



Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Hasil Optimasi Pelarut Etanol-Air

(Antioxidant Activity of Red Bettle Leaves Extract (*Piper crocatum*) as a Result of Optimization of Ethanol-Water Solvents)

AGATHA BUDI SUSIANA LESTARI*, YOHANES DWIATMAKA

**Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma
Kampus III, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55282.**

Diterima 15 April 2013, Disetujui 23 September 2013

Abstrak: Sirih merah (*Piper crocatum*), adalah salah satu tanaman yang telah banyak diteliti dan terbukti memiliki beragam aktivitas biologis. Dalam pemanfaatannya, biasanya daun sirih merah mengalami proses ekstraksi terlebih dahulu untuk mendapatkan zat berkhasiat. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi komposisi campuran pelarut antara etanol (digunakan etanol murni 96%) dan air dalam proses ekstraksi daun sirih merah dengan persentase (%) perbandingan 100:0 (P1), 75:25 (P2), 50:50 (P3), 25:75 (P4), dan 0:100 (P5). Desain percobaan dalam penelitian ini menggunakan *Simplex Lattice Design* (SLD). Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari komposisi optimum cairan penyari yang menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang paling besar. Aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan ditetapkan dengan metode penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH (*diphenylpicryl hydrazyl*) dan dilihat berdasarkan parameter EC_{50} . Hasil percobaan menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan dari campuran pelarut pada komposisi etanol:air dengan prosentase (%) 75:25 (P2) mempunyai aktivitas antioksidan yang paling besar, dibuktikan dengan nilai EC_{50} yang paling kecil, yaitu 301,10 $\mu\text{g/ml}$.

Kata kunci: Sirih merah, *Piper crocatum*, optimasi pelarut, antioksidan, DPPH.

Abstract: Red bettle (*Piper crocatum*) is one of the plants which is extensively explored and has many biological activity. In this research, it is done the optimization of 96% ethanol and water composition as solvents in the process of extraction of red bettle leaves in percentage ratio of 100:0 (P1), 75:25 (P2), 50:50 (P3), 25:75 (P4), and 0:100 (P5) using *Simplex Lattice Design* (SLD). The aim of this research were to find the optimum composition of solvent which can obtain extract with the highest antioxidant activity. The antioxidant activity of red bettle leaves extract was measured by radical scavenging method using DPPH (*diphenylpicryl hydrazyl*), and assessed using parameter of EC_{50} . The result showed that red bettle leaves extract which produced with ethanol-water as a solvent in percentage (%) of 75:25 (P2) has the highest antioxidant activity, with the smallest EC_{50} 's value of 301,10 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: Red bettle, *Piper crocatum*, solvent optimization, antioxidant activity, DPPH.

* Penulis korespondensi, Hp. 081391054905
e-mail: a_budi@usd.ac.id



PENDAHULUAN

DEWASA ini, pengobatan dengan menggunakan bahan alam kembali menjadi pilihan yang berkembang di masyarakat, karena dipercaya bahwa obat bahan alam memiliki efek samping yang relatif lebih ringan dibandingkan dengan obat sintetik. Hal ini mendorong eksplorasi dan penelitian yang mendalam dari bahan alam tersebut, salah satunya adalah sirih merah (*Piper crocatum*). Beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan pemberian ekstrak daun sirih merah pada dosis tertentu dapat memberikan efek antioksidan⁽¹⁾.

Untuk memudahkan penggunaannya, biasanya daun sirih merah ini dibuat dalam bentuk ekstrak terlebih dahulu. Ekstrak dapat dibuat dengan beberapa cara, mulai dari yang sederhana, misalnya secara infudasi (metode penyarian dengan cara menyari simplisia dalam air pada suhu 90 °C selama 15 menit, biasanya untuk menyari senyawa aktif yang larut dalam air⁽²⁾), maserasi (dengan cara simplisia direndam menggunakan pelarut bukan air/nonpolar atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian), perkolasi (dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi), sampai ke metode yang lebih kompleks, misalnya penyarian berkesinambungan.

Dalam proses penyarian, ditetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang umum digunakan adalah air, etanol, campuran air-etanol, atau eter⁽³⁾. Langkah yang dapat dilakukan guna meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran penyari antara etanol dan air.

Dalam penelitian ini, dilakukan optimasi komposisi campuran etanol (digunakan etanol 96%) dan air sebagai cairan penyari pada proses ekstraksi daun sirih merah untuk mendapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling besar. Metode optimasi yang digunakan adalah *Simplex Lattice Design* (SLD). Metode SLD merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan formula optimum dari suatu campuran. Dalam desainnya, jumlah total bagian komposisi campuran dibuat tetap, yaitu sama dengan satu⁽⁴⁾.

Untuk mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan, digunakan metode penangkapan radikal bebas dengan menggunakan *diphenylpicryl hydrazyl* (DPPH). Parameter EC_{50} (*efficient concentration 50*) digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan, bahwa semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa, maka semakin rendah nilai EC_{50} yang dihasilkan⁽⁵⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Simplisia daun sirih merah yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, DPPH, etanol 96% (teknis), air suling, metanol (*p.a.*, E. Merck).

METODE. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Merah. Tahap ini diawali dengan penyortiran simplisia daun sirih merah segar dan dilanjutkan dengan pembuatan serbuk menggunakan *grinder* kemudian diayak sampai diperoleh serbuk daun sirih merah dengan derajat halus tertentu.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah secara Maserasi dengan Variasi Komposisi Etanol-Air. Serbuk daun sirih merah diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut seperti tertera dalam Tabel 1. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara lima gram (satu bagian) serbuk daun sirih merah dimasukkan ke dalam maserator, ditambah 10 bagian pelarut, diaduk terus selama 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses maserasi diulang 2 kali dengan prosedur yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Tabel 1. Persentase (%) komposisi etanol-air pada proses ekstraksi daun sirih merah.

Percobaan (P)	Etanol	Air
I	100	0
II	75	25
III	50	50
IV	25	75
V	0	100

Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah dengan Metode Penangkapan Radikal Bebas Menggunakan DPPH. Tahap ini diawali dengan pembuatan larutan stok dan larutan seri DPPH, pembuatan standard rutin (sebagai pembanding) dan pembuatan larutan uji ekstrak daun sirih merah. Pengukuran diawali dengan penetapan panjang gelombang maksimum dan *operating time*, dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi larutan DPPH, larutan pembanding dan larutan uji, diakhiri dengan perhitungan estimasi aktivitas antioksidan menggunakan parameter EC_{50} . Data EC_{50} dari tiap formula dianalisis dengan pendekatan SLD untuk menghitung koefisien a, b, ab sehingga didapatkan persamaan $Y = a(A) + b(B) + ab(A)(B)$. Berdasarkan persamaan ini kemudian dapat dibuat suatu profil yang menggambarkan nilai EC_{50} yang dihasilkan pada berbagai komposisi etanol dan air sebagai pelarut. Hasil profil yang diperoleh berdasarkan



rumus digunakan untuk menentukan komposisi cairan penyari yang optimal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Merah.

Setelah disortasi dalam kondisi segar, dicuci bersih kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan, daun sirih merah selanjutnya diserbuk dengan menggunakan *grinder* (mesin penyerbuk) dengan ayakan nomor *mesh* 50 agar diperoleh serbuk halus. Kemudian serbuk disimpan dalam wadah tertutup rapat agar melindungi isi dari masuknya debu maupun partikel lain.



Gambar 1. Serbuk simplisia daun sirih merah.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah. Daun segar sirih merah yang diproses pada tahap orientasi sebanyak 6 kg, diperoleh dari daerah Tawangmangu. Dari 6 kg daun segar ini setelah diserbuk diperoleh 800,2 g, sehingga rendemen yang diperoleh adalah 13,33%. Serbuk daun ini kemudian diekstraksi dengan pelarut yang terdiri dari campuran air-etanol dengan proporsi yang berbeda-beda sesuai Tabel 1. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum evaporator* untuk menguapkan sebagian pelarut. Ekstrak pekat hasil pemekatan menghasilkan warna seperti pada Gambar 2. Ekstrak pekat tersebut kemudian diuapkan lagi sampai diperoleh bobot tetap.

Tabel 2. Nilai *operating time* setiap percobaan.

Percobaan (P)	<i>Operating time</i> (menit)
I	60-80
II	50-60
III	40-50
IV	60-70
V	60-70

Penetapan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kental Daun Sirih Merah. Penetapan aktivitas antioksidan didahului dengan pengukuran *operating time*, yang bertujuan untuk mengetahui waktu yang tepat untuk pengukuran suatu senyawa, dimana reaksi terjadi secara optimal. Pada rentang waktu tersebut, senyawa berada dalam keadaan reaksi sempurna. Hal ini ditujukan untuk meminimalkan kesalahan dalam hal pengukuran.

Berdasarkan data pada Tabel 2, ekstrak pada percobaan III (persentase pelarut etanol-air 50%:50%) mempunyai *operating time* yang paling pendek dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dari campuran pelarut dengan persentase yang lain.

Selain *operating time*, juga dilakukan penentuan panjang gelombang serapan maksimum, yang bertujuan untuk menentukan panjang gelombang dimana senyawa yang ingin diukur dapat memberikan serapan yang paling tinggi. DPPH mampu memberi serapan karena mempunyai gugus kromofor dan auksokrom pada struktur kimianya. Adanya delokalisasi elektron pada DPPH akan menghasilkan warna violet. Panjang gelombang teoritis untuk pengukuran DPPH berkisar antara 515-520 nm⁽⁵⁾. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum menggunakan larutan kontrol yaitu larutan DPPH yang dilarutkan dalam metanol *p.a.* Data yang diperoleh tertera pada Tabel 3⁽⁶⁾.

Berdasarkan data pada Tabel 3, panjang gelombang



Gambar 2. Ekstrak kental daun sirih merah.

Keterangan:

- P I : Ekstrak kental hasil maserasi dengan pelarut etanol : air = 100% : 0%
 P II : Ekstrak kental hasil maserasi dengan pelarut etanol : air = 75% : 25%
 P III : Ekstrak kental hasil maserasi dengan pelarut etanol : air = 50% : 50%
 P IV : Ekstrak kental hasil maserasi dengan pelarut etanol : air = 25% : 75%
 P V : Ekstrak kental hasil maserasi dengan pelarut etanol : air = 0% : 100%



Tabel 3. Panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,4 mM.

Konsentrasi larutan DPPH	1 mL/ 10 mL	2 mL/ 10 mL	3 mL/ 10 mL
Panjang gelombang (λ) maksimum (nm)	516	515,5	515,5

maksimal hasil pengukuran untuk larutan DPPH sesuai dengan teori, masuk dalam kisaran 515-520 nm. Oleh karena itu, dalam pengukuran berikutnya dilakukan pada panjang gelombang 515,5 nm.

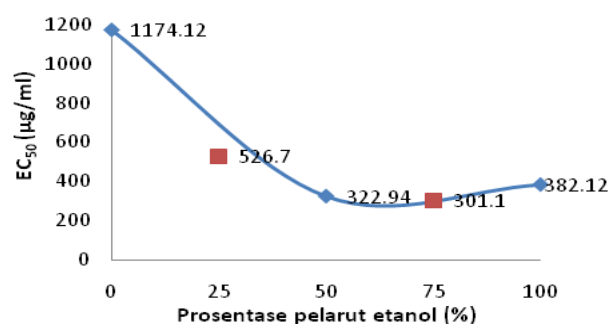
Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah. Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. DPPH merupakan suatu radikal stabil dalam larutan air atau metanol dan mampu menerima sebuah elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul yang stabil⁽⁷⁾. DPPH ini ditangkap oleh antioksidan yang kemudian akan melepaskan radikal hidrogen, sehingga membentuk senyawa DPPH-H. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna. Penghilangan warna ini sebanding dengan jumlah radikal DPPH yang berhasil ditangkap oleh senyawa antioksidan yang ada di dalam ekstrak daun sirih merah. Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih merah diketahui dari adanya penurunan serapan DPPH. Absorbansi DPPH akan mengalami penurunan seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel yang ditambahkan.

Data yang tertera pada Tabel 4 menunjukkan nilai EC_{50} untuk setiap ekstrak yang dihasilkan dari berbagai campuran pelarut. EC_{50} dalam hal ini didefinisikan sebagai konsentrasi yang dapat menyebabkan penurunan 50% dari konsentrasi DPPH awal. Semakin kecil nilai EC_{50} menunjukkan kemampuan antioksidan yang dimiliki semakin besar. Terlihat bahwa ekstrak (P2) yang dihasilkan dari campuran pelarut etanol:air dengan persentase (%) 75:25 mempunyai nilai EC_{50} paling kecil, yaitu 301,10 $\mu\text{g/ml}$. Dengan kata lain, dibutuhkan ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 301,10 $\mu\text{g/ml}$ untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak (P2) yang dihasilkan dari proses ekstraksi dengan pelarut etanol-air 75%:25% memiliki kemampuan antioksidan yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dari komposisi pelarut lainnya dalam penelitian ini.

Tabel 4. Nilai EC_{50} masing-masing percobaan.

	P I	P II	P III	P IV	P V
Nilai EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	382,12	301,10	322,94	526,70	1174,12

Daun sirih merah mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, senyawa polifenolat dan minyak atsiri⁽⁸⁾, dimana senyawa aktif tersebut sedikit banyak dapat berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Campuran pelarut etanol-air dengan persentase yang berbeda-beda dalam penelitian ini akan memberikan polaritas yang berbeda pula, yang akhirnya akan mempengaruhi jumlah dan jenis senyawa kimia yang akan tersari. Berdasarkan data pada Tabel 4, semakin non polar sistem pelarut (persentase pelarut etanol semakin besar) tidak menjamin bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan akan semakin besar. Demikian juga sebaliknya, semakin polar sistem pelarut (persentase pelarut air semakin besar) juga tidak menjamin bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan akan semakin besar, karena justru nilai EC_{50} yang paling besar. Dibutuhkan sistem pelarut dengan polaritas tertentu yang dapat menghasilkan ekstrak daun sirih merah dengan aktivitas antioksidan terbesar.

**Gambar 3. Kurva persentase campuran pelarut etanol-air (%) vs nilai EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) ekstrak daun sirih merah.**

Gambar 3 menunjukkan profil nilai EC_{50} dari ekstrak daun sirih merah yang dihasilkan dari berbagai persentase campuran pelarut etanol-air. Profil tersebut menunjukkan bahwa pada campuran pelarut etanol-air pada persentase tertentu akan menghasilkan nilai EC_{50} yang paling kecil, karena kurva yang terbentuk cekung membuka ke atas. Persamaan SLD yang diperoleh dari data tersebut adalah: $Y=382,121(X1)+1174,116(X2)-1820,704(X1)(X2)$, dimana Y adalah respon (hasil) percobaan, X1 adalah proporsi etanol, X2 adalah proporsi air.

SIMPULAN

Ekstrak daun sirih merah hasil proses ekstraksi dengan pelarut campuran etanol-air dengan perbandingan 75:25% (P2) memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar (dibuktikan dengan nilai EC_{50} yang paling kecil, yaitu 301,10 $\mu\text{g/ml}$), jika dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut campuran



etanol-air pada persentase yang lain dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP2M DIKTI atas dana penelitian yang telah diberikan melalui Hibah Bersaing yang berjudul “Standardisasi Ekstraksi dan Optimasi Formula Sediaan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)” tahun 2012 yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Juga kepada anggota tim penelitian (Yunita Linawati, Elisa Aster Nugroho, Lilia Cresensia Yuniarty Rogan, Denny).

DAFTAR PUSTAKA

1. Suratmo. 2010. Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. Diambil dari http://fisika.brawijaya.ac.id/bss-ub/PDF_FILES/BSS_205_1.pdf, diakses Maret, 2010.
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sediaan galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1986. p.16-17.
4. Bolton S. Pharmaceutical statistics, practical and clinical application. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker Inc.;1997. 308-37.
5. Molyneux P. The use of stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004. 26 (2) : 211-19.
6. Lestari ABS, Dwiatmaka Y. Standardisasi ekstraksi dan optimasi formula sediaan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*). Laporan Penelitian. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma; 2012.
7. Sunarni T, Pramono S, Asmah R. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f.&Th.). Majalah Farmasi Indonesia. 2007. 18(3): 111-16.
8. Sudewo B. Basmi penyakit dengan sirih merah. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2006. 22, 35-36.

