

**BIOASSAY-GUIDED EXTRACTION**  
**KOMPONEN AKTIF DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)**  
**SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Hardi Astuti Witasari<sup>1</sup>), Sukanya Dej-adisay<sup>2</sup>)  
Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Indonesia  
Faculty of Pharmaceutical Science Prince of Songkla University, Thailand

**ABSTRAK**

Antioksidan bertindak sebagai fungsi pertahanan yang melindungi dari kerusakan oksidatif. Antioksidan juga mempunyai kemampuan mengganti dan memperbaiki bagian yang mengalami kerusakan. Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) adalah tanaman yang memiliki kemampuan antioksidan untuk menghambat oksidasi asam lemak dan mengurangi radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk meneliti fraksi polar, semipolar atau nonpolar yang paling aktif sebagai antioksidan dari ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

Penelitian dilakukan dengan tahapan persiapan simplisia, pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah, pembuatan fraksi n-Heksana, etilasetat dan fraksi air, uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air dengan metode DPPH, analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak dan fraksi yang aktif sebagai antioksidan.

Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai Oktober 2015 di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan dan Laboratory of Pharmacognosy and Biological Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Thailand. Uji antioksidan dengan metode DPPH menghasilkan nilai ES 50 dari ekstrak adalah  $51,93 \pm 2,51$ , fraksi heksana  $210,69 \pm 1,73$ , fraksi etil asetat  $58,20 \pm 1,41$ , dan fraksi metanol air  $47,62 \pm 0,27$ . Pada uji ini digunakan quersetin sebagai pembanding yang mempunyai nilai ES 50 sebesar  $10,72 \pm 0,71$ .

Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi etanol-air mempunyai nilai ES 50 paling kecil dibandingkan fraksi lain dan ekstrakunya.

**Kata kunci:** *Antioksidan, DPPH, sirih merah*

**Pendahuluan**

Oksidasi penting bagi organisme hidup untuk memproduksi energi dan proses biologis. Namun, oksigen yang bersifat radikal bebas dan reaktif yang terus diproduksi secara *in vivo*, mengakibatkan kematian sel dan kerusakan jaringan (Arrul Doss *et al*, 2012). Kerusakan oksidatif yang

disebabkan oleh radikal bebas berhubungan dengan penuaan dan penyakit, seperti aterosklerosis, diabetes, kanker dan sirosis. Selain itu berhubungan juga dengan penyakit degeneratif termasuk kanker, penyakit jantung, penurunan sistem kekebalan, disfungsi otak dan katarak (Krithiga *et al*, 2014; Arrul Doss *et al*, 2012; phillipe *et al*, 2010)

Radikal bebas sebagai penyebab stres oksidatif tidak hanya dihasilkan secara alami di dalam sel setelah proses respirasi atau pada kondisi stres saja, tetapi juga diproduksi karena adanya radiasi, racun bakteri dan virus, merokok, alkohol, dan tekanan psikologis. Oleh karena itu diperlukan tambahan antioksidan melalui makanan dan minuman. Tanaman merupakan sumber obat untuk preventif, kuratif, pelindung atau promotif (Krithiga *et al*, 2014).

Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) adalah tanaman yang memiliki kemampuan antioksidan untuk menghambat oksidasi asam lemak dan mengurangi radikal bebas. Ekstrak etanol sirih merah sebanyak 200 ppm mampu menghambat oksidasi asam lemak sebesar 80,40%. Pada pengukuran menggunakan metode 2,2-diphenil-1-picryl hydrazyl (DPPH), menghasilkan IC<sub>50</sub> untuk penangkapan radikal bebasnya sebesar 85,82 ppm. Hasil tersebut berbeda tidak bermakna terhadap pembandingnya yaitu  $\alpha$ -tokoferol ( $p < 0,05$ ) (Alfarabi *et al*, 2010).

Khasiat sirih merah itu disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain flavonoid, alkaloid, poleanolad, tanin, dan minyak asiri. Senyawa flavonoid dan poleanolad bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan

antiinflamasi. Sedangkan senyawa alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Ngaisyah, 2010). Tujuan penelitian ini adalah untuk meneliti fraksi polar, semipolar atau nonpolar yang paling aktif sebagai antioksidan dari ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

### Metode

Penelitian dilakukan dengan metode observasional mulai bulan Juli sampai Oktober 2015 di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan serta dilakukan di Laboratorium Pharmacognosy Faculty of pharmaceutical Sciences Prince of Songkla University Thailand. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif, tanpa membandingkan tumbuhannya dengan tumbuhan daerah lain. Sampel yang digunakan daun sirih merah segar (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

Simplisia rajangan dimaserasi dengan etanol 70%, dibiarkan pada suhu kamar (28°-32°C) selama 2 hari terlindung dari cahaya dan sering diaduk, kemudian dipisahkan, ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% dan dilakukan dengan cara yang sama seperti di atas sampai diperoleh maserat jernih. Semua maserat diuapkan dengan bantuan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh

ekstrak etanol kental, kemudian ekstrak dikeringkan di *freeze dryer* hingga diperoleh ekstrak kering daun sirih merah (Alfarabi *et al*, 2010).

Ekstrak etanol ditambahkan n-heksan, dikocok dan dibiarkan sampai memisah. Fraksi n-heksan dipisahkan, selanjutnya difraksinasi kembali dengan pelarut n-heksan beberapa kali hingga diperoleh fraksi n-heksan yang jernih, kemudian terhadap sisa ditambahkan pelarut etilasetat (prosedur sesuai dengan fraksinasi n-heksan) sampai diperoleh fraksi etilasetat yang jernih, sisanya diperoleh fraksi etanol-air. Fraksi n-heksan, etilasetat, dan fraksi etanol-air masing-masing digabung menjadi satu selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* kemudian di *freeze dryer* hingga diperoleh ekstrak kering fraksi n-heksan, etilasetat dan fraksi etanol air (Alfarabi *et al*, 2010).

Preparasi sampel untuk uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya dilakukan dengan membuat konsentrasi 80,40, 20,10, dan 5 µg/ml masing-masing larutan uji. Berdasarkan hasil orientasi konsentrasi yang dibuat untuk fraksi heksan adalah 400, 200, 100, 50, dan 25 µg/ml. Selanjutnya diambil 2 ml dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,15 mM.

## Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini diperoleh fraksi heksan sebanyak 4,56 gram (27,03%), fraksi etil asetat sebanyak 1,7 gram (10,08%), dan fraksi etanol-air sebanyak 9,35 gram (55,42%) dari ekstraknya. Aktivitas antioksidan larutan uji yaitu ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air sebagai penangkapan radikal DPPH dinyatakan dalam % penangkapan radikal. Untuk membandingkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH antara larutan uji dengan quersetin sebagai pembanding positif digunakan juga parameter potensi aktivitas penangkapan radikal bebas. Parameter aktivitas penangkapan radikal bebas yang digunakan adalah ES50. ES50 merupakan konsentrasi senyawa uji yang menghasilkan aktivitas penangkapan radikal DPPH sebesar 50%. Harga ES50 dapat ditentukan menggunakan persamaan garis regresi linier antara konsentrasi sebagai sumbu X dan % penangkapan radikal sebagai sumbu Y.

Dari hasil pengujian dan perhitungan ES 50 pada ekstrak, tiap fraksi, dan control positif maka dapat dibuat rangkuman dan ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Sampel	% Penangkapan Radikal Bebas pada konsentrasi 100 µg/ml	ES50 (µg/ml)
Ekstrak	86,14 ± 4,29	51,93 ± 2,51
Fraksi heksan	26,51 ± 3,61	210,69 ± 1,73
Fraksi etil asetat	74,11 ± 2,24	58,20 ± 1,41
Fraksi etanol-air	90,96 ± 2,62	47,62 ± 0,27
Quersetin	91,98 ± 1,90	10,72 ± 0,71

Pada tabel 1. dapat dilihat bahwa % penangkapan radikal bebas pada larutan uji dengan konsentrasi yang sama pada masing-masing bahan (100 µg/ml), tertinggi adalah fraksi etanol-air yaitu sebesar 90,96% ± 2,62. Hasil ini sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan quersetin sebagai kontrol positif yang mempunyai % penangkapan radikal bebas sebesar 91,98% ± 1,90. Ekstrak sirih merah memberikan % penangkapan radikal bebas sebesar 86,14% ± 4,29. Nilai ini lebih rendah dibanding nilai fraksi etanol-air dan quersetin. Sedangkan fraksi etil asetat dan heksan mempunyai nilai % penangkapan radikal bebas lebih kecil dibandingkan ekstraknya.

Pada tabel 1. dapat dilihat bahwa nilai ES 50 pada larutan uji yang terendah adalah fraksi etanol-air yaitu sebesar 47,62 µg/ml ± 0,27. Nilai ini masih lebih tinggi jika dibanding dengan quersetin sebagai kontrol positif yang memberikan nilai ES

50 sebesar 10,72 µg/ml ± 0,71. Ekstrak sirih merah mempunyai nilai ES 50 sebesar 51,93 µg/ml ± 2,51. Nilai ini relatif lebih tinggi dibanding fraksi etanol-air dan quersetin.

Hasil tersebut menggambarkan bahwa ekstrak etanol sirih merah berpotensi sebagai antioksidan. Fraksi yang mempunyai efek antioksidan tertinggi adalah fraksi etanol-air (polar), baik didasarkan pada nilai % penangkapan radikal bebas maupun nilai ES 50 nya. Oleh karena itu, direkomendasikan untuk selanjutnya dicari komponen paling aktif sebagai antioksidan dari fraksi etanol-air.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa zat aktif terlarut pada pelarut polar. Efek antiproliferasi daun sirih merah pada sel kanker payudara (T47D) secara invitro menggunakan pelarut metanol untuk mengekstraksi daun sirih merah (Wicaksono *et al.*, 2009). Demikian juga

pada uji aktivitas hipoglikemia daun sirih pada tikus putih yang menggunakan pelarut etanol untuk mengekstraksi daun sirih merah (Yesi *et al.*, 2014). Aktivitas antiproliferatif dan efek hipoglikemia erat kaitannya dengan aktivitas antioksidan. Kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas berhubungan dengan penuaan dan penyakit, seperti aterosklerosis, diabetes, kanker dan cirrhosis. Selain itu berhubungan juga dengan penyakit degeneratif termasuk kanker, penyakit jantung, penurunan sistem kekebalan, disfungsi otak dan cataracts (Krithiga *et al.*, 2014; Arrul Doss *et al.*, 2012; phillipe *et al.*, 2010).

Penelitian lanjutan secara *bioassay-guided* pada daun sirih merah belum banyak dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini sangat potensial untuk dilanjutkan. Proses pemisahan komponen-komponen yang ada dalam fraksi etanol-air dan uji aktifitas antioksidannya dapat menjadi jalan ke arah penemuan senyawa antioksidan baru.

### Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai efek antioksidan dengan nilai % penghambatan radikal bebas sebesar 86,14 %  $\pm$  4,29 pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dan nilai ES 50 sebesar 51,93  $\mu\text{g/ml}$

$\pm$  2,5 dan Fraksi etanol-air mempunyai efek antioksidan tertinggi dengan nilai % penghambatan radikal bebas sebesar 90,96%  $\pm$  2,62 pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dan nilai ES sebesar 47,62  $\mu\text{g/ml}$   $\pm$  0,27 dibanding fraksi heksan dan etil asetat.

### PUSTAKA

- Alfarabi M, Bintang M, Suryani, Safitri M. 2010. The Comparative Ability of Antioxidant Activity of Piper crocatum in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *Hayati Journal of biosciences*. Vol 17 (4)
- Arul Dos V. 2012. In Vitro Antimicrobial And Antioxidant Activity Scrinning Of Adrographis Paniculata Leaf Ethanolic Extract In Tamil Nandu. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 4.
- Krithiga N, Jayachitra A, Rajalakshmi A and Gopal P. 2014. Study on Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Selected Medicinal Plants. *International Journal of Ethnobiology & Ethnomedicine*. Vol: 1, 1-12
- Ngaisah S. 2010. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Asal Magelang. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Philippe BA, Karine N, Barthélemy AK, Noël ZG, David NJ, Joseph DA, Hosttetmann K. 2010. Bio-guided Isolation of Antioxidant

Compounds from *Chrysophyllum perpulchrum*, a Plant Used in the Ivory Coast Pharmacopeia. *Molecules*, Vol 15, 6386-6398.

Reveny J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). *Jurnal ILMU DASAR*, Vol. 12 No. 1: 6-12

Wicaksono BD, Handoko YA, Arung ET, Kusuma IW, Yulia D, Pancaputra AN, Sandra F. 2009. Antiproliferative Effect of the Methanol Extract of *Piper crocatum* Ruiz & Pav Leaves on Human Breast (T47D) Cells In-vitro. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 8 no 4.

Yesy Febnica Dewi, Made Suma Anthara, A.A. Gde Oka Dharmayudha. 2014. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Yang Di Induksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana* , Vol. 6 No. 1