

**ISOLASI DAN UJI ANTIRADIKAL BEBAS MINYAK ATSIRI PADA
DAUN SIRIH (*Piper betle* Linn) SECARA SPEKTROSKOPI ULTRA VIOLET-TAMPAK**

I M. Oka Adi Parwata, Wiwik Susannah Rita, dan Raditya Yoga

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi, uji aktivitas antiradikal bebas minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle* Linn). Sebanyak 10,0 kg daun sirih segar didestilasi uap menghasilkan 13,0 mL minyak atsiri berwarna kuning. Minyak atsiri kemudian dipartisi berturut-turut dengan MeOH : H₂O (7:3), *n*-heksana dan kloroform.

Uji aktivitas antiradikal bebas menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas yang paling besar dalam meredam radikal bebas DPPH yaitu 66,27 % dalam waktu 5 menit dan 89,13 % dalam waktu 60 menit. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri mengandung 27 puncak tapi yang teranalisis didominasi oleh 9 komponen senyawa antara lain 4-metil(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol, 1-metoksi-4(1-propenil) benzena, 4-(2-propenil)fenol/kavikol, 4-alilfenilasetat, eugenol, karyofilen, 3-alil-6-metoksifenilasetat, 4-alil-1,2-diasetoksibenzena dan dekahidro-4a-metil-1-metilen-7(1-metiletetil) naftalena.

Berdasarkan intensitas puncaknya, kandungan minyak atsiri daun sirih didominasi oleh 4 komponen senyawa yaitu 4-alil fenil asetat, 2 metoksi-4-(2 profenil) fenol/eugenol, 3-allyl-6-metoksi fenil asetat, 4-(2-profenil)-fenol / kavikol.

Kata Kunci : aktivitas antiradikal bebas, daun *Piper betle* (Linn), minyak atsiri, analisis GC-MS

ABSTRACT

Isolation, identification and free radical activities testing of essential oil from *Piper betle* Linn were carried out. Around 13,0 mL (12, 37 gram) of yellow essential oil was obtained from 10,0 kg fresh leaves of *Piper betle* Linn. The oil was then partitioned with MeOH : H₂O (7:3), *n*-hexane and chloroform.

Free radical activities testing showed *n*-hexane fraction was the most active which can reduced 66,27 % of DPPH for 5 minutes and 89,13 % in 60 minutes. GC-MS analysis revealed that there were 27 peaks. Based on the data analysis there were only 9 compound, i.e. 4-metil(1-metiletetil)-3-sikloheksen-1-ol, 1-metoksi-4(1-propenil) benzene, 4-(2-propenil)fenol/kavicol, 4-alilfenilacetate, Eugenol, Karyofilen, 3-alil-6-metoksifenilasetat, 4-alil-1,2-diasetoksibenzena dan dekahidro-4a-metil-1-metilen-7(1-metiletetil) naftalena.

Based on peak's intensity the oil were dominated by 4 compound i.e. 4-allyl phenyl acetate, 2 methoxy-4-(2 propenil) fenol/eugenol, 3-allyl-6-methoxy phenyl acetate, 4-(2-prophenyl)-phenol / kavikol.

Keywords : free radical activities, leaves of *Piper betle* (Linn), essential oil, GC-MS analysis

PENDAHULUAN

Sirih (*Piper betle* L.) termasuk tanaman obat yang sering digunakan, ini dikarenakan khasiatnya untuk menghentikan pendarahan, sariawan, gatal-gatal dan lain-lain. Ekstrak daun sirih digunakan sebagai obat kumur dan batuk. Ekstrak daun sirih juga berkhasiat sebagai antijamur pada kulit. Khasiat obat ini

dikarenakan senyawa aktif yang dikandungnya terutama adalah minyak atsiri (Noorcholies, *et al.*, 1997; Heyne, 1987; Moeljatno, 2003).

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap dan mengandung aroma atau wangi yang khas (Sastroamidjojo, 1988). Minyak atsiri dari daun sirih mengandung 30% fenol dan beberapa derivatnya. Kavikol merupakan komponen paling banyak dalam

minyak atsiri yang memberi bau khas pada sirih. Persenyawaan fenol ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan minyak atsiri dari daun sirih juga dapat digunakan sebagai antijamur dan antioksidan (Anonim, 2005).

Minyak atsiri dari daun sirih terdiri dari kavikol, eugenol, dan sineol, dilihat dari strukturnya senyawa-senyawa tersebut tidak atau kurang larut dalam pelarut polar, sehingga pada fraksinasi digunakan pelarut non polar dan semi polar. Saat ini data mengenai aktivitas tanaman obat lebih banyak didukung oleh pengalaman, belum sepenuhnya dibuktikan secara ilmiah. Guna pemeliharaan dan pengembangan tanaman obat maka diperlukan adanya penggalan, penelitian, pengujian, dan pengembangan obat tradisional, tidak terkecuali sirih yang cukup terkenal sebagai obat mujarab itu (Noorcholies, *et al.*, 1997; Moeljatno, 2003). Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan diketahui bahwa minyak atsiri dapat meredam radikal bebas, melalui uji aktivitas peredaman radikal bebas secara UV-Tampak yaitu sebesar 81,91%.

Pengujian antiradikal bebas senyawa-senyawa bahan alam atau hasil sintesis secara UV-Tampak dapat dilakukan secara kimia menggunakan DPPH (difenilpicril hidrazil). DPPH berfungsi sebagai senyawa radikal bebas stabil yang ditetapkan secara spektrofotometri melalui persen peredaman absorbansi. Peredaman warna ungu merah pada panjang gelombang (λ) 517 nm dikaitkan dengan kemampuan minyak atsiri sebagai antiradikal bebas.

Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas ditentukan adanya gugus fungsi -OH (hidroksil) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavanon, skualen, tokoferol, β -karoten, vitamin C, dan lain-lain (Rahmawati, 2004; Djatmiko, *et al.*, 1998).

Daun sirih digunakan untuk mengatasi sariawan, radang tenggorokan, kanker mulut, dan lain-lain. Hal ini yang melatar belakangi daun sirih diindikasikan sebagai zat antikanker, dimana kanker akan muncul bila sel normal mengalami kerusakan sehingga menyebabkan mutasi genetik, penyebab dari rusaknya DNA sel normal diantaranya adalah radikal bebas dan senyawa-senyawa karsinogenik. Ini dikarenakan

radikal bebas mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat atau DNA yang pada akhirnya menyebabkan kanker, penuaan dini, peradangan, jantung koroner, dan lain-lain. Untuk itulah diperlukan zat antioksidan yang mampu bereaksi dengan radikal bebas (Anonim, 2007).

Kapasitas antiradikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah dari DPPH pada panjang gelombang 517 ± 20 nm. Perhitungan kapasitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman absorbansi pada puncak 517 menggunakan persamaan :

$$\left(1 - \frac{\text{absorbansi hitung sampel}}{\text{absorbansi hitung DPPH}}\right) \times 100\%$$

Absorbansi hitung sampel dan DPPH pada puncak 517 nm dapat dihitung menggunakan persamaan :

$$A_{517} = \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas, 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antiradikal bebas bila prosentase peredamannya lebih dari atau sama dengan 50% (Rahmawati, 2004; Djatmiko, *et al.*, 1998).

Dilihat dari banyaknya kegunaan daun sirih, terutama keaktifan minyak atsiri pada daun tersebut dalam meredam radikal bebas, maka perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan uji aktivitas antiradikal bebas minyak atsiri pada daun sirih.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu: daun sirih, kalsium klorida anhidrat, natrium klorida, *n*-heksana, kloroform, metanol, akuades, dan DPPH.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: seperangkat alat destilasi

uap, corong pisah, erlenmeyer, neraca analitik, gelas ukur, botol tempat minyak atsiri, aluminium foil, rotary vacuum evaporator, spektrofotometer ultraviolet-tampak, dan seperangkat alat GC-MS.

Cara Kerja

Daun sirih yang sudah dipotong-potong sebanyak ± 10 kg, dimasukkan ke dalam dandang yang telah diisi air. Alat destilasi uap kemudian dirangkai dengan merangkai pendingin (kondensor). Dandang kemudian dipanaskan dan dijaga agar tidak menggunakan temperatur yang tinggi. Air dialirkan ke kondensor dan dijaga agar air terus mengalir. Temperatur kondensor dijaga tetap dingin dengan menambahkan es, sehingga minyak yang menguap semuanya terembunkan dan tidak lepas ke udara.

Destilat yang diperoleh merupakan campuran minyak dengan air yang selanjutnya dipisahkan dalam corong pisah. Untuk pemisahan sempurna, destilat ditambahkan natrium klorida (NaCl) agar minyak yang teremulsi terpisah. Fase air ditampung dengan erlenmeyer, untuk dipisahkan lagi karena kemungkinan masih mengandung sedikit minyak yang teremulsi. Fase air ini ditambahkan lagi dengan natrium klorida kemudian dipisahkan dalam corong pisah. Pekerjaan ini dilakukan berulang-ulang sampai semua minyak terpisah. Fase minyak yang diperoleh kemungkinan masih bercampur dengan sedikit air, kemudian ditambahkan kalsium klorida anhidrat dan didekantasi.

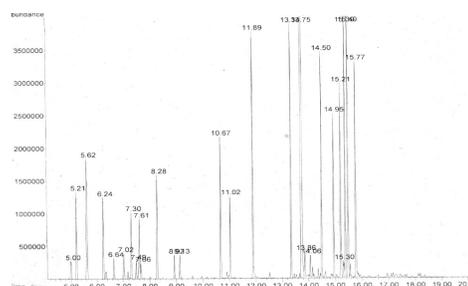
Sebanyak 10 mL minyak atsiri yang diperoleh kemudian dituangkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 15 mL n-heksana dan dipartisi dengan 15 mL metanol-air (7:3) secara bertahap, kemudian dikocok. Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan kemudian dipisahkan dan ditampung. Fraksi yang diperoleh adalah fraksi n-heksana dan fraksi metanol. Fraksi metanol kemudian dipartisi lagi dengan 15 mL kloroform secara bertahap dan dikocok, maka terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan kemudian dipisahkan sehingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi metanol dan

fraksi kloroform. Ketiga fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Minyak yang diperoleh kemudian digunakan untuk uji antiradikal bebas dan dianalisis senyawanya dengan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih segar sebanyak 10,00 kg. Sampel dibersihkan dan dipotong kecil-kecil, kemudian didestilasi uap, sehingga diperoleh destilat 13,0 mL.

Hasil analisis minyak atsiri dengan GC-MS ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram Kromatografi Gas Minyak Atsiri Daun Sirih

Kromatogram di atas menunjukkan 27 puncak yang terdeteksi. Masing-masing puncak kemudian dianalisis dalam spektrometer massa. Hasil analisis minyak atsiri daun sirih dengan GC-MS sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa kandungan minyak atsiri daun sirih adalah beberapa turunan senyawa fenol (Heyne, 1987; Moeljatno, 2003). Spektrum massa masing-masing puncak setelah dicocokkan dengan database merujuk senyawa-senyawa seperti pada Tabel 1.

Hasil fraksinasi minyak atsiri dengan *n*-heksana, kloroform, dan metanol diperoleh fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol masing-masing sebanyak 15 mL. Fraksi *n*-heksana dan kloroform berwarna kuning muda, sedangkan fraksi metanol bening.

Table 1. Senyawa-senyawa yang Diduga dari Masing-masing Puncak pada Kromatogram Minyak Atsiri Daun Sirih

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Senyawa yang diduga
Puncak 1	5,00	Bisiklo[3.1.0]-2-metil-5-(1-metiletil)
Puncak 2	5,21	Alpha pinen
Puncak 3	5,62	Kampen
Puncak 4	6,24	Bisiklo[3.1.0]-hek-2-sen-4-metil-1-(1-metiletil)
Puncak 5	6,65	Beta pinen
Puncak 6	7,02	3-heksen-1-ol-asetat
Puncak 7	7,30	Bisiklo [4.1.0] hep-2-ten, 3,7,7,-trimetil
Puncak 8	7,49	1-metil-2-(1-metiletil) benzena
Puncak 9	7,61	Beta pelandren
Puncak 10	7,67	Eukaliptol
Puncak 11	8,28	1,4-sikloheksadiena- 1-metil-4-(1-metiletil)
Puncak 12	8,92	Sikloheksena-1-metil-4-(1-metiletiliden)
Puncak 13	9,13	Bisiklo[4.1.0]-hep-3-ten-3,7,7-trimetil
Puncak 14	10,67	4-metil-1-(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol
Puncak 15	11,02	P-alil-anisol
Puncak 16	11,89	4-(2-propenil) fenol
Puncak 17	13,34	Fenol 4-(2-propenil) asetat
Puncak 18	13,75	2-metoksi-4-(1-propenil) fenol
Puncak 19	13,86	Alpha kuben
Puncak 20	14,26	1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil) sikloheksana
Puncak 21	14,49	Kariofilen
Puncak 22	14,95	Alpha kariofilen
Puncak 23	15,21	1,2,3,4,4a,5,6,8a-oktahidro-7-metil-4-metilen-1-(1-etietil)naftalen
Puncak 24	15,30	1-metil-5-metilen-8-(1-metietil) 1,6-siklodekadiena
Puncak 25	15,38	Dekahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletenil)naftalen
Puncak 26	15,49	Dekahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletiliden)naftalen
Puncak 27	15,77	3-alil-6-metoksifenil asetat

Ketiga fraksi yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antiradikal bebasnya menggunakan senyawa DPPH dengan konsentrasi yang sama yaitu 8000 ppm. Besarnya aktivitas antiradikal bebas pada ketiga fraksi tersebut dapat dilihat dari hasil perhitungan persentase peredaman DPPH pada Tabel 2.

Hasil uji aktivitas antiradikal di atas menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki persen peredaman yang paling besar dibanding fraksi kloroform dan metanol pada menit ke-60. Persentase peredaman dari fraksi *n*-heksana,

kloroform, dan metanol berturut-turut sebesar 89,13%, 77,27%, dan 56,41%. Suatu bahan dikatakan aktif sebagai peredam radikal bebas jika memiliki persentase peredaman lebih besar atau sama dengan 50% (Rahmawati, 2004; Djatmiko, *et al.*, 1998). Oleh karena itu, ketiga fraksi dikatakan aktif sebagai peredam radikal bebas, tetapi fraksi *n*-heksana merupakan fraksi yang paling aktif, sehingga selanjutnya fraksi *n*-heksana dianalisis lebih lanjut dengan GC-MS. Fraksi kloroform juga dianalisis dengan GC-MS sebagai pembanding terhadap fraksi *n*-heksana.

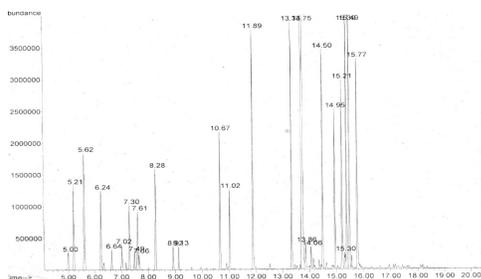
Table 2. Hasil Uji Aktivitas Antiradikal bebas Fraksi Kloroform, Metanol, dan *n*-heksana

F	Waktu (menit)	Uji	Absorbansi (A)			A hitung 517 nm	% peredaman
			497	517	537		
a	5	DPPH	0,123	0,135	0,117	0,0150	36,67
	5	Sampel	0,068	0,078	0,069	0,0095	
	60	DPPH	0,121	0,138	0,116	0,0195	56,41
	60	Sampel	0,062	0,069	0,059	0,0085	
b	5	DPPH	0,135	0,147	0,127	0,0160	56,25
	5	Sampel	0,069	0,078	0,073	0,0070	
	60	DPPH	0,133	0,151	0,125	0,0220	77,27
	60	Sampel	0,065	0,069	0,063	0,0050	
c	5	DPPH	0,126	0,136	0,119	0,0135	66,67
	5	Sampel	0,048	0,043	0,029	0,0045	
	60	DPPH	0,122	0,142	0,116	0,0230	89,13
	60	Sampel	0,042	0,033	0,019	0,0025	

Keterangan : Fa = Fraksi metanol; Fb = Fraksi kloroform; Fc = Fraksi *n*-heksana

Analisis komponen senyawa dari fraksi *n*-heksana

Hasil analisis fraksi *n*-heksana dengan kromatografi gas ditunjukkan pada Gambar 2.

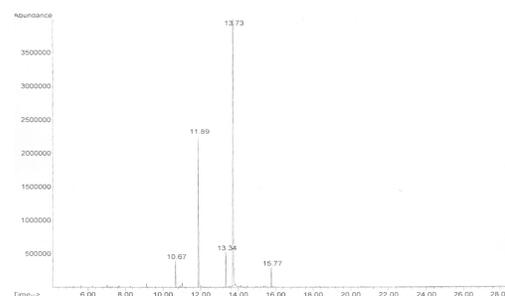


Gambar 2. Kromatogram Kromatografi Gas dari Fraksi *n*-Heksana

Kromatogram kromatografi gas fraksi *n*-heksana di atas terdeteksi 27 puncak, tetapi hanya puncak yang tertinggi yang akan dianalisis dalam spektrometer massa yaitu puncak dengan waktu retensi : 10.67 ; 11.89 ; 13.34 ;13.75 ; 14.50 ; 14.95 ; 15.21 15.38 ; 15.49 ; dan 15.77 menit.

Analisis komponen senyawa dari fraksi kloroform

Fraksi kloroform juga aktif meredam radikal bebas tetapi lebih lemah dari fraksi *n*-heksana. Hasil analisis fraksi kloroform dengan Kromatografi Gas ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram Kromatografi Gas Fraksi Kloroform

Kromatogram dari fraksi kloroform di atas menunjukkan 5 puncak dengan waktu retensi 10.67; 11.89; 13.34; 13.73; dan 15.77 menit.

Kereaktifan fraksi *n*-heksana meredam radikal bebas dibandingkan fraksi metanol dan kloroform, kemungkinan disebabkan senyawa yang lebih aktif dalam meredam radikal bebas tidak terdapat pada fraksi metanol atau kloroform dan juga disebabkan oleh beberapa senyawa yang bersifat sinergis dalam meredam radikal bebas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- 1) Fraksi *n*-heksana memiliki persentase peredaman DPPH sebesar 66,27 % pada waktu 5 menit dan sebesar 89,13 % pada waktu 60 menit. Fraksi kloroform memiliki % peredaman DPPH sebesar 56,25 % pada waktu 5 menit dan sebesar 77,27 % pada waktu 60 menit, sedangkan fraksi metanol memiliki persentase peredaman DPPH sebesar 36,67 % pada waktu 5 menit dan sebesar 56,41 % pada waktu 60 menit. Fraksi *n*-heksana merupakan fraksi yang paling aktif meredam radikal bebas dari fraksi kloroform dan fraksi metanol.
- 2) Hasil analisis GC-MS menunjukkan dalam minyak atsiri yang tidak dipartisi dan fraksi *n*-heksana terdapat 27 komponen senyawa antara lain bisiklo[3.1.0]hek-2-sen-2-metil-5-(1-metiletil); alpha pinen; kampen; bisiklo[3.1.0]hek-2-sen-4-metil-1-(1-metiletil); beta pinen; 3-heksen-1-ol asetat; bisiklo[4.1.0]hep-2-ten-3,7,7-trimetil; 1-metil-2-(1-metiletil) benzena; beta pellandren; eukaliptol; 1,4-sikloheksadiena-1-metil-4-(1-metiletil); 1-metil-4-(1-metiletiliden)-sikloheksena; bisiklo[4.1.0]hep-3-ten-3,7,7-trimetil; 4-metil-1-(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol; p-alil-anisol; 4-(2-propenil) fenol; 4-(2-propenil) fenol asetat; 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol; alpha kuben; 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil) sikloheksana; kariofilen; alpha kariofilen;

1,2,3,4,4a,5,6,8a-oktahidro-7-metil-4-metilen-1-(1-metiletil) naftalen; 1-metil-5-metilen-8-(1-metiletil)-1,6-siklodekadiena; dekahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletenil) naftalen; dekahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletiliden) naftalen; 3-alil-6-metoksifenil asetat. Sedangkan dalam fraksi kloroform terdapat 5 senyawa antara lain 4-metil-1-(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol; 4-(2-propenil) fenol atau kavikol; 4-(2-propenil) fenol asetat; 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol atau eugenol; 3-alil-6-metoksifenil asetat.

Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan metode pemisahan lain seperti distilasi fraksi terhadap senyawa-senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri, sehingga dapat diperoleh senyawa tunggal yang paling aktif meredam radikal bebas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dra. Ni Wayan Bogoriani, M.Si., Bapak Anak Agung Bawa Putra, S.Si., M.Si., dan Ibu Ni Luh Rustini, S.Si., M.Si. atas saran dan masukannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, Sirih (*Piper Betle* Linn), http://www.asiamaya.com/jamu/isi/sirih_piperbetle.htm, 16 Maret 2006
- Anonim, 2005, Sirih (*Piper Betle* Linn), <http://id.wikipedia.org/wiki/Sirih>, 16 Maret 2006
- Anonim, 2007, Antioksidan dan Radikal Bebas, <http://www.chem-is-try.org>, 21 Juni 2007
- Anonim, 2007, Antioksidan, <http://www.wattpad.com>, 21 Juni 2007

Djarmiko, Santoso, M.H., dan Wahyu, 1998, *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XII*, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.

Moeljatno, R., 2003, *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa*, Agromedia Pustaka, Jakarta

Noorcholies Z., Wahjo D., dan Mulja H.S., 1997, *Proses Bahan Tanaman Menjadi Obat di Indonesia*, Surabaya

Rahmawati, D., 2004, Uji Antiradikal Bebas Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak Metanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) Secara Spektroskopi, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Udayana, Denpasar

Sastroamidjojo S., 1988, *Obat Asli Indonesia*, PT Dian Rakyat, Jakarta.