

Uji Aktivitas Antioksidan dan Sifat Toksik dari Limbah Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Hasil Penyulingan

Sandra Maria Naftali Mamahit¹, Dewa Gede Katja^{1*}, Edi Suryanto¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado,

*Email korespondensi: dewakatja@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Dengan perkembangan teknologi terjadi perubahan pola hidup masyarakat yang berdampak buruk bagi kesehatan seperti infeksi, keracunan makanan, kanker, penyakit gigi, obesitas, penyakit kardiovaskuler, gangguan metabolik dan gangguan psikologi. Kondisi ini umumnya terjadi akibat akumulasi radikal bebas dalam tubuh yang berdampak pada kerusakan struktur dan fungsi seluler. Reaktivitas radikal bebas dapat diminimalkan oleh antioksidan dengan melengkapi kurangnya elektron pada radikal bebas. Daun cengkeh merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun cengkeh memiliki kandungan total fenolik (74,22 µg/mL), kandungan total flavonoid (64,74 µg/mL), dan kandungan total tanin (63,67 µg/mL) tertinggi pada fraksi butanol dan untuk aktivitas antioksidan (97,10 µg/mL) dengan nilai tertinggi pada fraksi butanol. Dengan metode BSLT hasil uji toksisitas ekstrak etanol dan fraksi butanol daun cengkeh bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ secara berturut-turut yaitu 23,33 µg/mL dan 9,58 µg/mL. Hasil GC-MS menunjukkan bahwa dalam fraksi butanol daun cengkeh teridentifikasi beberapa senyawa turunan fenolik dan tripenoid pentasiklik yang memiliki aktivitas antioksidan serta bersifat antikanker. Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak dan fraksi limbah daun cengkeh hasil penyulingan memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat toksik dengan nilai tertinggi ditunjukkan oleh fraksi butanol pada konsentrasi 1500 ppm.

Kata kunci: Daun cengkeh, limbah penyulingan, antioksidan, toksik, GC-MS.

ABSTRACT

With the advancement of technology, there has been a change in lifestyle patterns that negatively impact health, leading to issues such as infections, food poisoning, cancer, dental diseases, obesity, cardiovascular diseases, metabolic disorders, and psychological disturbances. This condition is generally caused by the accumulation of free radicals in the body, which leads to damage in cellular structure and function. The reactivity of free radicals can be reduced by antioxidants through the donation of electrons to stabilize the radicals. Clove leaves are one of the plants with potential antioxidant properties. Research results indicate that clove leaves contain the highest total phenolic content (74.22 µg/mL), total flavonoid content (64.74 µg/mL), and total tannin content (63.67 µg/mL) in the butanol fraction, with antioxidant activity (97.10 µg/mL) also highest in the butanol fraction. Using the BSLT method, the toxicity test results of the ethanol extract and butanol fraction of clove leaves showed toxic properties, with LC₅₀ values of 23.33 µg/mL and 9.58 µg/mL, respectively. GC-MS results revealed that the butanol fraction of clove leaves contains several phenolic derivatives and pentacyclic triterpenoids that exhibit antioxidant activity and anticancer properties. Based on the test results, the extract and fraction of clove leaf waste from distillation demonstrate antioxidant activity and toxic properties, with the highest values shown by the butanol fraction at a concentration of 1500 ppm.

Keywords: Clove leaves, distillation waste, antioxidants, toxic, GC-MS.

PENDAHULUAN

Di era modern dengan perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan terjadi perubahan pola hidup masyarakat yang berdampak buruk bagi kesehatan (Maharani dkk., 2022). Indonesia termasuk negara dengan gaya hidup modern, yang ditandai oleh aktivitas kerja yang padat, sehingga mendorong masyarakat untuk lebih sering mengonsumsi makanan instan dan menerapkan pola makan yang kurang sehat. Berdasarkan survei dari Katadata (2023), mayoritas penduduk Indonesia mengonsumsi makanan cepat saji lebih dari satu kali dalam seminggu. Tingginya tingkat konsumsi makanan cepat saji ini

menjadikan Indonesia berada di peringkat ke-10 sebagai salah satu negara dengan jumlah konsumen makanan cepat saji terbesar di dunia (Pratiwi, 2017).

Hal ini akan menyebabkan terjadinya berbagai gangguan kesehatan seperti infeksi, keracunan makanan, kanker, penyakit gigi, obesitas, penyakit kardiovaskuler, gangguan metabolik dan gangguan psikologi (Saroja, 2017). Umumnya, gangguan-gangguan ini disebabkan karena akumulasi radikal bebas dalam tubuh yang merusak struktur dan fungsi seluler. Aktivitas radikal bebas ini dapat dihambat oleh adanya keberadaan antioksidan yang berperan dalam memperkuat sistem imun (Udiana, 2019), melalui mekanisme pemberian elektron kepada radikal bebas untuk menghambat terjadinya reaksi berantai (Julfetriyani dkk. 2016). Kelompok senyawa fenolik seperti flavonoid, fenol, dan tanin merupakan komponen utama dengan potensi antioksidan tinggi (Sen dkk. 2013). Flavonoid dan senyawa fenol diketahui memiliki gugus hidroksil yang mampu menyumbangkan atom hidrogen, sehingga efektif dalam menetralkan radikal bebas dan mengubahnya menjadi senyawa yang lebih stabil (Aklimah & Ekayanti, 2022). Tanin, yang merupakan senyawa polifenol, berfungsi sebagai antioksidan dengan cara mengkhelat ion logam seperti besi dan memperlambat proses oksidasi (Fithriani dkk. 2015). Antioksidan dapat diperoleh dari sumber alami maupun sintetik, di mana sumber alami umumnya berasal dari metabolit sekunder tumbuhan seperti teh, buah-buahan, dan sayuran (Handayani & Wati, 2018).

Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki kandungan antioksidan adalah tanaman cengkeh. Provinsi Sulawesi Utara dikenal sebagai salah satu daerah penghasil utama komoditas cengkeh, dengan sejumlah kabupaten yang turut berkontribusi dalam produksinya. Luas lahan perkebunan cengkeh di wilayah ini tercatat mencapai sekitar 74.932,01 hektar (Dilapanga, 2020). Daun cengkeh mengandung saponin, alkaloid, flavonoid dan juga tanin (Talahatu & Papilaya, 2015). Sejalan dengan itu, daun cengkeh juga terkandung suatu komponen fenolik dan minyak atsiri (Rorong, 2019). Umumnya minyak atsiri daun cengkeh diperoleh dengan metode penyulingan dengan uap dan air (Loppies dkk., 2021). Penyulingan ini menghasilkan limbah padat yang bisa dimanfaatkan. Senyawa aktif dalam tanaman dapat menunjukkan efek toksik apabila dikonsumsi dalam dosis berlebihan. Untuk menilai efektivitas kandungan kimia sebagai bahan obat alami, diperlukan analisis awal berupa uji toksisitas (Yunita & Sari, 2022).

Menurut Chasbiyah (2023), limbah daun cengkeh hasil penyulingan masih belum dimanfaatkan secara optimal oleh kelompok petani untuk meningkatkan nilai ekonominya, melainkan hanya dibuang atau digunakan sebagai bahan bakar dalam proses penyulingan. Selain itu, penelitian terkait toksisitas limbah daun cengkeh hasil penyulingan masih terbatas dan kurang dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan nilai toksisitas (LC_{50}) dari ekstrak dan fraksi limbah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Hasil Penyulingan.

BAHAN DAN METODE

Daun cengkeh hasil penyulingan diambil dari Kabupaten Bolaang Mongondow Timur, Sulawesi Utara. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi aquades, $AlCl_3$ 2%, aluminium foil, asam galat, aquades, butanol, daun cengkeh, etil asetat, etanol 96%, $FeCl_3$, Kalium Ferisianida, folin ciocalteu 50%, garam tidak beryodium, katekin, kertas saring, kuersetin, Larva *Artemia Salina* Leach, n-heksana, Na_2CO_3 2%..

Preparasi sampel

Daun cengkeh hasil penyulingan dibersihkan dengan cara dicuci dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 3 jam. Setelah itu dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh sehingga diperoleh serbuk daun cengkeh.

Ekstraksi sokletasi

Sebanyak 40 g sampel daun cengkeh hasil penyulingan dibungkus dengan kertas saring dimasukkan ke dalam ekstraktor soklet dan ditambahkan 300 mL pelarut etanol 96% pada labu alas

bulat kemudian di sokletasi selama 8 jam pada suhu 125 °C. Filtrat yang dihasilkan kemudian disaring untuk memperoleh filtrat yang bersih dari residu. Selanjutnya filtrat tersebut diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 78 °C selama 1 jam dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 45 menit hingga diperoleh ekstrak etanol pekat.

Partisi

Sebanyak 5 gram ekstrak etanol daun cengkeh hasil penyulingan dilarutkan dalam 100 mL aquades. Selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan 100 mL n-heksana, dikocok dan didiamkan hingga terjadi dua lapisan yakni lapisan n-heksana dan air. Lapisan n-heksana diambil kemudian dilakukan beberapa kali ulangan hingga lapisan n-heksana menjadi bening. Lapisan air kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat dan butanol. Larutan n-heksana, etil asetat, butanol dan air diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh filtrat dari masing-masing larutan.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ekstrak dan fraksi daun cengkeh menggunakan metode maukar dkk. (2013). Sebanyak 0,1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dan divortex selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%, campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam µg/mL ekstrak dan fraksi.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak dan fraksi daun cengkeh menggunakan metode Rompas dkk. (2016). Sebanyak 1 mL sampel dan 2 mL larutan AlCl₃ 2% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam µg/mL ekstrak dan fraksi.

Penentuan kandungan total tanin

Kandungan total tanin ekstrak dan fraksi daun cengkeh menggunakan metode Price & Butler (1977). Sebanyak 0,5 mL sampel dicampurkan dengan 8 mL akuades, 0,5 mL FeCl₃ 0,1 M, dan 0,5 mL Kalium Ferisianida (K₃[Fe(CN)₆]⁻) 0,008 M. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 10 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 720 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen katekin

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ditentukan dengan metode Gaulejac dkk. (1998), sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Kemudian pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dihitung sebagai presentase berkurangnya warna larutan DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$APRB (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100$$

Uji Toksisitas

Penetasan larva *Artemia Salina* Leach

Penetasan telur *Artemia Salina* Leach dilakukan didalam air pada wadah bening menggunakan media air garam. Sebelumnya telur udang *Artemia salina* Leach ditimbang dan direndam dalam 75 mL air biasa kemudian dibiarkan selama 2 jam. Selanjutnya telur udang *Artemia salina* Leach

dipindahkan ke dalam air garam dengan konsentrasi 20 g/L yang sudah disediakan untuk proses penetasan. Selama proses penetasan diberi penerangan dengan cahaya lampu 40 watt agar suhu penetasan 25 °C – 40 °C tetap terjaga (Zulkifli dkk., 2018).

Penyiapan larutan stok

Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak etanol dan fraksi terbaik ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 50 mL air laut buatan, selanjutnya dari larutan stok dibuat pengenceran 1500 ppm, 1000 ppm, 500 ppm dan 0 ppm sebagai kontrol tanpa penambahan ekstrak.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ditentukan menurut Meyer dkk. (1982), Pengujian dilakukan dengan memasukan 10 ekor udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam di dalam gelas yang berisi larutan ekstrak dan fraksi terbaik. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan dilakukan selama 24 jam. Perhitungan kematian udang *Artemia Salina* dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Mortalitas \%} = \frac{\text{Rata - rata larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Karakterisasi Limbah Daun Cengkeh Hasil Penyulingan

Sampel daun cengkeh sisa penyulingan dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

Analisis Data

Data penelitian dilakukan tiga kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ SD. Analisis dilakukan menggunakan software SPSS versi 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode sokletasi. Tujuannya untuk mengekstrak atau mengambil senyawa bioaktif yang terdapat pada serbuk daun cengkeh hasil penyulingan menggunakan pelarut yang sesuai dengan jenis sampel. Ekstraksi dilakukan selama 10 jam sampai menjadi bening. Rendemen hasil ekstrak yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun cengkeh

Sampel	Serbuk sampel (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rata-rata Rendemen (%)
EE 1	40	3,914	9,78	7,39
EE 2	40	1,996	4,99	

Keterangan : Serbuk Daun Cengkeh yang diekstraksi dengan pelarut etanol untuk ulangan 1 (EE 1), dan untuk ulangan 2 (EE 2).

Berdasarkan Tabel 1, didapatkan rata-rata presentase rendemen ekstrak daun cengkeh hasil penyulingan sebesar 7,39% pada dua kali ekstraksi. Nilai rendemen berkaitan dengan kandungan senyawa aktif dalam suatu sampel; semakin tinggi rendemen yang diperoleh, maka semakin banyak pula senyawa aktif yang terkandung dalam sampel tersebut (Hasnaeni dkk. 2019). Hal tersebut terjadi karena kelarutan suatu zat dalam pelarut sangat bergantung pada kemampuannya dalam membentuk ikatan hidrogen (Sayuti, 2017). Selama proses ekstraksi data hasil rendemen diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama ekstraksi dari suatu sampel.

Partisi

Berdasarkan hasil ekstrak yang telah diperoleh, maka diambil ekstrak untuk dilakukan partisi cair-cair menggunakan empat pelarut berbeda. Rendemen hasil fraksi yang diperoleh untuk empat pelarut ditunjukkan pada Tabel 2

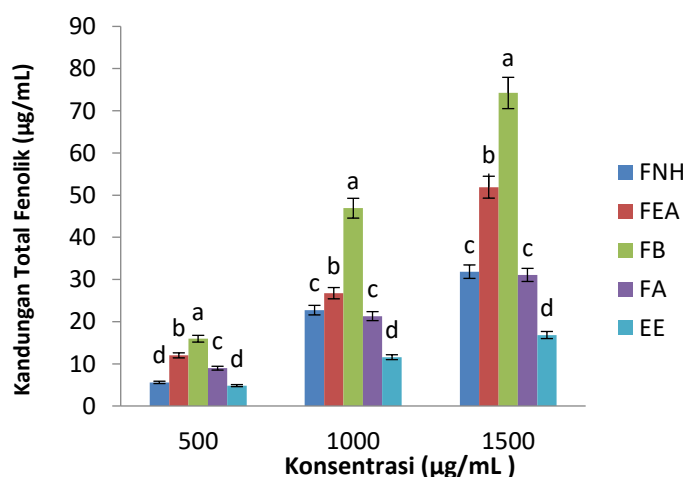
Tabel 2. Rendemen fraksi daun cengkeh

Fraksi	Rendemen (%)
Fraksi n-heksana (FNH)	35,43
Fraksi etil asetat (FEA)	37,30
Fraksi Butanol (FB)	15,91
Fraksi Air (FA)	5,11

Berdasarkan Tabel 2, rendemen hasil fraksinasi tertinggi terdapat pada FEA dengan jumlah rendemen sebesar 37,30%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak limbah daun cengkeh hasil penyulingan banyak mengandung senyawa yang bersifat semipolar yang dibuktikan dengan banyaknya senyawa yang terabsorpsi pada pelarut semi polar khususnya Etil asetat. Sedangkan nilai absorpsi paling rendah terdapat pada FA yang dapat dibuktikan melalui hasil rendemen dengan jumlah rendemen sebanyak 5,11%

Kandungan total fenolik

Sampel duji menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang direaksikan dengan Natrium Karbonat (Na_2CO_3). Dalam kondisi basa, reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dan senyawa fenolik menghasilkan kompleks berwarna biru berupa molibdenum-tungstat. Intensitas warna biru yang terbentuk menunjukkan jumlah ion fenolat yang dihasilkan, sehingga semakin pekat warna birunya, semakin tinggi pula kandungan total fenolik dalam sampel. Konsentrasi fenolat yang terbentuk memiliki hubungan linear dengan intensitas warna biru yang diamati (Alfian & Susanti, 2012). Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat. Asam galat memiliki efektivitas tinggi dalam membentuk kompleks dengan reagen Folin-Ciocalteu, sehingga reaksi yang terjadi menjadi lebih sensitif dan menghasilkan intensitas warna yang lebih kuat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa asam galat menghasilkan warna biru pekat ketika bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu (Rondonuwu et al., 2017). Hasil analisis kandungan total fenolik ekstrak dan fraksi dari limbah daun cengkeh hasil penyulingan dapat dilihat pada Gambar 1.



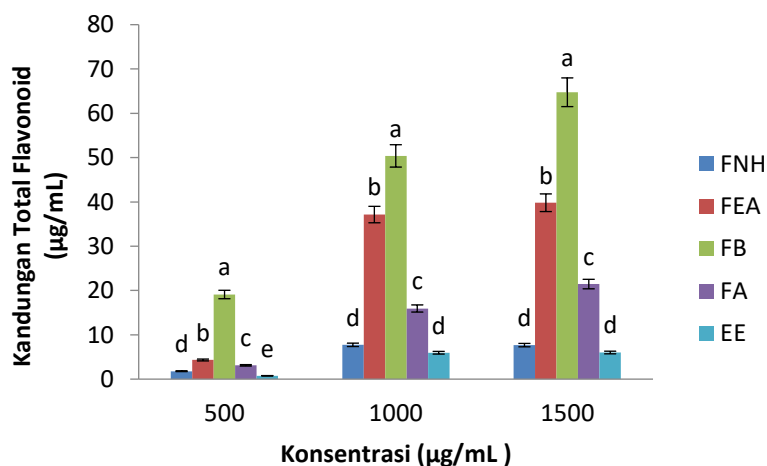
Gambar 1. Diagram batang kandungan total fenolik dari ekstrak dan fraksi daun cengkeh.

Berdasarkan Gambar 1, kandungan fenolik daun cengkeh hasil penyulingan tertinggi terdapat pada FB yakni sebesar 74,22 µg/mL (1500 ppm) lalu diikuti secara berturut-turut FEA, FNH, FA seiring dengan bertambahnya konsentrasi sedangkan kandungan total fenolik paling rendah terdapat pada EE yaitu 0,48 µg/mL (500 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa mayoritas total senyawa fenolik yang

diperoleh bersifat semi polar dan mudah larut dalam pelarut semi polar seperti butanol (Rondonuwu et al., 2017). Senyawa fenolik pada dasarnya memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut polar, dan karena butanol memiliki karakteristik polaritas yang cukup tinggi, fraksi butanol (FB) mengandung jumlah senyawa fenolik yang paling banyak (Hamdillah, 2022).

Kandungan total flavonoid

Penentuan total flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan bantuan reagen Aluminium Klorida. Reagen ini digunakan karena flavonoid mampu bereaksi dengan ion logam Al^{3+} melalui gugus hidroksi pada cincin A, gugus keton pada cincin C, serta gugus orto-hidroksi pada cincin B, membentuk kompleks berwarna kuning. Intensitas warna kuning yang semakin kuat menunjukkan konsentrasi flavonoid yang semakin tinggi dalam sampel (Rambi et al., 2016). Hasil analisis kandungan total flavonoid ekstrak dan fraksi dari limbah daun cengkeh hasil penyulingan dapat dilihat pada Gambar 2.

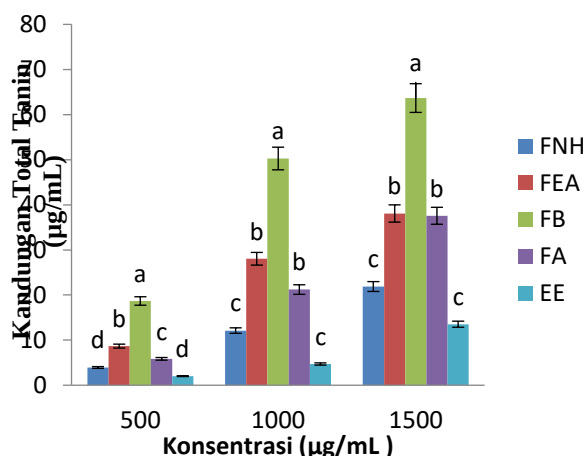


Gambar 2. Diagram batang kandungan total flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun cengkeh.

Gambar 2 menunjukkan bahwa kandungan flavonoid daun cengkeh hasil penyulingan tertinggi terdapat pada FB yakni sebesar 64,74 µg/mL (1500 ppm) lalu diikuti secara berturut-turut FEA, FNH, FA seiring dengan bertambahnya konsentrasi sedangkan kandungan total flavonoid paling rendah terdapat pada EE yaitu 0,76 µg/mL (500 ppm). Golongan senyawa flavonoid yang terdeteksi dalam penentuan kadar kemungkinan besar termasuk dalam golongan flavonol, yang umumnya hadir dalam bentuk glikosida (Arifin, 2018). Golongan senyawa ini cenderung larut lebih baik dalam pelarut semi polar, seperti butanol, yang mampu menarik senyawa metabolit sekunder seperti fenol dan flavonoid secara optimal (Wikanta et al., 2012).

Kandungan total tanin

Kandungan Tanin ditentukan menggunakan penambahan $FeCl_3$ yang direaksikan dengan $K_3[Fe(CN)_6]$. Kedua reagen tersebut ditambahkan sebagai pengompleks. Penambahan agen pengompleks bertujuan untuk menghasilkan warna pada larutan agar dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, diperlukan pembentukan kompleks terlebih dahulu guna menggeser panjang gelombang serapannya ke daerah cahaya tampak (Basri, 2023). Pada penelitian ini terjadi perubahan warna yakni hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada suatu ekstrak/fraksi disebabkan oleh reaksi antara gugus hidroksil pada senyawa tanin dengan ion Fe^{3+} , yang menghasilkan kompleks trisianoferritrikalium ferri (III) (Makatamba et al., 2020). Hasil analisis kandungan total Tanin ekstrak dan fraksi dari limbah daun cengkeh hasil penyulingan dapat dilihat pada Gambar 3.

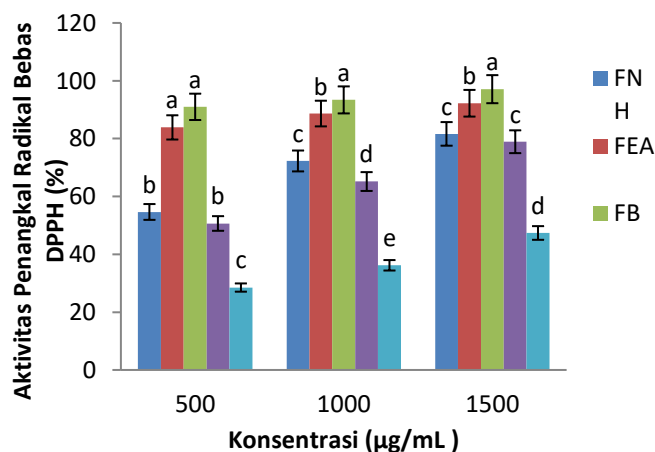


Gambar 3. Diagram batang kandungan total tanin dari ekstrak dan fraksi daun cengkeh

Berdasarkan gambar 3 kandungan total tanin daun cengkeh hasil penyulingan tertinggi terdapat pada FB yakni sebesar 63,67 µg/mL (1500 ppm) lalu diikuti secara berturut-turut FEA, FA, FNH seiring dengan bertambahnya konsentrasi sedangkan kandungan total flavonoid paling rendah terdapat pada EE yaitu 2,02 µg/mL (500 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa butanol efektif dalam mengekstraksi senyawa tanin dari sampel karena polaritasnya yang unik, yang secara efektif melarutkan senyawa polifenol seperti tanin.

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Aktivitas Antioksidan ditentukan menggunakan metode 2,2 difenil-1-pikrihidrazil (DPPH), yakni dengan mereaksikan ekstrak dan fraksi dengan larutan DPPH. Ketika DPPH bereaksi dengan antioksidan, warna larutan berubah dari ungu menjadi kuning, disertai dengan penurunan nilai absorbansi. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning terjadi karena senyawa antioksidan mendonorkan pasangan elektron. Pergantian warna ini menandakan bahwa senyawa uji memiliki aktivitas antioksidan, karena kemampuannya dalam memberikan elektron atau berperan sebagai reduktan terhadap DPPH, sehingga dapat menghambat proses oksidasi dengan mencegah pembentukan radikal bebas (Jabbar et al., 2019). Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari limbah daun cengkeh hasil penyulingan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram batang aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun cengkeh hasil penyulingan tertinggi terdapat pada FB yakni sebesar 97,10 µg/mL (1500 ppm) lalu diikuti secara berturut-turut FEA, FNH, FA seiring dengan bertambahnya konsentrasi sedangkan aktivitas antioksidan paling rendah terdapat pada EE yaitu 28,50 µg/mL (500 ppm). Aktivitas antioksidan yang tinggi pada fraksi butanol disebabkan oleh polaritas butanol yang memungkinkan pelarutan berbagai senyawa bioaktif dengan potensi

antioksidan. Hal ini sejalan dengan tingginya kadar fenolik, flavonoid, dan tanin yang ditemukan pada fraksi butanol dalam penelitian ini. Senyawa fenol, yang memiliki gugus hidroksil mampu mendonorkan atom hidrogen dan distabilkan melalui resonansi pada struktur fenoliknya, sehingga berperan efektif sebagai antioksidan (Putri, 2009).

Toksistas

Pengujian toksistas dilakukan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) pada ekstrak etanol dan fraksi butanol dengan variasi konsentrasi masing-masing yaitu 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, dan 0 ppm sebagai kontrol tanpa penambahan ekstrak atau fraksi. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, yaitu pada 6 jam pertama, jam ke-12, jam ke-18 dan jam ke-24.

Tabel 3. Nilai LC₅₀ dari Ekstrak dan Fraksi Butanol daun cengkeh

Sampel	Nilai LC ₅₀ µg/mL
EE	23,33
FB	9,58

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun cengkeh hasil penyulingan memiliki sifat toksistas. Dimana fraksi butanol memiliki sifat toksik tertinggi dengan nilai 9,58 µg/mL sedangkan untuk ekstrak etanol memiliki nilai 23,33 µg/mL. Nilai LC₅₀ yang tinggi berkaitan dengan kematian larva yang dipengaruhi oleh aktivitas senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin (Muaja et al., 2013). Senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai racun perut (stomach poisoning) yang mengganggu proses pencernaan pada larva. Selain itu, senyawa tersebut dapat menghambat reseptor perasa di mulut larva, sehingga larva tidak menerima rangsangan rasa dan gagal mengenali makanannya, yang akhirnya menyebabkan kematian akibat kelaparan. Menurut Handayani dkk. (2019), kandungan fenolik, flavonoid, dan tanin dalam sel dapat menyebabkan kerusakan membran sel karena gugus OH pada senyawa tersebut berikatan dengan protein integral membran, sehingga mengganggu proses transport aktif ion Na⁺ dan K⁺. Terhentinya transportasi aktif mengganggu keseimbangan ion dan fungsi seluler pada larva, yang dapat menimbulkan stres osmotik serta gangguan metabolisme. Kondisi ini menyebabkan membran sel menjadi tegang berlebihan hingga akhirnya pecah, sehingga sel mengalami kematian.

Analisis hasil pengujian GC-MS

Identifikasi ekstrak daun cengkeh menggunakan instrumen GC-MS bertujuan menganalisis keberadaan dan komposisi senyawa aktif berdasarkan luas area yang muncul.

Tabel 4. Hasil GC-MS daun cengkeh limbah hasil penyulingan.

Peak	Retensi Waktu	SI	Massa Molekul (g/mol)	Nama Senyawa	Kandungan	Struktur
1	4.025	96	116	4-hidroksi-4-metil-2-pentanon	2,79	C ₆ H ₁₂ O
2	7.092	98	106	Etanol	1,69	C ₂ H ₆ O
3	7.525	93	92	1,2,3-Propanetriol	6,77	C ₃ H ₈ O ₃
4	10.925	96	130	1-Oktan-1-ol	3,63	C ₈ H ₁₈ O
5	13.758	88	116	4-Hidroksimetil-1,3-Dioksolana	2,70	C ₄ H ₆ O ₄
6	14.758	89	114	2(3H)-Furanon, 5-etildihidro	1,25	C ₆ H ₁₀ O ₂
7	17.567	98	158	1-Dekanol	5,25	C ₁₀ H ₂₁ OH
8	18.867	82	86	Propana, 2-(eteniloksi)	1,30	C ₅ H ₁₀ O
9	19.975	96	164	Eugenol	0.86	C ₁₀ H ₁₂ O ₂

10	20.492	94	126	1,2,3-Benzenetriol	4.64	C ₆ H ₆ O ₃
11	21.842	77	102	Tetrahidro-4H-piran-4-ol	0.85	C ₅ H ₁₀ O ₂
12	23.850	83	180	D-Galaktosa	1.21	C ₆ H ₁₂ O ₆
13	24.208	93	206	Fenol, 2,5-bis(1,1-dimetiletil)	1.55	C ₁₄ H ₂₂ O
14	24.733	68	180	Fenol, 4-(3-hidroksi-1-propenil)-2-metoksi	0.94	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
15	26.433	96	252	3-Oktadesen	0.91	C ₁₈ H ₃₆
16	28.542	92	242	Oktil heptanoat	0.64	C ₁₅ H ₃₀ O ₂
17	29.083	88	206	Fenol, 4-(2,2,3,3-tetrametilbutil)	0.65	C ₁₄ H ₂₂ O
18	29.483	87	220	4-Nonilfenol	0.74	C ₁₅ H ₂₄ O
19	30.358	74	271	Glisin	0.67	C ₂ H ₅ NO ₂
20	31.192	97	280	3-Eikosen	2.11	C ₂₀ H ₄₀
21	31.433	73	182	Asam benzena asetat	0.75	C ₈ H ₈ O ₂
22	33.033	84	228	Asam Asetat	0.94	C ₂ H ₄ O ₂
23	34.783	95	256	Asam heksadekanoat	8.00	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
24	35.483	96	308	1-Dodesena	1.72	C ₁₂ H ₂₄
25	36.458	68	226	Asam 2,4-Heksadienadioat	0.99	C ₆ H ₈ O ₂
26	38.300	94	254	Asam 9-Heksadekenoat	4.96	C ₁₆ H ₃₀ O ₂
27	38.750	95	284	Asam oktadekanoat	2.76	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
28	38.858	92	310	Etil Oleat	1.03	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
29	39.083	55	254	Testosteron propionat	3.42	C ₂₂ H ₃₂ O ₃
30	39.392	96	336	Siklotetrakosana	1.12	C ₂₄ H ₄₈
31	42.292	84	318	Asam 1,2,4-benzenatrikarboksilat	2.39	C ₉ H ₆ O ₆
32	42.983	95	266	1-Nonadesena	0.78	C ₁₉ H ₃₈
33	45.275	96	210	Asam 1,2-benzenedikarboksilat	16.89	C ₈ H ₆ O ₄
34	45.833	86	318	Siklik 1,2-anhidrida	1.22	(RCO) ₂ O
35	49.892	81	288	14-β -H-Pregna	0.63	C ₂₁ H ₃₂ O
36	50.425	77	238	Asetamida	0.70	CH ₃ CONH ₂
37	50.867	92	296	Heneikosana	0.62	C ₂₁ H ₄₄
38	51.025	73	282	Eicosane	0.66	C ₂₀ H ₄₂
39	51.244	92	390	Di-n-oktil-ftalat	0.75	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
40	51.867	82	142	Dekana	0.66	C ₁₀ H ₂₂
41	52.992	78	530	Ditridesil ftalat	0.67	C ₃₄ H ₅₈ O ₄
42	53.800	95	619	Tetratetrakontana	1.28	C ₄₄ H ₉₀
43	58.067	82	288	Octadekana, 1-kloro	1.64	C ₁₈ H ₃₇ Cl
44	59.333	80	998	Asam nonaheksakontanoat	0.76	C ₆₉ H ₁₃₈ O ₂
45	60.250	89	426	Lupeol	3.47	C ₃₀ H ₅₀ O
Total Area (%)					100.00	

Hasil GC-MS menunjukkan bahwa dalam fraksi butanol daun cengkeh teridentifikasi beberapa senyawa hidrokarbon. Menurut Purba (2019), hidrokarbon adalah golongan senyawa karbon yang paling sederhana. Hidrokarbon hanya terdiri dari unsur karbon (C) dan hidrogen (H). Eugenol, Fenol, 2,5-bis (1,1-dimetiletil), Fenol, 4-(2,2,3,3 tetrametilbutil) dan Fenol,4-(3-hidroksi-1-propenil)-2-metoksi merupakan senyawa hidrokarbon turunan fenolik sedangkan lupeol merupakan senyawa hidrokarbon turunan triterpenoid. Senyawa fenolik yang mengandung satu atau lebih cincin benzen aromatik yang dikenal sebagai sumber antioksidan dan antimikroba, serta memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker (Wardani, 2020).. Beberapa senyawa antioksidan yakni Eugenol, Fenol, 2,5-bis (1,1 dimetiletil), Fenol, 4-(2,2,3,3-tetrametilbutil) dan Fenol, 4-(3-hidroksi-1-propenil)-2 metoksi memiliki aktivitas antioksidan. (Agustina dkk. 2023; Apriyanti, 2025; Sumampow, 2022). Pada kadar tertentu dapat bersifat toksik atau bahkan karsinogenik. Senyawa toksik dapat berperan sebagai agen antikanker melalui kemampuannya dalam menghambat atau membunuh sel kanker dengan cara memperbaiki kerusakan DNA, memperlambat pembelahan sel abnormal, serta menurunkan tingkat mutagenesis (Al-Dabbagh dkk., 2018). Triterpenoid adalah senyawa organik yang berasal dari terpenoid, yang merupakan kelompok metabolit sekunder pada tumbuhan. Diketahui bahwa senyawa lupeol merupakan turunan dari senyawa triterpenoid yang mempunyai aktivitas antikanker (Balafif dkk., 2013).

KESIMPULAN

Limbah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) hasil penyulingan memiliki aktivitas penangkal radikal bebas dengan kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada fraksi butanol (FB) yakni sebesar 97,10 µg/mL pada konsentrasi 1500 ppm. Serta berdasarkan pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT, ekstrak dan fraksi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) hasil penyulingan memiliki sifat Toksik dengan kategori toksik pada ekstrak etanol (EE) dengan nilai LC_{50} sebesar 23,33 µg/mL dan pada kategori sangat toksik pada fraksi butanol (FB) dengan nilai LC_{50} sebesar 9,58 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Aklimah, M., & Ekayanti, M. 2022. Penetapan Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L). Merr) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Thwaites). *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 10(2), 11-14.
- Alfian, R., & Susanti, H. 2012 Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 73-80.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Basri, R. 2023. The Determination Of Tannin Content Of Avocado (*Persea Americana* Mill). Seed Ethanol Extract Using The Uv-Vis Spectrophotometry Method. *Makassar Natural Product Journal (MNPJ)*, 1(3), 125-137.
- Chasbiyah, M.A., Husaini, I., Kristina, K., Prastowo, A.Y., & Kristiawan, B. 2023. Pengolahan limbah penyulingan daun cengkeh menjadi pupuk bokashi di desa sumberurip doko. *Jurnal Pengabdian dan Pemberdayaan Nusantara*, 5(1), 161-172.
- Dilapanga, G.D., Rauf, A., & Boekoesoe, Yuriko. 2020. Analisis Pendapatan Petani Cengkeh Berdasarkan Skema Usahatani Di Kabupaten Bolaang Mongondow Timur, 1(2), 81-86.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* Sp., *Chlorella* Sp., dan *Nannochloropsis* Sp. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 10(2), 101-109.
- Gaulejac, N.S-C., C. Provost & N. Vivas. 1998. Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 425-431.

- Hamdillah, R. 2022. *Kandungan Fenolik Total, Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol Daun Tumbuhan Bunga Bangkai (Amorphophallus paeoniifolius (Dennst.) Nicolson)*. Doctoral dissertation, Universitas Andalas.
- Handayani, V., Najib, A., Syarif, R., Mahmud, A., Hamidu, L., Ahmad, A. R. 2019. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Terpurifikasi Biji Mahoni (*Swietenia Mahagoni*). *JFFI*, 6(2), 360-362.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N.P. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun daruju (*Acanthus Illicifolius* L.) dengan metode peredaman radikal bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299-308.
- Hasnaeni, Wisdawati & Usman, S. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), (175-182)
- Irvan., Manday, P.B., & Sasmitra J. 2015. Ekstraksi 1,8-cineole dari minyak daun eucalyptus urophylla dengan metode soxhletasi. *J Tek Kim USU*, 4(3), 184-193.
- Jabbar, A., Wahyuni, W., Malaka, M.H., & Apriliani, A. 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang Dan Rimpang Pada Tanaman Wualae (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 189–197.
- Julfitriyani., Runtuwene, R.M., & Wewengkang, D. 2016. Uji aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak etanol daun foki sabarati (*Solanum Torvum*), 3(5), 94-101.
- Katadata. 2023. Perempuan Lebih Sering Konsumsi Makanan Cepat Saji Ketimbang laki-laki. <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2023/02/16>.
- Loppies, J.E., Wahyudi, R., Ardiansyah, A., Rejeki, E.S., & Winaldi, A. 2021. Kualitas minyak atsiri daun cengkeh yang dihas ilkan dari berbagai waktu penyulingan. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 16(2), 89-96.
- Maharani, A.I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K.A., Rahman, N.A., Ilahi, N.F., & Farma, S.A. 2021. Peran antioksidan alami berbahan dasar pangan lokal dalam mencegah efek radikal bebas. *Seminar Nasional biologi*, 1(2), 390-399.
- Makatamba, V., Fatimawali, F., & Rundengan, G. 2020. Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (*Piper betle* L) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Mipa*, 9(2), 75-80.
- Maukar, M.A., Runtuwene, M.R.J., & Pontoh, J. 2013. Analisis kandungan fitokimia dari uji toksisitas ekstrak metanol daun soyogik (*Sauraula bracteosa* DC) dengan menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), 98-101.
- Muaja, A.D., Koleangan, H.S., & Runtuwene, M.R. 2013. Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Sauraula bracteosa*DC) dengan metode soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 115-118.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., & Mc Laughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A convenient beneral bioassay for active plant constituents. *Planta Medical*, 45(5), 35-34.
- Pratiwi, N. A. 2017. Gambaran Kebiasaan Mengonsumsi Junk Food dan Pola Aktivitas Sebagai Faktor Risiko Kejadian Overweight pada Remaja di SMP Negeri 21 Makassar. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Alauddin Makassar.
- Price, M. L, & Butler, L. G. 1977. Estimasi Visual Cepat dan Penentuan Spektrofotometri Kandungan Tanin Biji Sorgum. *Jurnal Kimia Pertanian dan Pangan*, 25(6), 1268-1273.
- Rambi, G. A., Kamu, V. S., & Runtuwene, M. R. 2016. Uji fitokimia dan antioksidan dari daun yantan (*Blumea chinensis* DC). *Jurnal MIPA*, 5(1), 32-35.
- Rompas, D.E.B., Runtuwene, M.R.J., & Koleangan, H.S.J. 2016. Analisis kandungan fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari tumbuhan lire (*Hemigraphis repanda* (L) Hall F. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 5(1), 36-39.
- Rorong, J.A. 2019. Uji aktivitas antioksidan dari daun cengkeh (*Eugenia carryophyllus*) dengan metode DPPH. *Chemistry Progress*, 1(2), 111-116.
- Rondonuwu, S.D.J., Suryanto, E., & Sudewi, S. 2017. Kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan dari fraksi pelarut sagu baruk (*Arenga microcharpa*). *Chemistry Progress*, 10(1), 29-32.
- Saputra, D.R., Melati, R., & Karimah, U. 2023. Pengukuran Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol & Fraksi Etil Asetat Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Journal of Sustainable Transformation*, 2(01), 36-44.

- Saroja, M.M. 2017. Awareness On the effect of junk food among higher secondary students tirunelveli district St. Ignatius IRJMSH
- Sen, D. T., Tan, D.V., & La, H.T. 2013. Biological activity of methanolic extract derived from *Ipomea pes-caprae* (L.) collected in Xuan Thuy national park. *Journal of Science Hnue*, 58(9), 139-145.
- Talahatu, D., & Papilaya, P. 2015. Pemanfaatan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) sebagai herbisida alami terhadap pertumbuhan gulma rumput teki (*Cyperus Rotundus* L.). *Biopendix*, 1(2), 160–170.
- Udiana, W. 2019. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kacang kratok (*Phaseolus lunatus*) dan kulit buah kacang gude (*cajanus cajan*) dengan metode DPPH serta penetapan kadar total flavonoid dan fenol. *J Pharmacopolium*, 1(3), 162–9.
- Wikanta, T., Gusmita, D., Rahayu, L., & Marraskuranto, E. 2012. Kajian Awal Bioaktivitas Ekstrak Etanol Dan Fraksinya Dari *Spongia Callyspongia* sp. terhadap Sel Lestari Tumor HeLa. *Jakarta Pusat; JPB Perikanan*, 7(1), 1 -10
- Yunita, E., & Sari, D.R.A.P. 2022. Aktivitas antioksidan dan toksisitas fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun pegagan (*Centella Asiatica* L.). *Jurnal Mandala Pharmaccon Indonesia*, 8(1), 58-66.
- Zulkifli., Runtuwene, M.R.J., & Abidjulu, J. 2018. Analisis kandungan fitokimia dan uji toksisitas dari hasil partisi daun liwas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *Pharmaccon*, 3(7), 230-239.