

**PENGARUH KONSENTRASI ETANOL TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) MENGGUNAKAN
METODE *MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION* (MAE)**

**Effect of Ethanol Concentration of Antioxidant Activity Red Betel Leaves Extract (*Piper
crocatum* Ruitz & Pav) with *Microwave Assisted Extraction* (MAE)**

I Gede Tirta Yasa¹⁾, Nengah Kencana Putra²⁾, Anak Agung Istri Sri Wiadnyani²⁾

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Unud

²Dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Unud
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effect of ethanol concentration on antioxidant activity and to obtain the highest antioxidant activity in red betel leaves extract using the MAE method. The experimental design used in this study was a completely randomized design (CRD) with an ethanol concentration treatment consisting of five levels, namely 50%, 60%, 70%, 80%, and 90%. All treatments were repeated three times to obtain 15 experimental units. The data obtained were analyzed by variance and if the treatment had significant effect followed by Duncan test. Treatment of ethanol concentration had a very significant effect ($P < 0.01$) on yield, total phenol, total flavonoids, and antioxidant activity. The results showed that 90% ethanol concentration was the best treatment which produced a yield of 25.17%, total phenol 106.00 mg GAE / g extract, total flavonoids 46.98 mg QE / g and antioxidant activity based on IC50 at 81.61 ppm.

Keywords : *red betel leaves, ethanol, MAE, antioxidant activity.*

PENDAHULUAN

Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) memiliki bentuk eksotik dengan permukaan daunnya bergelombang disertai warna daun hijau, pink, dan perak pada permukaan atas daun, serta warna merah keunguan pada permukaan bawah daun sehingga menarik perhatian banyak orang. Tanaman ini juga mendapat perhatian khusus dari kalangan herbalis karena banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat-obatan. Salah satu senyawa kimia yang bermanfaat dalam sirih merah adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan (Kanifah dkk., 2015). Sudewo (2005) melaporkan juga bahwa selain flavonoid ada senyawa fitokimia lain yang terkandung dalam daun sirih merah yakni alkaloid, saponin, tannin, dan polifenol. Sulistiyani dkk. (2007) melaporkan juga bahwa daun sirih merah memiliki kandungan kimia lainnya yaitu hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, karvakrol, eugenol, p-simen, sineol, kariofilen, kadimen estragol, terpenena, dan fenil propanoid.

Kandungan kimia dalam suatu bahan dapat diperoleh dengan melakukan proses ekstraksi yang bertujuan mengeluarkan suatu komponen tertentu dari bahan dengan bantuan pelarut. Salah satu metode ekstraksi adalah dengan teknik *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Ekstraksi MAE merupakan teknik ekstraksi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk memanaskan pelarut secara cepat dan efisien (Jain dkk., 2009). Metode MAE dapat membantu meningkatkan jumlah rendemen ekstrak kasar dalam waktu ekstraksi dan jumlah pelarut yang lebih rendah dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (Langat, 2011). Panas radiasi gelombang mikro memanaskan dan menguapkan air sel bahan sehingga tekanan pada dinding sel meningkat mengakibatkan sel membengkak (*swelling*) dan tekanan tersebut mendorong dinding sel dari dalam, meregangkan, dan memecahkan sel tersebut (Calinescu dkk., 2001). Gelombang mikro

mengurangi aktivitas enzimatis yang merusak senyawa target (Salas dkk., 2010). Rusaknya sel tumbuhan tersebut mempermudah senyawa target keluar dan terekstraksi (Jain dkk. 2009).

Beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan teknik MAE adalah ukuran bahan, waktu, jenis pelarut, dan perbedaan konsentrasi. Kelarutan suatu zat ke dalam suatu pelarut sangat ditentukan oleh kecocokan sifat atau struktur kimia antara zat terlarut dengan pelarut, yaitu *like dissolves like* (Hismath dkk. 2011 dalam Widarta dan Arnata, 2017). Pelarut etanol adalah pelarut polar sehingga pelarut ini sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif (Arifin dkk. 2006). Perbedaan konsentrasi etanol dapat mengakibatkan perubahan polaritas pelarut sehingga mempengaruhi kelarutan senyawa bioaktif (Zhang dkk., 2009). Widarta dan Arnata (2015) melaporkan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh terhadap komponen bioaktif, semakin tinggi konsentrasi etanol semakin tinggi juga komponen bioaktif yang dihasilkan. Handayani dkk. (2014) melaporkan juga bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka rendemen ekstrak yang dihasilkan semakin tinggi, namun kadar polifenol mencapai optimum pada konsentrasi etanol tertentu.

Penelitian daun sirih merah telah dilakukan oleh Prayitno dkk (2017) menggunakan metode maserasi selama 3 x 24 jam dengan berbagai konsentrasi etanol dan didapatkan hasil bahwa konsentrasi etanol 90% terbaik pada uji aktivitas antioksidan (IC_{50}) 82,71 ppm. Oleh karena itu diperlukan konsentrasi etanol yang tepat untuk mendapatkan aktivitas antioksidan tertinggi.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Analisis Pangan, Laboratorium Pengolahan Pangan Program Studi Ilmu dan

Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Kampus Sudirman. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2018 sampai dengan bulan Oktober 2018.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum Ruitz & Pav*), aquades, dan pelarut etanol (90%, 80%, 70%, 60%, dan 50%) (Merck), $NaNO_2$ 10% (Merck), $AlCl_3$ 10% (Merck), Standar kuersetin (Sigma Aldrich), NaOH 1% (Merck), Standar asam galat (Sigma Aldrich), DPPH (Sigma Aldrich), Reagen Folin-Ciocalteu (Merck), sodium karbonat (Merck), Air es.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu ayakan 60 mesh, microwave, rotary evaporator, oven, timbangan analitik (shimadzu), spektrofotometer (Genesys 10S UV-Vis), kertas whatman no.1, blender (Miyako), aluminium foil (Klin Pak), pipet micro, gelas ukur, gelas beker, loyang, waterbath, rak tabung reaksi, tabung reaksi (Pyrex), pipet volume, labu takar, dan pipet tetes.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan perlakuan konsentrasi pelarut etanol dengan 5 taraf yaitu:

- Konsentrasi etanol 50%,
- Konsentrasi etanol 60%,
- Konsentrasi etanol 70%,
- konsentrasi etanol 80%,
- konsentrasi etanol 90%

Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 15 unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan bubuk daun sirih merah

Daun sirih merah disortasi kemudian dicuci bersih. Pengeringan dilakukan dengan dioven pada suhu 40°C selama 24 Jam hingga

kadar air $\leq 10\%$. Daun sirih merah yang sudah kering diblender hingga halus dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh sehingga didapat bubuk daun sirih merah yang siap diekstraksi (Nurfa'izin dkk. 2015 yang telah dimodifikasi).

2. Pembuatan ekstrak daun sirih merah

Proses ekstraksi daun sirih merah dilakukan dengan metode MAE. Bubuk daun sirih merah ditimbang sebanyak 15 g dan ditambahkan pelarut etanol sebanyak 150 ml sesuai perlakuan. Perbandingan sampel dengan pelarut adalah 1:10. Selanjutnya sampel diletakkan didalam microwave dengan daya 450 Watt selama 8 menit. Sampel yang sudah diekstraksi disaring menggunakan alat penyaringan vakum dengan kertas whatman no.1 sampai diperoleh filtrat daun sirih merah, kemudian filtrat diuapkan dalam rotari

evaporator vakum pada suhu 40°C dengan kecepatan 80 rpm dan tekanan 100 mbar sampai diperoleh ekstrak kasar daun sirih merah (Nurfa'izin dkk. 2015 yang telah dimodifikasi).

Variabel yang diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah Rendemen (Handayani dkk., 2016), total fenol (Garcia dkk., 2007), total flavonoid (Xu and Chang, 2007), dan aktivitas antioksidan (IC₅₀) (Sompong dkk., 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan berdasarkan IC₅₀ dari ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan berdasarkan IC₅₀ dari ekstrak daun sirih merah.

Konsentrasi Etanol (%)	Rendemen (%)	Total Fenol (mg GAE/g)	Total flavonoid (mg QE/g)	IC ₅₀ (ppm)
P1 (50)	22,65±0,40d	53,56±1,67e	20,55±0,82e	143,33±0,81e
P2 (60)	23,21±0,06cd	66,27±2,09d	27,06±2,30d	133,70±0,80d
P3 (70)	23,73±0,13c	80,27±1,37c	34,92±1,00c	125,40±1,20c
P4 (80)	24,39±0,52b	92,97±1,27b	38,06±0,95b	113,32±1,90b
P5 (90)	25,17±0,29a	106,00±1,49a	46,98±1,00a	81,61±1,73a

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Nilai rata-rata diikuti dengan \pm standar deviasi.

Rendemen Ekstrak Daun Sirih Merah

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun sirih merah. Berdasarkan Tabel 1 Rendemen terendah terdapat pada konsentrasi etanol 50% yaitu 22,65% dan berbeda tidak nyata dengan konsentrasi etanol 60% yaitu 23,21%. Rendemen tertinggi terdapat pada konsentrasi etanol 90% yaitu 25,17%. Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka akan meningkatkan rendemen ekstrak daun sirih merah.

Konsentrasi etanol mempengaruhi polaritas etanol yang digunakan. Kesesuaian polaritas pelarut dengan senyawa yang akan dilarutkan memaksimalkan ekstraksi yang dilakukan. Diem dkk. (2014) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin besar kadar yang dapat tersari. Handayani dkk. (2014) melaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka rendemen ekstrak yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Luginda dkk. (2018) yang melaporkan bahwa pada konsentrasi etanol 90% menghasilkan rendemen tertinggi pada

ekstrak daun beluntas dengan metode microwave.

Total Fenol Ekstrak Daun Sirih Merah

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol pada ekstrak daun sirih merah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan total fenol. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa total fenol tertinggi dihasilkan pada perlakuan konsentrasi etanol 90% (P5) yaitu 106,00 mg GAE/g sedangkan hasil paling rendah diperoleh dengan perlakuan konsentrasi etanol 50% (P1) yaitu 53,56 mg GAE/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin tinggi juga total fenol yang diperoleh pada ekstrak daun sirih merah. Hal serupa juga dilaporkan oleh Prayitno dkk. (2017) bahwa konsentrasi etanol 90% menghasilkan total fenol tertinggi pada ekstrak daun sirih merah menggunakan metode maserasi.

Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa dari yang kurang polar hingga polar, salah satu senyawa yang dapat dilarutkan oleh etanol ialah senyawa fenolik. Etanol dapat melarutkan senyawa fenolik karena mampu mendegradasi dinding sel sehingga senyawa bioaktif lebih mudah keluar dari sel tanaman. Etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan gugus hidrogen dari gugus hidroksil senyawa fenolik yang menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa fenolik dalam etanol. Perbedaan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi kelarutan senyawa fenolik didalam pelarut (Prayitno dkk. 2016). Handayani dkk. (2014) menyatakan bahwa kesesuaian polaritas pelarut dengan bahan akan meningkatkan proses ekstraksi pada bahan. Nisa dkk. (2014) menyatakan bahwa pada ekstraksi daun sirih merah, kenaikan konsentrasi etanol berbanding lurus dengan total fenol yang diperoleh.

Total Flavonoid Ekstrak Daun Sirih Merah

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol pada ekstrak daun sirih merah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan total flavonoid. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa total fenol tertinggi dihasilkan pada perlakuan konsentrasi etanol 90% (P5) yaitu 46,98 mg QE/g sedangkan hasil paling rendah diperoleh dengan perlakuan konsentrasi etanol 50% (P1) yaitu 20,55 mg QE/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin tinggi juga total flavonoid yang diperoleh pada ekstrak daun sirih merah. Hal serupa juga dilaporkan oleh Prayitno dkk. (2017) bahwa konsentrasi etanol 90% menghasilkan total flavonoid tertinggi pada ekstrak daun sirih merah menggunakan metode maserasi.

Harborne (1987) dalam Suryani dkk. (2015) menyatakan bahwa senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda beda. Hasil penelitian menyatakan bahwa konsentrasi etanol yang meningkat akan meningkatkan total flavonoid. Purwanto dkk. (2014) menyatakan bahwa polaritas pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi bahan karena senyawa target yang akan diekstrak akan mudah larut pada tingkat polaritas yang sama.

Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) Ekstrak Daun Sirih Merah

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol pada ekstrak daun sirih merah berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}). Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa IC_{50} tertinggi dihasilkan pada perlakuan konsentrasi etanol 90% (P5) yaitu 81,61 ppm, sedangkan hasil paling rendah diperoleh dengan perlakuan konsentrasi etanol 50% (P1) yaitu 143,33 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi

konsentrasi etanol maka semakin tinggi juga aktivitas antioksidan yang diperoleh pada ekstrak daun sirih merah. Hal serupa juga dilaporkan oleh Prayitno dkk., (2017) bahwa konsentrasi etanol 90% menghasilkan aktivitas antioksidan berdasarkan IC_{50} tertinggi pada ekstrak daun sirih merah menggunakan metode maserasi.

Inhibition Concentration (IC_{50}) yaitu kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi sebesar 50% senyawa radikal bebas. Nilai IC_{50} yang tertinggi menunjukkan kemampuan antioksidan yang rendah, sebaliknya nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan kemampuan antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh meningkatnya fenol dan flavonoid pada bahan sehingga semakin tinggi total fenol dan flavonoid maka semakin tinggi juga aktivitas antioksidannya. Widarta dan Arnata (2017) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut maka aktivitas antioksidan yang dihasilkan juga semakin tinggi. Aktivitas antioksidan yang semakin tinggi dengan semakin meningkatnya konsentrasi etanol dapat disebabkan oleh kadar total fenolik dan total flavonoid yang juga semakin meningkat dengan meningkatkan konsentrasi etanol. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang linier antara total fenolik dan flavonoid yang diperoleh dari ekstrak daun sirih merah dengan aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Konsentrasi etanol berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan (IC_{50}).
2. Konsentrasi etanol 90% merupakan perlakuan terbaik yang menghasilkan rendemen sebesar 25,17%, total fenol 106,00 mg GAE/g ekstrak, total flavonoid

46,98 mg QE/g dan aktivitas antioksidan berdasarkan IC_{50} sebesar 81,61 ppm.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh waktu ekstraksi MAE yang tepat untuk menghasilkan ekstrak daun sirih merah dengan aktivitas antioksidan yang optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, H., N. Anggraini, D. Handayani dan R. Rasyid. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr. *Jurnal Sains Tek. Farmasi* 11(2):88-93.
- Calinescu, I., C. Ciuculescu, M. Popescu, S. Bajenaru, and G. Epure. 2001. Microwaves assisted extraction of active principles from vegetal material. *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. 1(2):3-6.
- Diem Do, Q. Artik, and E. Phoung. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *limnophilia arimatica*. *Journal Of Food And Drug Analisis*. 2(2):296-302.
- Garcia, C. A., G. Gavino, M. B. Mosqueda, P. Hevia, and V. C. Gavino. 2007. Correlation of tocopherol, tokotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chemistry* 10(2):1230-1232.
- Handayani, D., A. Mun'im dan A.S. Ranti. 2014. Optimization of green tea waste extraction using microwave assisted extraction to yield green tea extract. *Traditional Medicine Journal* 19(1):29-35.

- Handayani, H., F. H. Sriherfyna, dan Yunianta. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi). *Pangan dan Agroindustri*. 4(1):262-272.
- Hendrayani, L., M. Lutfi, dan C. L. Hawa. 2015. Ekstraksi antioksidan daun sirih merah kering (*Piper Crocatum*) dengan metode pra-perlakuan ultrasonic assisted extraction (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Bioproses Komoditas Tropis*. 3(2):33-35.
- Jain, T., V. Jain, R. Pandey, A. Vyas, and S. S. Shukla. 2009. Microwave assisted extraction for phytoconstituents – an overview. *Asian Journal Research Chemistry*. 1(2):19-25.
- Kanifah, U., M. Lutfi, dan B. Susilo. 2015. Karakterisasi ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocatum*) dengan metode ekstraksi *Non-Thermal* berbantuan ultrasonik (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). Universitas Brawijaya. Malang. *Jurnal Biopress Komoditas Tropis*. 3(1):73-74.
- Langat, M. K. 2011. Chemical Constituents of East European Forest Species. *Book of Extended Extract, Kenya*.
- Luginda, R. A., B. Lohita., dan L. Indriani. 2018. Pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar flavonoid total daun beluntas (*Pluchea Indica (L.)Less*) dengan metode *microwave-assisted extraction* (MAE). Universitas Pakuan. Bogor.
- Nisa, G.K., W.A. Nugroho dan Y. Hendrawan. 2014. Extraction of red betel leaf (*Piper crocatum*) methods microwave assisted extraction. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* 2(1):72-78.
- Nurfa'izn S., T. Puspitasari, S. Widiyanti, dan I. Hartati. 2015. Optimasi ekstraksi daun surian (*Toonana Sureni Merr*) sebagai bioinsektisida dengan menggunakan metode *microwave assisted extraction*. Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- Prayitno, S. A., J. Kusnadi, and E. S. Murtini. 2016. Antioxidant activity of red betel leaves extract (*Piper Crocatum Ruiz and Pav.*) by difference concentration of solvents. department of food science and technology. University of Brawijaya, Malang. East Java. Indonesia.
- Purwanto, A., A. N. Fajriyati, dan D. Wahyuningtyas. 2014. Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak minyak bekatul padi (*rice bran oil*). *Ekuilibrium Journal* 13(1): 29-34.
- Salas, P. G., M. S. Aranzazu, S. C. Antonio, and F. G. Alberto. 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *molecules* , 1(5):8823-8826.
- Sompong R, S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin, E. Berghofer. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black roce varieties from Thailand, China, and srilanka. *J. Food Chem.* 124:132-140
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. Penerjemah B. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka, Jakarta.

- Sudewo, B. (2005). Basmi penyakit dengan sirih merah. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sulistiyani, Arniputri, dan B. Retna. 2007 . Identifikasi komponen utama minyak atsiri sirih merah. Biodiversitas. 8(2):136-137.
- Widarta, I.W.R dan I.W. Arnata. 2017. Ekstraksi komponen bioaktif daun alpukat dengan bantuan ultrasonik pada berbagai jenis dan konsentrasi pelarut. Jurnal AGRITECH 37(2):148-157.
- Xu, B. J. and S. K. C. Chang. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. Journal Food Science. 72(2):161-166.
- Zhang, L., Y. Shan, K. Tang, and R. Putheti. 2009. Ultrasound-assited extraction flavonoid of lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity. International Journal of Phisical Science 4(8):418-422.