

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI BUAH SIRIH HUTAN (*Piper cubeba*) DENGAN METODE DPPH

Leo Budiarmo¹⁾, Edi Suryanto²⁾ dan Sri Sudewi¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

¹⁾Program Studi Kimia FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

This study was intended to determine the antioxidative effects from the fraction of betel (*Piper cubeba*) fruits. Betel fruits was dried with wind dried method for 3 days, and extracted with maseration method with Ethanol 80%. Furthermore betel fruits extract liquid successively fractioned using petroleum eter, etyl acetate, butanol, ethanol and aquades. The antioxidative effect of the fraction were determined by 1,1-diphenyl-2-pycrylhydrazyl (DPPH). Total phenolic content were determined using Folin-Ciocalteu method. The result of this study indicate that the butanol fraction has the highest content of total phenolic followed by etyl acetate, petroleum eter, aquades and ethanol. Total phenolic content of a row is 38.67; 30.30; 28.87; 25.00 and 19.89 mg/kg. Butanol fraction also has the highest antioxidative effect than the other fraction. This research concludes fraction of butanol can act as antioxidant as well, and betel fruits can be a natural antioxidant resources.

Key words : betel fruit, antioxidant, fraction, total phenolic content, DPPH

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek antioksidan dari fraksi buah sirih hutan (*Piper cubeba*). Buah sirih hutan dikeringkan dengan cara dianginkan selama 3 hari, dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Kemudian ekstrak buah sirih hutan difraksinasi berturut turut dengan pelarut petroleum eter, etil asetat, butanol, etano, dan aquades. Efek antioksidan dari fraksi ditentukan dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-pycrylhydrazyl (DPPH). Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi butanol memiliki kandungan total fenolik tertinggi diikuti fraksi etil asetat, petroleum eter, aquades dan etanol. Kandungan total fenolik berturut-turut adalah 38.67; 30.30; 28.87; 25.00 dan 19.89 mg/kg. Fraksi butanol juga memiliki efek antioksidan dibandingkan dengan fraksi lain. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa fraksi butanol dapat berperan sebagai penangkal radikal bebas dan buah sirih hutan bisa digunakan sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci : Buah sirih hutan, antioksidan, fraksi, kandungan total fenol, DPPH

PENDAHULUAN

Alam menyediakan kebutuhan hidup manusia mulai dari makanan sampai udara. Seiring majunya kehidupan manusia dan populasi manusia yang semakin bertambah dari tahun ke tahun, lingkungan sekitar tempat manusia hidup menjadi tercemar. Lingkungan tercemar oleh aktivitas manusia sendiri mulai dari sampah yang dibuang sembarang tempat, asap kendaraan bermotor, pembakaran hutan, dan sumber pencemaran lainnya. Keseimbangan yang terganggu ini dapat menimbulkan dampak yang tidak sehat terutama kepada manusia karena ketergantungannya pada alam sekitar. Lingkungan yang mulai rusak ini dapat membahayakan kesehatan manusia, salah satu penyebabnya ialah terbentuknya radikal bebas yang berbahaya. Radikal bebas sebagai molekul atau atom dengan elektron bebas dalam jumlah normal dapat berfungsi dalam membunuh virus dan bakteri, namun dalam jumlah sangat banyak dan energi yang sangat besar zat ini dapat merusak jaringan normal, mengganggu produksi DNA, merusak dinding sel khususnya lapisan lipid, serta mempengaruhi pembuluh darah (Halliwell, 1991).

Radikal bebas dapat merusak sel dalam tubuh dengan mengambil elektron molekul dalam sel sehingga keseimbangan sel terganggu dan dapat menyebabkan kematian sel. Radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan sehingga menjadi lebih stabil dan tidak mengoksidasi molekul dalam sel tubuh (Gordon, 1990).

Antioksidan ialah molekul yang dengan mudah dapat memberikan elektronnya ke molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan molekul radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang tidak diinginkan dalam sel. Antioksidan dapat diperoleh secara alami yang banyak terdapat dalam tanaman dan juga dapat dibeli, umumnya berupa antioksidan sintetik (Widowati, 2011).

Tanaman sirih hutan (*Piper cubeba*), khususnya pada bagian daun sangat kaya akan zat berkhasiat. Diantaranya terdapat minyak atsiri, hidroksi kavikol, kavikol, kavibetol, allylpirokatekol, sineol, kariopilen, kadinen, estragol, terpenena, sesquiterpena, fenil propana, tanin, diatase, gula, pati dan eugenol. Informasi tentang kadar senyawa fenolik dan sifat antioksidan yang terdapat pada buah sirih hutan belum diketahui. Informasi mengenai sifat antioksidan tanaman ini penting untuk diketahui bila ingin menjadikan buah sirih hutan sebagai tanaman sumber antioksidan (Tjitrosoepomo, 2000).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah sirih hutan yang berasal dari daerah Ratahan. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 80%, petroleum eter, etil asetat, butanol, reagen Folin-Ciocalteu 50%, larutan natrium karbonat, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,2%. Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas *pyrex*, mikropipet, spatula, vorteks, kertas saring, ayakan 65 mesh, aluminium foil, rotary evaporator, spektrofotometer uv-vis (*Genesys 20*), timbangan analitik, alat penggiling, Sentrifuse, waterbath, oven.

Preparasi Sampel

Buah sirih hutan dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air yang mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan 3-4 hari kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan 65 mesh, ditimbang sebanyak 50 g.

Ekstraksi Buah Sirih Hutan

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Sebanyak 50 g serbuk dimasukkan dalam erlenmeyer (500 mL) kemudian rendam menggunakan 200 mL pelarut etanol 80% lalu ditutup dengan aluminium

foil dan didiamkan selama 24 jam, kemudian saring dan ditambahkan pelarut 200 mL dan diadkan 24 jam. Seterusnya lakukan cara yang sama hingga pelarut menjadi bening. Pekatkan ekstrak yg diperoleh dengan menggunakan vakum rotary evaporator pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak pekat buah sirih.

Fraksinasi

Ekstrak pekat buah sirih difraksinasi dengan 4 macam pelarut dan menghasilkan 5 macam fraksi yaitu fraksi etanol (Et), butanol (Bu), etil asetat (Ea), petroleum eter (Pe) dan air (Aq). Ekstrak Et buah sirih hutan difraksinasi dengan Pe menggunakan corong pisah, dikocok kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan Aq dan Pe, ambil lapisan Pe. Lakukan beberapa kali sampai lapisan Pe menjadi bening. Lapisan air kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut Ea, Bu, dan Et. Sisa dari proses fraksinasi dianggap sebagai fraksi air (Aq). Semua Fraksi Aq, Et, Bu, Ea, Pe, dipisahkan dengan evaporator kemudian hasil evaporasi dimasukkan ke dalam oven hingga fraksi menjadi kental.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik ekstrak buah sirih hutan ditentukan menggunakan metode Folin Ciocalteu (Conde, 1997). Sebanyak 0,1 mL larutan fraksi konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya dibaca pada λ 750 nm.

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menurut Burda dan Olezek (2001). Sebanyak 0,1 mL masing-masing

ekstrak ditambahkan dengan 1,5 mL larutan fraksi 1000 µg/mL, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,2 % dalam etanol dan divorteks selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi control}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel buah sirih hutan yang telah dikeringkan 3-4 hari dengan tujuan untuk menghilangkan kandungan air dalam pelarut yang berakibat ekstraksi menjadi lebih sulit dan memerlukan waktu yang lama (Pomeranz dan Meloan, 1994). Sampel dihaluskan dan diayak dengan ayakan 65 mesh untuk memudahkan proses ekstraksi. Makin kecil ukuran partikel maka makin besar luas permukaannya sehingga makin banyak bagian sampel yang berinteraksi dengan pelarut (Pomeranz dan Meloan, 1994).

Ekstraksi Sampel

Buah sirih hutan diekstraksi dengan pelarut etanol 80%. Digunakan etanol karena etanol adalah pelarut yang bersifat polar, hal ini dimaksudkan agar semua komponen yang bersifat polar dalam sampel dapat terekstrak.

Fraksinasi Sampel

Ekstrak difraksinasi menjadi 5 macam fraksi. Pelarut untuk fraksinasi dipilih dari bermacam macam tingkat kepolaran yaitu air, etanol, butanol, etil asetat dan petroleum eter. Hal ini dimaksudkan agar metabolit sekunder yang terekstraksi dalam etanol 80% dapat dikelompokkan

menjadi lebih spesifik sesuai kepolaran masing-masing metabolit sekunder.

Kandungan Total Fenolik Fraksi Buah Sirih Hutan

Kandungan total senyawa fitokimia dari Fraksi buah sirih hutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL dapat dilihat pada tabel 1.

Pada saat direaksikan antara reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik akan terjadi perubahan warna dari kuning menjadi biru. Menurut Singleton dan Rossi (1965), Warna biru yang teramati berbanding lurus dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Fenolat hanya terdapat pada larutan basa, tetapi pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya tidak stabil pada kondisi basa. Nely (2007) mengatakan, penambahan Na₂CO₃ pada uji fenolik bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin-Ciocalteu oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel.

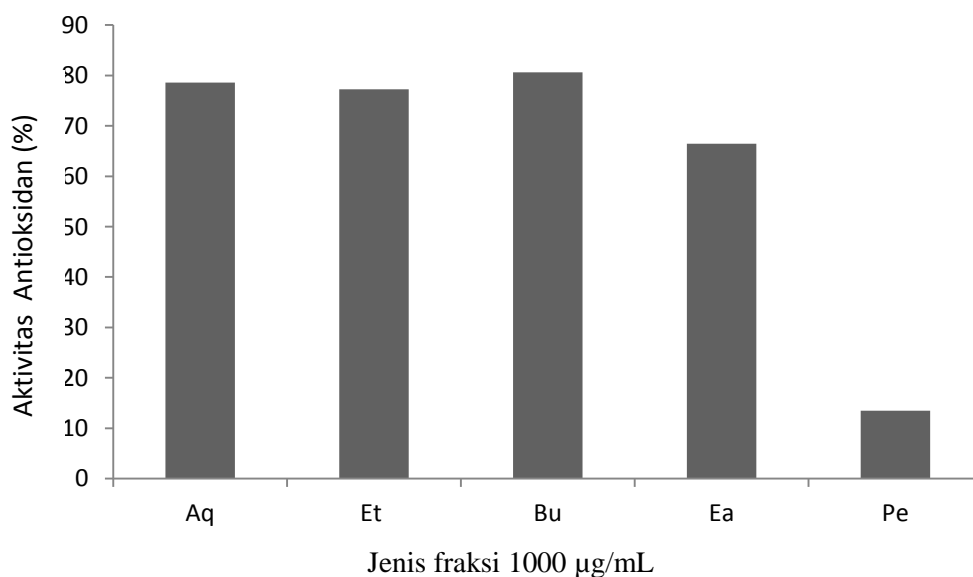
Tabel 1. Kandungan total senyawa fitokimia (mg/kg)

Fraksi	Fenolik
Aquades (Aq)	25,00±0,05
Etanol (Et)	19,89±0,03
Butanol (Bu)	38,67±0,05
Etil asetat (Ea)	30,30±0,00
Petroleum eter (Pe)	28,87±0,00

Tabel 1 menunjukkan bahwa fraksi buah sirih hutan memiliki total fenol yang tinggi. Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa fenolik bersifat polar sehingga fenol terlarut lebih banyak pada fraksi Bu. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Larson (1988) dan Shahidi (1997) bahwa komponen fenolik dari tanaman secara umum bersifat polar. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang terdapat pada fraksi buah sirih hutan merupakan senyawa fenol yang bersifat polar.

Aktivitas Antioksidan Fraksi Buah Sirih Hutan

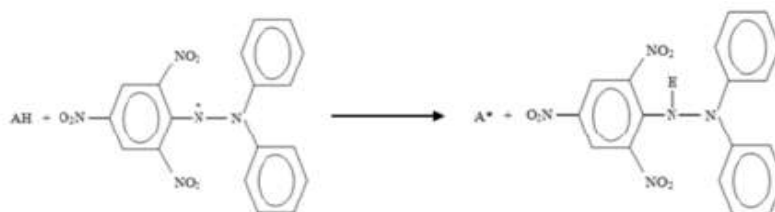
Aktivitas antioksidan dari fraksi buah sirih hutan dengan metode DPPH dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas antioksidan fraksi Aquades, Etanol, Butanol, Petroleum eter dan Etil asetat

Perubahan warna ungu menjadi kuning pada uji aktivitas antioksidan menandakan terbentuknya radikal antioksidan. Semakin banyak atom H dari suatu senyawa antioksidan yang

didonorkan pada DPPH maka semakin banyak radikal antioksidan yang terbentuk (Suratmo dalam Lomempow, 2012). Reaksi DPPH dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Reaksi DPPH

Gambar 1 menunjukkan Fraksi dari Bu memiliki aktivitas yang paling tinggi yaitu 80,60 % . Hasil ini sejalan dengan kandungan total fenol yang menunjukkan fraksi Bu memiliki kandungan yang lebih tinggi daripada fraksi lain. Pada fraksi Aq dan Et juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu 78,57 % dan 77,24 % walaupun kedua fraksi ini menunjukkan kandungan total fenol yang paling rendah. Fraksi Pe menunjukkan kadar fenol yang tinggi namun aktivitas antioksidannya rendah, diduga fraksi ini banyak mengandung lignin karena tidak semua senyawa fenol yang diekstrak dalam pelarut alkohol merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Contohnya saja lignin yang berfungsi sebagai bahan pembentuk dinding sel tanaman juga termasuk kedalam golongan fenol namun fungsinya sebagai antioksidan belum diketahui (Maulida. R, 2007).

PENUTUP

Kesimpulan

Menurut hasil penelitian yang didapat, dapat disimpulkan bahwa semua fraksi buah sirih hutan memiliki senyawa fenol dengan kandungan total fenol tertinggi terdapat pada fraksi butanol diikuti etil asetat, petroleum eter, aquades, dan etanol. Untuk antivitas antioksidan

tertinggi terdapat pada fraksi butanol diikuti aquades, etanol, etil asetat, dan petroleum eter. Hasil ini semua fraksi buah sirih hutan memiliki aktifitas antioksidan sehingga buah sirih hutan dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Burda, S. dan W. Olezek. 2001. "Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids". *J. Agric. Food Chem.* 49 : 2774-2779.
- Conde, E.E, M.C. Cadahia, Garcia-Vallejo, B.F.D. Simon dan J.R.G. Adrados. 1997. Low Molecular Weight Polyphenol in Cork of *Quercus Suber*. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 2695-2700.
- Gordon MH. 1990. *The Mechanism of Antioxidant Action in vitro*. (In) *Food Antioxidant*. Editor: Hudson B.J.F. Elsevier Applied Science, New York.
- Halliwell B dan Gutteridge C. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford University Press, New York.
- Maulida R. 2007. *Aktivitas Antioksidan Rumpul Laut Caulerpa lentillifera*. [Skripsi]. Universitas Institut Pertanian Bogor.

- Nely F. 2007. Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar dan Bubuk Rempah Pabrik dengan Metode Polifenol dan Uji AOM (*Active Oxygen Method*) [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rorong J. A. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryophyllus*) dengan Metode DPPH. *Chem. Prog.* 2:111-116
- Shahidi, F. and M. Naczki. 1995. *Food Phenolic : Sources, Chemistry, Effect, Applications*. Lancaster, Technomic Publishing, Co.inc.
- Singleton V L dan Rossi J A Jr. 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". *American Journal Enology and Viticulture*. 16: 145-147.
- Lomempuow, L.I., J. Paendong., L.I. Momuat., dan E. Suryanto. 2012. Potensi Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Chem. Prog.* 5:49-56.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Universitas Gadjah Mada : Yogyakarta.
- Widowati Wahyu, 2011. *Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.)*. Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung
- Wungkana, I., Suryanto, E., Momuat, L. 2013. Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya Fraksi Fenolik Dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Universitas Sam Ratulangi*. 4: 2302-2493