

# Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun, Bunga, dan Tangkai Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

Ria Mariani<sup>1\*</sup>, Farid Perdana<sup>1</sup>, Revi Widiana<sup>1</sup>

## Artikel Penelitian

**Abstract:** Forest Betel (*Piper aduncum* L.) belongs to the genus *Piper*. Many researches on antioxidants of various genera of *Piper* have been carried out such as *Piper crocatum* and *Piper betle*, but research on antioxidants in forest betel is still very limited. Natural antioxidants can be used to reduce free radicals in an effort to prevent degenerative diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of flowers, leaves and stalks of forest betel and the group of compounds responsible for the antioxidant activity. Antioxidant activity was tested using the DPPH method (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) with UV-Vis spectrophotometry and thin layer chromatography (TLC). The antioxidant activity test results using UV-Vis spectrophotometry showed that forest betel leaf extract had 47.252  $\mu\text{g/ml}$  as an IC<sub>50</sub> value, forest betel flower extract had 49,756  $\mu\text{g/ml}$  as an IC<sub>50</sub> value and forest betel stalk extract had 48.674  $\mu\text{g/ml}$  as an IC<sub>50</sub> value. While vitamin C as a comparison has 5.223  $\mu\text{g/ml}$  as an IC<sub>50</sub> value. From the TLC results showed that the compounds suspected of providing antioxidant activity in the flower and stalk extracts were flavonoid compounds because they had the same R<sub>f</sub> values, which 0.35; 0.53; 0.66 on the plates that had been sprayed with DPPH and sitroborate. Extracts of leaves, flowers and stalks of forest betel have antioxidant activity with IC<sub>50</sub> of 47.252; 49.756 and 48.674  $\mu\text{g/ml}$  respectively and suspected the presence of flavonoid compounds that are responsible for the antioxidant activities of flower and stalk extract.

**Keywords:** *Piper aduncum*, antioxidant, DPPH, spectrophotometry UV-Vis, TLC

**Abstrak:** Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) termasuk tumbuhan genus *Piper*. Penelitian antioksidan berbagai genus *Piper* telah banyak dilakukan seperti *Piper crocatum* dan *Piper betle*, namun penelitian antioksidan pada sirih hutan masih sangat terbatas. Antioksidan alami dapat dimanfaatkan untuk meredam radikal bebas dalam upaya mencegah penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada bunga, daun dan tangkai sirih hutan serta kelompok senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan tersebut. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometri UV-Vis dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, pada ekstrak daun sirih hutan memiliki nilai IC<sub>50</sub> 47,252  $\mu\text{g/ml}$ , pada ekstrak bunga sirih hutan dengan nilai IC<sub>50</sub> 49,756  $\mu\text{g/m}$ , dan pada ekstrak tangkai sirih hutan dengan nilai IC<sub>50</sub> 48,674  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC<sub>50</sub> 5,223  $\mu\text{g/ml}$ . Dari hasil KLT, senyawa yang diduga memberikan aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga dan tangkai adalah senyawa flavonoid karena memiliki nilai R<sub>f</sub> yang sama yaitu 0,35;0,53;0,66 pada hasil plat yang telah disemprot DPPH dan sitroborat. Ekstrak daun, bunga dan tangkai sirih hutan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> berturut-turut 47,252; 49,756 dan 48,674  $\mu\text{g/ml}$  serta diduga adanya senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bunga dan tangkai.

**Kata kunci:** *Piper aduncum*, antioksidan, DPPH, spektrofotometri UV-Vis, KLT

<sup>1</sup> Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut, Garut, Jawa Barat, Indonesia

### Korespondensi:

Ria Mariani  
ria@uniga.ac.id



Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International License

## Pendahuluan

Stress oksidatif berperan besar akan terjadinya proses menua dan penyakit degeneratif seperti kanker, jantung koroner dan diabetes. Untuk mengatasi dan mencegah stress oksidatif, tubuh memerlukan antioksidan. Asupan antioksidan untuk tubuh dapat dipenuhi dengan antioksidan sintetis maupun antioksidan alami (1).

Tanaman telah lama digunakan oleh masyarakat di seluruh dunia sebagai obat. Tanaman obat tersebut memiliki kemampuan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk penyakit degeneratif. Tanaman obat merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Aktivitas antioksidan pada tanaman obat tersebut karena adanya kandungan metabolit sekunder, antara lain flavonoid, tanin dan polifenol (2).

Sirih hutan atau *Piper aduncum* L. merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati luka, melancarkan pencernaan dan sebagai antiseptik (3). Dari hasil penapisan fitokimia dilaporkan bahwa daun sirih hutan mengandung flavonoid, tanin, kuinon dan steroid (4).

Sirih hutan termasuk tumbuhan genus *Piper*. Penelitian antioksidan berbagai genus *Piper* telah banyak dilakukan seperti sirih merah atau *Piper crocatum* dan sirih hijau atau *Piper betle* L. Penelitian tersebut diantaranya melaporkan ekstrak metanol *Piper betle* menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> sebesar 17±0.24 µg/ml menggunakan metode DPPH, sedangkan ekstrak daun *Piper crocatum* menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> 3,98 µg/mL menggunakan metode DPPH (5,6). Adapun penelitian antioksidan sirih hutan masih jarang dilakukan. Untuk itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada bunga, daun dan tangkai sirih hutan serta kelompok senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan tersebut.

## Metode

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometri UV-Vis, kuvet, bejana

untuk kromatografi lapis tipis, pipa kapiler dan beberapa alat gelas lainnya.

### Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah DPPH ((2,2 difenil-1-pikrilhidrazil), vitamin C dari Sigma, plat kromatografi lapis tipis silika gel GF-254, serta beberapa pereaksi dan pelarut. Simplisia yang digunakan yaitu daun, bunga, dan tangkai sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang berasal dari Desa Pangrumasan, Kecamatan Peundeuy, Kabupaten Garut. Kemudian dilakukan determinasi tumbuhan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung untuk memastikan identitas tumbuhan yang digunakan. Bahan simplisia tersebut dicuci, dirajang, dikeringkan dan dibuat menjadi serbuk.

### Pemeriksaan karakterisasi simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan penetapan susut masing-masing simplisia bagian tanaman

### Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid.

### Ekstraksi

Simplisia sebanyak 635 g sirih hutan (*Piper aduncum* L.), yang terdiri dari 300 g daun, 135 g bunga, dan 200 g tangkai, dimaserasi dengan pelarut metanol dan dilakukan pergantian pelarut setiap 24 jam selama 3 hari. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dan ditampung ke dalam wadah tertutup rapat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

### Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan Handayani dkk (2014) dengan beberapa modifikasi. Setiap ekstrak dan vitamin C disiapkan dalam berbagai konsentrasi. Masing-masing konsentrasi sampel dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam vial, kemudian

ditambahkan dengan 2 ml larutan DPPH 50 µg/ml dan 1 ml metanol pa. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Absorban diukur dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum,, yaitu 516 nm terhadap blangko metanol. Dilakukan juga pengukuran absorbansi kontrol (4 ml larutan DPPH 50 µg/ml dan dibiarkan 30 menit ditempat gelap). Pengujian dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Setelah nilai absorbansi didapat dihitung, dihitung %inhibisi larutan dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = (A_k - A_s) / (A_k) \times 100\%$$

A<sub>k</sub>: Absorbansi kontrol

A<sub>s</sub>: Absorbansi sampel

Dari % inhibisi yang diperoleh, ditentukan nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi yang dapat menghambat 50% DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dari kurva regresi linier antara % inhibisi dan berbagai konsentrasi sampel (7).

### Kromatografi lapis Tipis

Ketiga ekstrak dianalisa dengan KLT menggunakan plat silika gel 60 F254 dan fase gerak n-toluen:etilasetat (9,5:0,5) yang merupakan fase gerak yang memberikan pemisahan paling baik. Hasil kromatografi disemprot dengan penampak bercak DPPH 0,2% dan sitroborat.

### Hasil dan Diskusi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun, bunga, dan tangkai sirih hutan. Masing-masing bahan setelah dilakukan sortasi basah dicuci dengan air mengalir agar kotoran

yang melekat hilang. Bahan dirajang agar mempercepat proses pengeringan. Setelah kering simplisia dibuat menjadi serbuk dengan tujuan untuk memperluas luas permukaan agar proses ekstraksi dapat lebih maksimal.

Tujuan dari karakterisasi simplisia adalah untuk mengetahui mutu dan kualitas dari simplisia yang digunakan. Hasil karakterisasi simplisia dapat dilihat pada **Tabel 1**. Pemeriksaan kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air yang terdapat pada simplisia. Hasil pemeriksaan diperoleh kadar air memenuhi persyaratan yaitu < 10% (8), sehingga dapat mencegah terjadinya pertumbuhan mikroorganisme pada serbuk simplisia karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu simplisia dengan kandungan air kurang dari 10% dapat disimpan dalam jangka waktu lama. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral yang terkandung dalam sampel. Pada proses penetapan kadar abu senyawa organik akan menguap, menyisakan senyawa anorganik (9). Penetapan kadar abu larut air untuk mengetahui jumlah logam alkali dan alkali tanah seperti Ca, K dan Na, sedangkan penentuan kadar abu tidak larut asam untuk mengetahui senyawa anorganik logam berat seperti Pb dan Hg. Penentuan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa yang tersari dengan pelarut air dan etanol dari suatu simplisia (8). Susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui banyaknya senyawa yang hilang pada proses pengeringan suhu 105°C

**Tabel 1.** Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia Daun, Bunga, dan Tangkai Sirih Hutan (*Piper aduncum L.*)

No	Parameter	Kadar (% b/b)		
		Daun	Bunga	Tangkai
1	Susut Pengeringan	4,60	5,67	6,00
2	Kadar Abu Total	4,23	2,37	1,47
3	Kadar Sari Larut Air	14,67	6,00	5,00
4	Kadar Sari Larut Etanol	8,33	5,67	2,67
5	Kadar Abu Tidak Larut Asam	2,16	0,78	0,48
6	Kadar Abu Larut Air	2,46	1,63	0,94
7	Kadar Air	*4,00	*4,67	*5,33

Keterangan : \*v/b

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel. Hasil penapisan fitokimia sampel dan ekstrak pada sampel dapat dilihat pada **Tabel 2**. simplisia dan ekstrak daun dan bunga mengandung flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin galat dan fenol. Sedangkan pada simplisia dan ekstrak tangkai mengandung flavonoid, saponin, tanin galat dan fenol. Dari penelitian sebelumnya simplisia daun mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, kuinon triterpenoid/steroid (4). Perbedaan ini disebabkan karena asal simplisia yang digunakan

berbeda. Tempat tumbuh tanaman yang berbeda dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder.

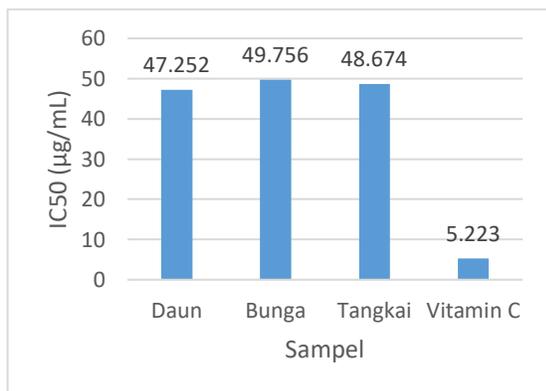
Hasil ekstraksi yang didapat dihitung rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak dihitung dari bobot ekstrak yang telah dipekatkan terhadap bobot simplisia. Hasil rendemen yang diperoleh dari ekstrak daun, bunga, tangkai sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang didapat dari bobot ekstrak simplisia pada daun sirih hutan adalah sebanyak 8,38%, bunga 7,56%, dan tangkai 2,58%.

**Tabel 2.** Hasil Penapisan Simplisia dan Ekstrak Daun, Bunga dan Tangkai Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

No	Metabolit Sekunder	Daun		Bunga		Tangkai	
		S	E	S	E	S	E
1	Alkaloid	-	-	-	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+	+	+	+
3	Saponin	-	-	-	-	+	+
4	Kuinon	-	-	-	-	-	-
5	Tanin						
	1. T. Galat	+	+	+	+	+	+
	2. T. Katekat	-	-	-	-	-	-
6	Steroid/ triterpenoid	+	+	+	+	-	-
7	Fenol	+	+	+	+	+	+

Keterangan : + = Terdeteksi; - = Tidak Terdeteksi; S = Simplisia; E = Ekstrak

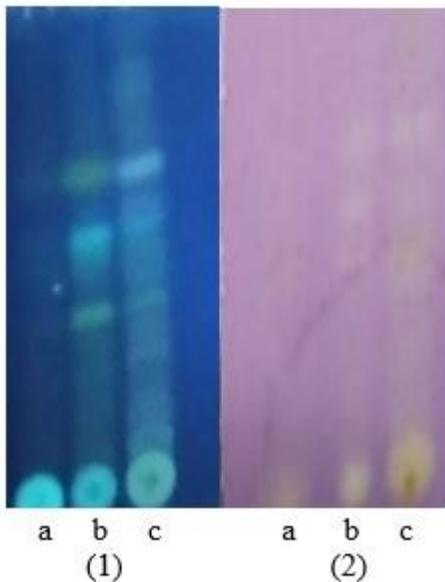
Hasil pengujian vitamin C terhadap DPPH dihasilkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,223. Sedangkan pengujian ekstrak daun sirih hutan terhadap DPPH menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> 47,252 µg/ml, ekstrak bunga sirih hutan dengan nilai IC<sub>50</sub> 49,756 µg/ml, dan ekstrak tangkai sirih hutan dengan nilai IC<sub>50</sub> 48,674 µg/ml (**Gambar 1**) Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration*) adalah konsentrasi antioksidan yang mampu menghambat 50% radikal bebas.



**Gambar 1.** Hasil uji aktivitas antioksidan

Kemudian dilakukan pemantauan identifikasi senyawa dengan menggunakan plat KLT silika gel GF254 dan fase gerak toluen : etil asetat (9.5; 0.5). Fase gerak tersebut dipilih karena memberikan hasil pemisahan yang paling baik. Plat KLT kemudian disemprotkan dengan penampak bercak DPPH 0,2% menimbulkan bercak warna kuning berlatar ungu menunjukkan adanya senyawa antioksidan pada beberapa ekstrak (10). Selanjutnya pada plat yang lain menggunakan sistem yang sama disemprotkan sitroborat menimbulkan bercak warna hijau fluoresensi pada sinar UV 365 nm yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan Rf 0,35; Rf 0,53; Rf 0,66 pada ekstrak bunga dan tangkai (**Gambar 2**)(11), sedangkan pada ekstrak daun tidak ada. Dari hasil KLT tersebut, senyawa yang diduga memberikan aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga dan tangkai adalah senyawa flavonoid karena memiliki nilai Rf yang sama yaitu 0,35;0,53;0,66 pada hasil plat yang telah disemprot DPPH dan sitroborat. Sedangkan pada ekstrak daun berdasarkan pustaka salah satu

senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan adalah senyawa 2,3-dimetoksi-metilenaoksi-benzena (12).



**Gambar 2.** Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak daun, bunga, tangkai sirih hutan dengan plat silika gel F<sub>254</sub> dan fase gerak toluen-etil asetat 9,5: 0,5. (Keterangan: a. Daun; b. Bunga; c. Tangkai; (1) Dibawah UV 365nm setelah disemprot sitroborat; (2) Setelah disemprot DPPH.)

### Kesimpulan

Ekstrak daun, bunga dan tangkai sirih hutan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> berturut-turut 47,252; 49,756 dan 48,674 µg/ml serta diduga adanya senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bunga dan tangkai.

### Referensi

1. Wedhasari A. Peran Antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 2014;3(2):59-68.
2. Krishnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R. A Review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*. 2011;89:217-233
3. Sitinjak SRH, Wuisan J, Mambo C. Uji efek ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap kadar gula darah pada tikus wistar (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal e-Biomedik*. 2016;4(2)
4. Insanu M, Marliani L, Dinilah NP. Perbandingan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun empat tanaman marga piper. *Pharmaciana*. 2017;(7) 2:305-12
5. Jayalakshmi B, Raveesha KA, Murali M, Amruthesh KN. Phytochemical, antibacterial and antioxidant studies on leaf extracts of *Piper betle* L. *Int J Pharm Pharm Sc*. 2015;7(10):23-29
6. Lister INE, Ginting CN, Girsang E, Armansyah A, Marpaung HH, Sinaga APF, Handayani RAS, Rizal R. Antioxidant properties of red betel (*Piper crocatum*) leaf extract and its compounds. *J Nat Rem*. 2019;19(4):198-205
7. Handayani V, Ahmad AR, dan Sudir M. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun dan bunga Patikala (*Etlingera Elatior* (Jack) R.M.Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharm Sci Res* 1(2): 88-89
8. Febriani D, Mulyanti D, Rismawati E. Karakterisasi simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Farmasi Spesia*. 2015 Agustus;475-80
9. Depkes RI. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta. 2000
10. Gu L, Wu T, Wang Z. TLC bioautography-guided isolation of antioxidants from fruit of *Perilla frutescens* var. *acuta*. *Jounal Food Sciences and Technology*. 2009;48(4):412-422
11. Ratulangi RY, Dahlia A, Ahmad AR. Penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanolik daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2014;1(1):14-17
12. Batan A, Daniel, Simanjuntak P. Isolasi senyawa kimia aktif antioksidan dari fraksi etilasetat daun sirih hutan (*Piper aduncum*). *Jurnal Atomik*. 2018;3(2):83