (Majalah Kedokteran Gigi). 2018;51(4):164-168.
23. Adani, S.I. dan Pujiastuti, Y.A. Pengaruh Suhu dan Waktu Operasi Pada Proses Destilasi Untuk Pengolahan Aquades di Fakultas Teknik Universitas Mulawarman. Jurnal Chemurgy. 2017;1(1):31-35.
24. Putri, I.A., Fatimura, M., Husnah., Bakerie, M. Pembuatan minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dengan menggunakan metode destilasi uap langsung. Jurnal Univpgri Palembang. 2021;6(2):149-156.
25. Sulistyo, R., Suratmo, Retnowati, R. Sintesis Salisilanilida Dari Komponen Utama Minyak Gandapura. Kimia *Student Journal*. 2015;1(1):805-811.
26. Dasgupta, A. dan Wahed, A. *Common poisonings including heavy metal poisoning: Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control*. London: Elsevier; 2021.
27. Mutaqqin, F.Z., Anne, Y., Astri, F., Aiyi, A. Penetapan kadar senyawa metampiron dan diazepam dalam sediaan kombinasi obat menggunakan metode KLT video Densitometri. *Pharmacy*. 2016;13(2):127-136.
28. Samosir, A.S., Nurhayati, B., Hendri, I. Analisis kandungan Rhodamin B pada saos tomat yang beredar dipasar sentral kota Gorontalo dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Jurnal Entropi. 2018;13(1):45-49.
29. Solanki, S., Prasad, D., Singh, A.K. *Antioxidant determination and thin layer chromatography of extract Withania somnifera, Terminalia arjuna, Bacopa monnieri, Ranunculus sceleratus and Acalypha indica. European Journal of Molecular & Clinical Medicine.* 2020;7(11):4394-4408.
30. Amin, S. Uji aktivitas antioksidan dan telaah fitokimia *Sargassum crassifolium J.G. Agatdh.* Rumput laut alam asal pantai Batu Karas kecamatan Cijulang. Jurnal kesehatan Bakti Tunas Husada. 2015;14(1):1-7.
31. Handayani, V., Akhmad, A.R., Sudir, M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Dan Patikala (*Etlingera elatior (Jack) R. M. Sm*) Menggunakan Metode DPPH. Pharm Sci Res. 2014;1(2):86-93.
32. Gunawan, I.W.G. dan Karda, I.M. Identifikasi senyawa minyak atsiri dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang kepuh (*Sterculia foetida L.*). *Chemistry Progress*. 2015;8(1):12-16.
33. Ramadhan, H., Baidah, D., Lestari, N.P., Yuliana, K.A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah Dan Kulit Terap (*Artocarpus odorratissimus*) Menggunakan Metode CUPRAC. Farmasains. 2020;7(1):7-12.
34. Ambar, P. dan Salimah, I. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Minyak Atsiri Kembang Leson. Al-Kauniyah: Jurnal Biologi. 2020;13(2):139-146
35. Pujiarti, R., Widowati, T.B., Kasmudjo, Sunarta, S. Kualitas, Komposisi Kimia, dan Aktivitas Anti Oksidan Minyak Kenanga (*Cananga odorata*). Jurnal Ilmu Kehutanan. 2015;9(1):3-11.
36. Ibáñez, M.D., López-Gresa, M.P., Lisón, P., Rodrigo, I., Bellés, J.M., González-Mas, M.C., Blázquez, M.A. *Essential Oils as Natural Antimicrobial and Antioxidant Products in the Agrifood Indus. Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.* 2020;(12):55-69.
37. Santos-Sanchez, N.F., Salas-Coronado,

R., Villanueva-Cañongo, C., Hernández-Carlos, B. *Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism: Antioxidant*. London: *IntechOpen*; 2019.
38. Abdullah. W., Runtuwene, M.R.J., Kamu, V.S. Uji Fitokimia Dan Penentuan *Inhibition Concentration* 50% pada Beberapa Tumbuhan Obat Di Pulau Tidore. Jurnal Ilmiah Sains. 2014;14(2):95-99.
39. Ngibad, K. dan Lestari, L.P. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenolik Total Daun Zodia (*Evodia suaveolens*). ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia. 2020;16(1):94-109.