

Artikel Penelitian

Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksana dan Etil Asetat Daun Sirih Kuning (*Piper betle*)

Boima Situmeang^{1*}, Elsa Muamaliyah¹, Nani Yulianti², Ahmad Kadir Kilo³

¹Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, 43259 Indonesia

¹Jurusan Analis Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, 43259 Indonesia

¹Jurusan Kimia, Universitas Negeri Gorontalo, 66138 Indonesia

Masuk: Mei 2023

Revisi: Mei 2023

Diterima: Juni 2022

Publish: Juni 2023

Copyright:

©2023, Published by

Jurnal Medika & Sains

Korespondensi:

Boima Situmeang

Email:

boimatumeang@gmail.com

DOI:

10.30653/medsains.v3i1.487

Abstrak. Tanaman sirih kuning dengan nama latin *Piper betle* adalah tumbuhan yang hidup pada iklim tropis. Tumbuhan sirih kuning merupakan tanaman dari family *Piperaceae*. Uji fitokimia pada daun sirih kuning menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, saponin, *phenolic*, flavonoid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi daun sirih kuning dan menguji aktivitas antioksidan. Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Rendemen ekstrak etil asetat yang diperoleh sebesar 3,0 % dan rendemen ekstrak *n*-heksana diperoleh sebesar 1,0 %. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat yaitu 35,490 ppm dan nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari ekstrak *n*-heksana yaitu 1.106,015 ppm. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat tanaman sirih kuning termasuk dalam kategori sangat sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana tergolong sangat lemah

Kata Kunci: antioksidan, DPPH, inhibisi, *Piper betle*, sirih kuning

Abstract. The yellow betel plant, with the Latin name *Piper betle*, is a plant that grows in tropical climates. The yellow betel plant is a member of the *Piperaceae* family. Phytochemical testing of yellow betel leaves indicates the presence of secondary metabolite compounds such as alkaloids, terpenoids, saponins, phenolics, flavonoids, and tannins. This study aims to extract yellow betel leaves and test their antioxidant activity. Sample extraction was done using the multilevel maceration method with *n*-hexane and ethyl acetate solvents. Antioxidant activity testing was conducted using the DPPH method with a UV-Visible spectrophotometer. The yield of the ethyl acetate extract obtained was 3.0%, and the yield of the *n*-hexane extract obtained was 1.0%. The IC₅₀ value obtained from the ethyl acetate extract was 35,490 ppm, while the IC₅₀ value obtained from the *n*-hexane extract was 1,106,015 ppm. Based on the antioxidant activity testing results, the ethyl acetate extract of the yellow betel plant is classified as highly active, while the antioxidant activity of the *n*-hexane extract is considered very weak.

Keywords: antioxidant, DPPH, inhibition, *Piper betle*, sirih kuning

1. Pendahuluan

Penggunaan tumbuhan obat di Indonesia telah dikenal sejak zaman dahulu kala dan merupakan bagian dari tradisi pengobatan masyarakat. Tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat Indonesia biasanya berupa bagian-bagian tanaman seperti daun, batang, akar, bunga,

buah, dan biji. Penggunaan obat tradisional juga memiliki efek samping yang merugikan bila penggunaannya belum tepat. Tumbuhan obat biasanya digunakan dalam bentuk rebusan atau ekstrak yang diminum, atau dioleskan pada kulit atau bagian tubuh yang sakit. Beberapa tumbuhan obat juga diolah menjadi kapsul, tablet, atau sirup untuk memudahkan penggunaan. Penggunaan tumbuhan obat di Indonesia tidak hanya dilakukan oleh masyarakat pedesaan, namun juga oleh masyarakat perkotaan. Pemerintah Indonesia juga telah mengakui penggunaan tumbuhan obat dan telah mempromosikan penggunaan obat tradisional melalui program Jaminan Kesehatan Nasional (JKN) yang mencakup obat-obatan herbal. Maka dari itu perlu adanya informasi yang memadai tentang kelebihan dan kelemahan obat tradisional atau tumbuhan obat (Roslizawati dkk, 2013). Tumbuhan merupakan suatu komponen penting dalam kehidupan manusia, terutama sebagai sumber makanan dan sebagai obat-obatan. Tumbuhan sirih secara empiris mempunyai aktivitas antioksidan (Astarina dkk, 2013). Tanaman sirih kuning atau dalam bahasa latin disebut *Piper betle* adalah tumbuhan yang berasal dari Asia Tenggara dan biasanya tumbuh di daerah tropis. Tanaman ini dikenal karena daunnya yang biasa dijadikan bahan untuk mengunyah dalam tradisi budaya Asia Tenggara. Selain digunakan sebagai penghilang bau mulut, daun sirih kuning juga memiliki kandungan senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin yang dapat memberikan manfaat Kesehatan. Sirih kuning mudah dikenali karena sangat mirip dengan sirih hijau, daunnya berbentuk seperti hati dan juga mengkilap. Cara membedakan dengan sirih jikau adalah dari warna daunnya yang berwarna kuning (Manalu & Sinaga, 2013). Radikal bebas adalah molekul atau ion yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga mereka sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas dapat ditemukan di dalam tubuh manusia, dan biasanya terbentuk sebagai produk sampingan dari reaksi metabolisme normal dalam tubuh, seperti saat oksigen terurai menjadi radikal bebas yang disebut oksigen reaktif (Andina & Musfirah, 2017). Radikal bebas yang berlebihan dapat mengakibatkan penyakit seperti aterosklerosis, kanker, diabetes, dan penyakit degeneratif lainnya (Astarina dkk, 2013). Umumnya tubuh manusia memiliki sistem pertahanan alami terhadap radikal bebas yang dikenal sebagai antioksidan, seperti vitamin C, vitamin E, dan beta-karoten. Antioksidan ini dapat membantu melindungi sel dan jaringan tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan menetralkan efek reaktif (Liochev, 2013). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah terjadinya kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dengan cara meredam aktivitas radikal bebas atau memutus rantai reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Shalshabilla, 2021). Penggunaan antioksidan sintetis dewasa ini mulai mendapat perhatian serius karena bersifat karsinogenik. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia diproduksi untuk tujuan komersial. Oleh karena itu saat ini tengah dilakukan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam, yang relatif lebih aman untuk dikonsumsi (Januarti dkk, 2019). Salah satu tumbuhan obat adalah dari keluarga sirih-sirihan (Rahayu dkk, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari

ekstrak *n*-heksana dan etil asetat daun tanaman sirih kuning. Pelarut *n*-heksana dan etil asetat dipilih untuk mewakili senyawa kimia yang larut dalam pelarut nonpolar dan semipolar

2. Metode Penelitian

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: timbangan analitik, *blender*, erlenmeyer, corong kaca, kertas saring, *rotary evaporator*, gelas ukur, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet, batang pengaduk, labu ukur, *beaker glass* dan Spektrofotometri UV-Visible Optima. Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun tanaman sirih kuning (*Piper betle*) yang diperoleh dari Pasar Keranggong, Kota Cilegon, Banten, *n*-heksana (p.a), etil asetat (p.a), DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), dan aquadest

b. Posedur Penelitin

Ekstraksi Daun Sirih Kuning (Piper betle)

Sampel yang digunakan yaitu daun sirih kuning (*Piper betle*). Sampel daun sirih kuning dikeringkan dengan cara dijemur pada suhu ruang 25°C-30°C selama 3x24 jam. Kemudian sampel daun sirih kuning dihaluskan sampai didapat simplisa halus daun sirih kuning. Tahap penelitian ini meliputi pengumpulan sampel, ekstraksi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan metode maserasi bertingkat, kemudian pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sampel ekstrak daun sirih kuning (*Piper betle*) dari pelarut *n*-heksana dan etil asetat disiapkan. Dibuat larutan induk sampel dengan konsentrasi 1000 ppm dengan melarutkan 100 mg ekstrak dengan 100 mL metanol dalam labu takar. Selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Disiapkan larutan DPPH dengan konsentrasi 160 ppm. Larutan stock DPPH dibuat dengan melarutkan 10 mg padatan DPPH ke dalam 62,5 mL metanol. Selanjutnya, disiapkan larutan blanko, yaitu larutan kontrol yang berisi 2,4 mL metanol dan 0,6 mL larutan DPPH. Untuk sampel uji, disiapkan masing-masing 2,4 mL larutan sampel dan 0,6 mL larutan DPPH. Kemudian, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 27°C hingga terjadi reaksi DPPH dengan sampel dengan ditandai terjadinya perubahan warna. Sampel ekstrak yang telah di inkubasi di ukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm (Srinivas & Baboo, 2013)

Penentuan Persen (%) Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal bebas dideskripsikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Inhibisi Radikal DPPH} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi yang mampu menghambat 50% DPPH. Konsentrasi sampel dan inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier ($y = ax + b$). Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dengan nilai y sebesar 50 dan x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀ (Ikhlās, 2013). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat (50-100ppm), sedang (100-150 ppm), dan lemah (151-200 ppm). Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidan (Srinivas & Baboo, 2013).

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 1 kg simplisia diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pemilihan metode maserasi karena mudah dilakukan dan tidak perlu pemanasan, sehingga senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam sampel tidak rusak atau terurai. Perendaman yang dilakukan terhadap sampel tumbuhan mengakibatkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel karena adanya perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel akan terlarut dalam pelarut organik. Penggunaan pelarut pelarut *n*-heksana bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar, sedangkan penggunaan pelarut etil asetat bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat semi polar seperti senyawa golongan fenolik dan flavonoid.

Ekstrak *n*-heksana pekat diperoleh sebanyak 10 g, ekstrak etil asetat pekat yang diperoleh sebanyak 30 g setelah sisa pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Teknik penguapan pelarut tersebut dilakukan untuk mendapatkan ekstrak pekat *n*-heksana dan etil asetat dengan cepat dan efektif. Penguapan dilakukan pada suhu ± 40 °C bertujuan untuk mencegah dekomposisi senyawa yang terkandung di dalamnya. Rendemen ekstrak *n*-heksana yang diperoleh sebesar 1,0 % dan rendemen ekstrak etil asetat diperoleh sebesar 3,0 %. Rendemen ekstrak etil asetat lebih besar karena senyawa yang bersifat semipolar lebih banyak terkandung dalam daun tumbuhan sirih kuning dibandingkan senyawa yang bersifat nonpolar.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode ini dipilih karena memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat

dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Prinsip pengujian aktivitas antioksidan ini adalah adanya reaksi penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH. Penangkap hidrogen pada radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan perubahan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Situmeang dkk., 2022).

Jika suatu senyawa memiliki aktivitas sebagai antioksidan maka akan terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Penurunan absorbansi DPPH diukur terhadap absorbansi blanko, yaitu absorbansi DPPH dalam metanol tanpa penambahan bahan uji. Penurunan absorbansi DPPH ditunjukkan dengan terjadinya degradasi warna DPPH dari warna ungu menjadi warna kuning (Ikhlas, 2013). Proses degradasi warna yang terjadi berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan.

Berdasarkan nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentase penghambatan radikal DPPH % IC_{50} (*inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana sirih kuning ditunjukkan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana daun sirih kuning

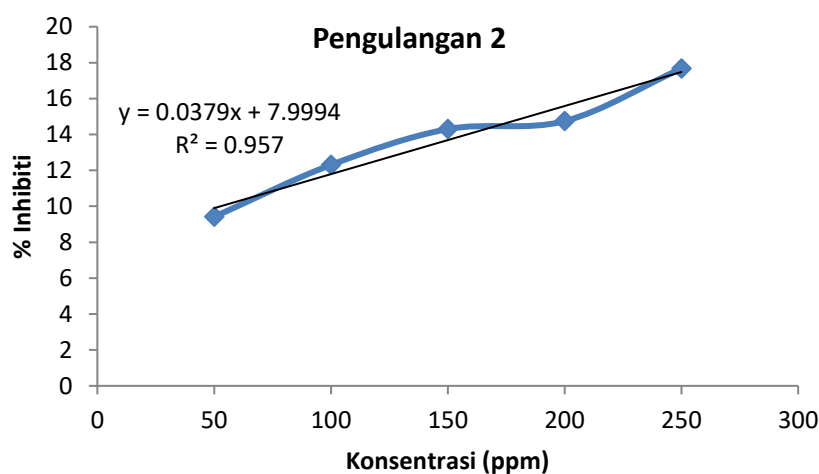
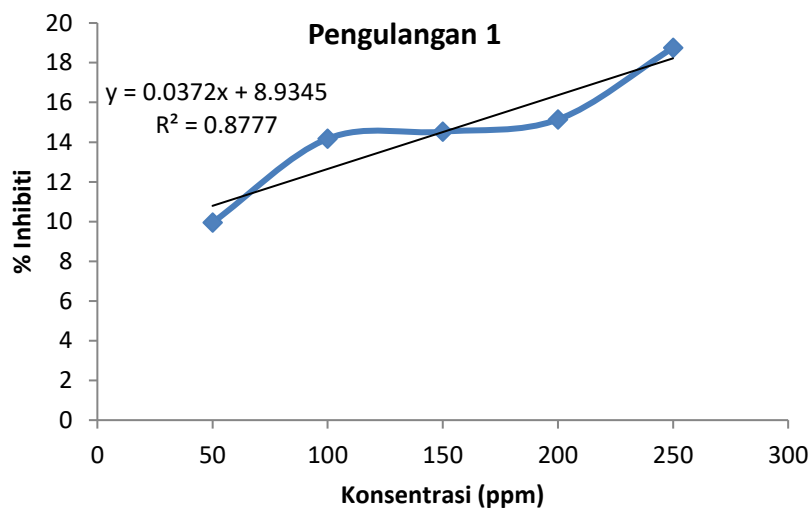
Pengulangan ke	Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	Absorbansi	IC_{50} (ppm)
1	0	0	1,136	1103,911
	20	9,947	1,023	
	40	14,172	0,975	
	60	14,525	0,969	
	80	15,141	0,964	
	100	18,750	0,923	
2	0	0	1,126	1108,119
	20	9,414	1,020	
	40	12,304	0,970	
	60	14,298	0,965	
	80	14,742	0,960	
	100	17,673	0,927	
Rata-rata				1.106,015

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun sirih kuning

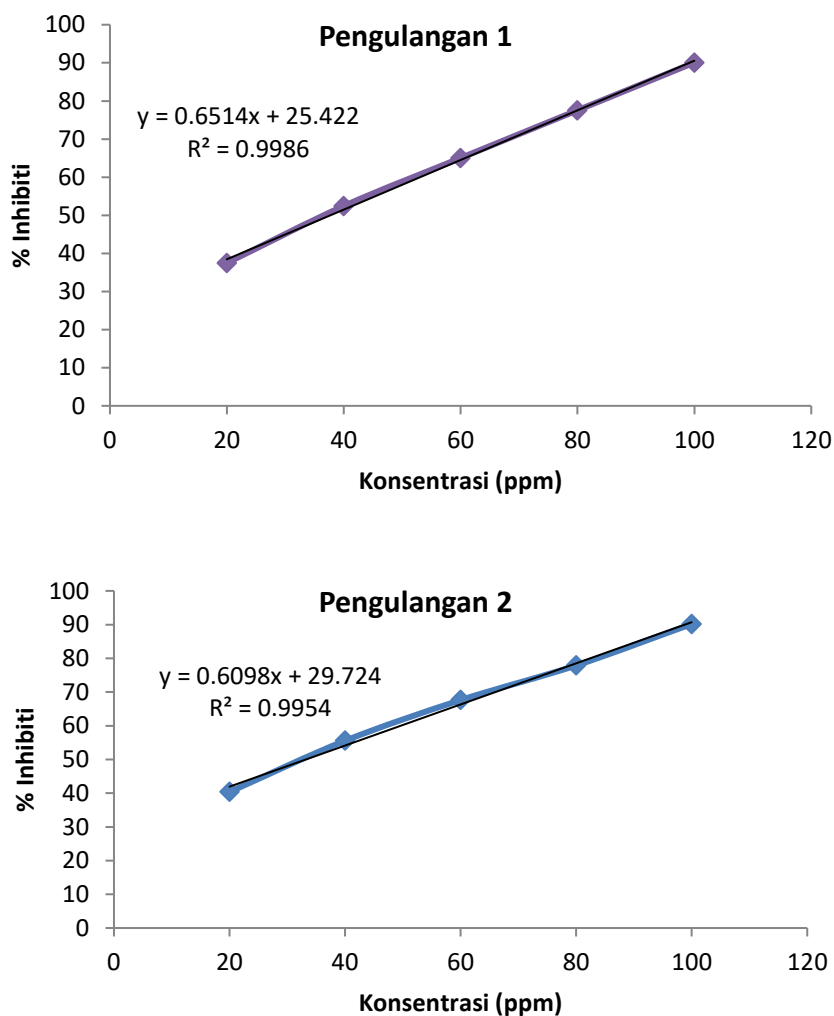
Pengulangan ke	Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	Absorbansi	IC_{50} (ppm)
1	0	0	1,343	37,73
	20	40,357	0,810	
	40	55,547	0,597	
	60	67,609	0,435	
	80	77,885	0,297	

	100	90,171	0,132	
2	0	0	1,278	
	20	37,480	0,799	
	40	52,425	0,608	
	60	65,023	0,447	33,25
	80	77,543	0,287	
	100	90,062	0,127	
Rata-rata				35,49

Untuk menentukan nilai IC_{50} , selanjutnya data hasil perhitungan persen inhibisi dimasukkan ke dalam grafik untuk mendapatkan persamaan regresi linear dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y. Gambar grafik penentuan regresi linear pengujian aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Kurva persamaan regresi linear penetapan IC_{50} fraksi *n*-heksana



Gambar 2. Kurva persamaan regresi linear penetapan IC_{50} fraksi etil asetat

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat memiliki nilai penghambatan radikal yang sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksana. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang didapatkan dari masing-masing pengujian yang berada di bawah nilai 50. Nilai IC_{50} yang dihasilkan dari fraksi etil asetat yaitu 35,490 ppm, sedangkan nilai IC_{50} yang dihasilkan dari fraksi *n*-heksana yaitu 1.106,015 ppm. Nilai IC_{50} di bawah 50 ppm merupakan tergolong sangat kuat dan nilai IC_{50} di atas 150 ppm tergolong sangat lemah (Situmeang dkk., 2022). Nilai IC_{50} tersebut didapatkan dari persamaan regresi linier, dengan memasukkan nilai $y = 50$, maka akan diketahui konsentrasi penghambatan oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh, maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Sunardi, 2007).

Nilai IC_{50} diakibatkan oleh kemampuan masing-masing senyawa dalam memberikan elektron DPPH, semakin banyak elektron yang diberikan kepada DPPH akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansinya yang berarti meningkatkan persen (%) inhibisi dan menurunnya nilai IC_{50} . Ekstrak etil asetat memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena etil

asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun sirih kuning dengan peredaman radikal menggunakan DPPH berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hilangnya warna ungu adalah stoikiometri jumlah elektron yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan daun sirih kuning. Selain itu kemampuan dari ekstrak etil asetat sirih kuning dengan mentransfer elektron atau donor proton diduga karena dalam ekstrak etil asetat tanaman sirih mengandung senyawa fenolik dan flavonoid (Januarti et al., 2019).

4. Kesimpulan

Rendemen ekstrak *n*-heksana yang diperoleh dari hasil maserasi bertingkat sebesar 1,0 % dan rendemen ekstrak etil asetat yang diperoleh sebesar 3,0 %. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari ekstrak *n*-heksana yaitu 1.106,015 ppm, sedangkan Nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat yaitu 35,490 ppm. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat tanaman sirih kuning termasuk dalam kategori sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksana.

Daftar Pustaka

- Andina, L & Musfirah, Y. 2017. Total phenolic content of cortex and leaves of ramania (*Bouea macrophylla Griffith*) and antioxidant activity assay by DPPH Metod. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 134; 134-130
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., Wardianti, N.K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber Purpureum Roxb*). *J. Farm. Udayana*. 2(4): 26-31.
- Liochev, S.I., 2013. *Reactive Oxygen Species and the free radical theory of Aging. Free Radical Biology and Medicine*. 60: 1-4.
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah (*piper crocatum ruiz & pav*) sebagai antioksidan dan antibakteri. *J Pharm Sci*, 2, 61.
- Manalu, N. Y., & Sinaga, M. S. 2013. Ekstrak daun sirih hijau dan merah sebagai antioksidan pada minyak kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(1), 37-43.
- Rahayu, S., Kurniasih, N, Amalia, V. 2015. “Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *Alkimiya*. 2 (1): 1-8.
- Roslizawati., Ramadhan, N. Y., Fakrurrazi., and Hernialtian. 2013. Antibacterial Activity of Ethanol Extrac and Stew Of Antplant (*Myrmecodia sp*) Agains Bacteri *E. coli*. *Medika Valenitaria*.7(2): 0853- 1915.

- Shalshabilla, N. (2021). *Uji Total Fenolik Dan Antioksidan Pada Tumbuhan Sirih Hijau (Piper betle L.), Sirih Rimau (Piper porphyrophyllum), Dan Sirih Hutan (Piper ciliibracteum C. DC)* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).
- Situmeang, B., Musa, W.J.A., Ilham., Ibrahim, A.M., Amin, F., Mahardika, M., Bialangi, N. 2022. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Fraksi Ekstrak Metanol Kulit Batang Kesambi (*Scheleichera oleosa*). *Jurnal Kimia*. 16 (1): 53-59.
- Srinivas, K., & Baboo, C.R.V. 2013. Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Stem Bark of *Schleichera oleosa (Lour.Oken)*. *Inter.J. of Pharmacotherapy*, 3(1): 12-14.
- Sunardi, K.I. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi, L.*) terhadap *1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH)*. *Seminar Nasional Teknologi*, 1-9.