

COMPARISON OF SOXHLETATION AND MACERATION EXTRACTION METHODS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LONG PEPPER FRUIT EXTRACT (*PIPER RETROFRACTUM VAHL*) WITH DPPH METHOD

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI SOXHLETASI DAN MASERASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH CABAI JAWA (*PIPER RETROFRACTUM VAHL*) DENGAN METODE DPPH

Rahmatuzzahra, Dias Ardini, Dwi May Indriyani, Pudji Rahayu

Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang

Email: zhr.rhm98@gmail.com

ABSTRACT

*Changes in people's lifestyles that are not good can cause increased production of free radicals in the body. Antioxidant compounds play an important role in overcoming and preventing oxidative stress due to excessive increase in free radicals. Antioxidants can be obtained naturally by using medicinal plants, one of which is long pepper fruit (*Piper retrofractum Vahl*). The purpose of this study was to identify secondary metabolite compounds contained in long pepper fruit and compare the antioxidant activity of long pepper fruit based on differences in soxhletation and maceration extraction methods using the DPPH method. The results of the secondary metabolite identification study showed that long pepper fruit contains alkaloid and steroid compounds. Antioxidant tests of the two extracts made with a concentration variation of 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, and 80 ppm, showed the results that the antioxidant activity of long pepper fruit extracted using the soxhletation method was greater, than that of long pepper fruit extracted using the maceration method. The IC_{50} value of each extract is 66,677 $\mu\text{g/mL}$ and 96,828 $\mu\text{g/mL}$.*

Keywords: *Secondary Metabolites, Extraction Method, Antioxidant Activity, DPPH, Long pepper (*Piper retrofractum Vahl*)*

ABSTRAK

Perubahan pola hidup masyarakat yang kurang baik dapat menyebabkan meningkatnya produksi radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa antioksidan sangat berperan penting dalam mengatasi dan mencegah terjadinya stres oksidatif akibat peningkatan radikal bebas yang berlebih. Antioksidan dapat diperoleh secara alami dengan memanfaatkan tanaman obat, salah satunya adalah buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum Vahl*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah Cabai Jawa serta membandingkan aktivitas antioksidan buah Cabai Jawa berdasarkan perbedaan metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi dengan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian identifikasi metabolit sekunder menunjukkan bahwa buah Cabai Jawa mengandung senyawa alkaloid dan steroid. Uji antioksidan kedua ekstrak yang dibuat dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm, menunjukkan hasil bahwa aktivitas antioksidan buah Cabai Jawa yang diekstrak menggunakan metode soxhletasi lebih besar, dibanding dengan buah Cabai Jawa yang diekstrak menggunakan metode maserasi. Adapun nilai IC_{50} masing-masing ekstrak berturut-turut yaitu 66,677 $\mu\text{g/mL}$ dan 96,828 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci: *Metabolit Sekunder, Metode Ekstraksi, Aktivitas Antioksidan, DPPH, Cabai Jawa (*Piper retrofractum Vahl*)*

PENDAHULUAN

Seiring berkembangnya segala aspek kehidupan saat ini, membuat sebagian masyarakat juga ikut mengalami perubahan pola hidup yang dipicu oleh beberapa faktor diantaranya sektor pendapatan ekonomi, kesibukan kerja, serta penggunaan makanan *fast food* yang tidak diimbangi dengan pengetahuan dan kesadaran gizi yang baik, sehingga hal ini menimbulkan budaya makan yang tinggi lemak jenuh, tinggi gula namun sangat rendah serat. Kebiasaan buruk tersebut dapat menyebabkan kegemukan, kelebihan gizi serta meningkatnya radikal bebas di dalam tubuh yang akhirnya akan mempengaruhi perubahan pola penyakit dari infeksi, penyakit kronis, non infeksi ataupun munculnya penyakit degeneratif lainnya⁽¹⁾.

Radikal bebas diproduksi secara alami di dalam tubuh melalui metabolisme sel, peradangan, nutrisi, radiasi sinar- γ , sinar-x, sinar UV, bahan kimia pada makanan, obat-obatan dan polusi lingkungan⁽²⁾. Suatu radikal bebas bersifat reaktif, hal ini disebabkan karena radikal bebas mengandung elektron yang tidak berpasangan pada bagian luarnya⁽³⁾. Apabila produksi radikal bebas dalam jumlah abnormal dan melebihi produksi antioksidan maka akan terjadi stres oksidatif⁽⁴⁾.

Senyawa yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan sangat berperan penting dalam mengatasi dan

mencegah stres oksidatif akibat produksi radikal bebas yang berlebih⁽⁵⁾. Namun, apabila penggunaan antioksidan sintetis melebihi batas yang telah ditetapkan oleh BPOM dapat menimbulkan efek buruk pada tubuh, sehingga untuk mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan, masyarakat harus mencari alternatif lain yang dinilai lebih aman misalnya dengan menggunakan antioksidan alami.

Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman yang dipercaya memiliki khasiat sebagai antioksidan. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl). Sebelum dilakukan uji terhadap aktivitas antioksidan, simplisia yang dijadikan sampel harus diekstraksi terlebih dahulu. Metode ekstraksi yang biasa digunakan untuk mengekstrak suatu sampel diantaranya metode ekstraksi modern dan metode ekstraksi konvensional. Metode ekstraksi yang dipilih untuk mengekstrak suatu sampel dapat mempengaruhi kadar senyawa yang terkandung di dalam sampel tersebut. Metode pemanasan dapat mempengaruhi tekstur sampel, kandungan senyawa dan aktivitas antioksidan dalam suatu sampel. Namun dalam beberapa percobaan, pemanasan justru dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang terkandung di dalamnya⁽⁶⁾.

Salah satu metode yang dapat dipilih untuk melakukan pengujian

aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (2,2 dipenyl-1-picrylhidrazyl). Metode DPPH memberikan informasi tentang reaktifitas suatu senyawa yang diuji dengan radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515-520 nm dengan warna violet gelap. Prinsip dari pengukuran antioksidan dengan menggunakan metode ini adalah dengan mengukur pemudaran warna ungu menjadi warna kuning yang terjadi pada larutan DPPH akibat adanya antioksidan yang menetralkan molekul radikal bebas⁽⁷⁾.

Penentuan aktivitas antioksidan adalah dengan menghitung persentase peredaman antioksidan terhadap radikal bebas. Nilai persentase peredaman yang diperoleh, selanjutnya akan ditentukan harga peredaman efektif lima puluh persen atau dikenal sebagai *inhibitory concentration* 50 (IC₅₀). Nilai IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu meredam aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya⁽⁸⁾. Kekuatan aktivitas antioksidan suatu zat dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan⁽⁹⁾.

No	Kategori	Konsentrasi (µg/mL)
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	50 – 100
3	Sedang	101 – 250

4	Lemah	250 – 500
5	Tidak aktif	> 50

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk melihat pengaruh perbandingan metode ekstraksi cara panas (soxhletasi) dan metode ekstraksi cara dingin (maserasi) pada buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dengan menggunakan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian yang akan dilakukan bersifat eksperimental dengan sampel menggunakan serbuk simplisia buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) yang akan diidentifikasi kandungan metabolit sekunder dan ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) yang akan diuji aktivitas antioksidan. Adapun variabel penelitian diantaranya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, organoleptis ekstrak buah Cabai Jawa, dan nilai IC₅₀. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan Januari - Mei 2023.

Alat dan Bahan

Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah blender, oven,

neraca analitik, ayakan mesh no. 40, inkubator, vortex, spektrofotometer Visible, kuvet, batang pengaduk, aluminium foil, erlenmeyer (250 mL), alat soxhlet, kompor listrik, cawan porselen (100 mL), beaker glass (100 mL), labu ukur (10 mL, 50 mL, dan 100 mL), pipet volume (1,0 mL, 2,0 mL, 3,0 mL, 4,0 mL dan 5,0 mL), gelas ukur (10 mL dan 50 mL), pipet tetes kecil, botol kaca gelap, spatula, kertas saring, tali kasur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bulb, corong gelas, rotary evaporator, plat tetes.

Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl), etanol 70%, etanol *pro analysis*, asam klorida (HCl) 2N, aquadest, pereaksi mayer, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendrof, serbuk magnesium stearat (Mg), asam klorida (HCl) pekat, amil alkohol (C₅H₁₂O), pereaksi besi (III) klorida (FeCl₃), n-heksan, asam asetat (CH₃COOH), asam sulfat (H₂SO₄) pekat, kristal DPPH, kuersetin.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Simplisia Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Langkah pembuatan simplisia buah Cabai Jawa adalah sebagai berikut:

- 1) Diambil buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) segar dari batangnya.

- 2) Buah Cabai Jawa yang sudah dikumpulkan, selanjutnya dipisahkan dari kotoran yang menempel, lalu dicuci bersih.

3)

etelah dicuci, tahap selanjutnya adalah pengeringan. Pengeringan simplisia dapat dilakukan menggunakan oven dengan suhu 50 °C. Setelah kering, simplisia kembali disortir dari kotoran yang masih tersisa.

- 4) Tahap terakhir yaitu simplisia di blender. Selanjutnya serbuk simplisia perlu diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus.

b. Pemeriksaan Alkaloid

Pengujian alkaloid dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Ditimbang 0,5 gram serbuk simplisia buah Cabai Jawa.
- 2) Ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL air suling, lalu panaskan dengan suhu 100 °C di penangas air selama 2 menit.
- 3) Didinginkan, lalu saring. Filtrat yang telah tersaring akan dipakai untuk percobaan berikut:
 - Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer menghasilkan endapan putih/kuning.
 - Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat menghasilkan endapan coklat.

- Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi *dragendrof* menghasilkan endapan merah bata.
- 4) Apabila terdapat endapan paling sedikit dengan 2 atau 3 pereaksi, maka sampel positif mengandung alkaloid.

c. Pemeriksaan Flavonoid

Pengujian flavonoid dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Ditimbang 10 gram serbuk simplisia Cabai Jawa, lalu tambahkan 100 mL air.
- 2) Dididihkan campuran tersebut pada suhu 100 °C sekitar kurang lebih 5 menit, kemudian saring filtrat dalam keadaan panas.
- 3) Dipipet 5 mL filtrat, lalu tambahkan 0,1 gram serbuk Mg stearat, 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol, lalu dikocok, biarkan lapisannya memisah.
- 4) Sampel positif mengandung flavonoid jika terbentuk lapisan amil alkohol yang berwarna merah, kuning, atau jingga.

d. Pemeriksaan Tanin

Pengujian tanin dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Sebanyak 0,5 gram sampel diekstrak menggunakan 10 mL aquades.
- 2) Hasil ekstraksi disaring kemudian filtrat diencerkan dengan aquades sampai tidak berwarna.

- 3) Diambil 2 mL filtrat yang telah diencerkan, kemudian tambahkan 1-2 tetes FeCl₃.
- 4) Hasil positif sampel mengandung tanin, ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

e. Pemeriksaan Saponin

Pengujian saponin dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 mL air suling panas.
- 2) Didinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik.
- 3) Terbentuk buih atau busa selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10.
- 4) Tambahkan 1 tetes larutan HCl 2N, apabila buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin.

f. Pemeriksaan steroid/triterpenoid

Pengujian steroid/triterpenoid dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Sebanyak 1 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 20 mL n-heksan selama 2 jam, lalu saring.
- 2) Filtrat diuapkan dalam cawan penguap
- 3) Pada sisa filtrat, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄.
- 4) Hasil positif steroid apabila terbentuk warna biru atau hijau,

sedangkan hasil positif triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau ungu.

g. Ekstraksi Simplisia Buah Cabai Jawa

1) Metode Soxhletasi

Proses pengekstraksian serbuk simplisia dengan metode soxhletasi adalah sebagai berikut:

- a) Sejumlah serbuk simplisia dibungkus dengan kertas saring dan diikat menggunakan tali kasur, setelah itu masukkan ke dalam alat soxhlet.
- b) Ukur pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5, lalu masukkan ke dalam labu alas bulat.
- c) Proses ekstraksi dilakukan dengan suhu 70 °C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi atau kurang lebih 5 jam.
- d) Kemudian ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C.

2) Metode Maserasi

Proses pengekstraksian serbuk simplisia dengan metode maserasi adalah sebagai berikut:

- a) Serbuk simplisia direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7.

- b) Perendaman dilakukan selama 5x24 jam dan diaduk secara berulang.
- c) Setelah masa perendaman selesai, maserat disaring dan dipisahkan dari ampasnya.
- d) Kemudian ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C.

h. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM
 - a) Ditimbang sebanyak 1,971 mg kristal DPPH.
 - b) Kristal DPPH dilarutkan dalam 50 mL etanol *pro analysis*.
 - c) Homogenkan larutan DPPH, lalu simpan dalam botol gelap.
- 2) Pembuatan Larutan Sampel
 - a) Ditimbang 40 mg ekstrak etanol buah Cabai Jawa.
 - b) dilarutkan dalam 20 mL pelarut etanol *pro analysis*.
 - c) Homogenkan sampel, lalu simpan dalam botol gelap.
 - d) Buat variasi konsentrasi ekstrak etanol buah Cabai Jawa masing-masing 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.
- 3) Pembuatan Larutan Kuersetin
 - a) Ditimbang sebanyak 2,5 mg kuersetin.
 - b) Kemudian dilarutkan dalam 50 mL pelarut etanol *pro analysis*.

- c) Homogenkan sampel, lalu simpan dalam botol gelap.
 - d) Dibuat variasi konsentrasi berturut-turut 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm.
- 4) Pembuatan Larutan Blanko
- a) Disiapkan tabung reaksi
 - b) Tambahkan 1-2 mL etanol *pro analysis*
- 5) Pembuatan Larutan Kontrol
- a) Disiapkan tabung reaksi.
 - b) Dipipet 1 mL larutan DPPH.
 - c) Lalu tambahkan etanol *pro analysis* sebanyak 4 mL, campur hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit.
 - d) Ukur serapannya dengan menggunakan *spektrofotometer Visible* dengan panjang gelombang 500-600 nm hingga didapatkan panjang gelombang maksimum.
- 6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH
- a) Dipipet 4 mL dari masing-masing konsentrasi ekstrak buah Cabai Jawa dan kuersetin.
 - b) Ditambahkan 1 mL larutan DPPH, lalu campur hingga homogen menggunakan bantuan *vortex*.
 - c) Diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap.
 - d) Amati perubahan warna yang terjadi setelah proses inkubasi.

e) Lalu, ukur nilai serapannya menggunakan *spektrofotometer Visible* pada panjang gelombang maksimum.

f) Lakukan pembacaan absorbansi sebanyak 3 kali.

i. Pengolahan dan Analisis Data

Data-data hasil penelitian akan diolah secara deskriptif kualitatif pada hasil identifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl), sedangkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dinyatakan dalam nilai persen inhibisi dan hasil akhir berupa nilai IC_{50} . Persen inhibisi dapat diperoleh dari pembacaan nilai absorbansi larutan uji pada panjang gelombang maksimum larutan kontrol DPPH menggunakan *spektrofotometer visible*, setelah itu dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{abs. K} - \text{abs. S}}{\text{abs. K}} \times 100\%$$

Keterangan:

- Absorbansi kontrol = absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang maksimum (517 nm)
- Absorbansi sampel = absorbansi larutan uji atau larutan pembanding pada panjang gelombang maksimum (517 nm)

Hasil uji aktivitas antioksidan suatu sampel akan dinyatakan dalam nilai IC_{50} dan dapat dihitung

berdasarkan persamaan garis regresi linear korelasi antara I dengan K menggunakan rumus sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

- $y = 50$
- $x =$ konsentrasi larutan uji (K)

HASIL PENELITIAN

1. Sifat Organoleptis Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) diperoleh melalui dua metode ekstraksi yaitu metode soxhletasi dan maserasi. Kemudian ekstrak dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C.

Tabel 2. Sifat Organoleptis Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

No	Metode Ekstraksi yang digunakan	Ciri Organoleptis	Sifat Organoleptis Ekstrak Buah Cabai Jawa (<i>Piper retrofractum</i> Vahl)	
			Rendemen Ekstrak	
1.	Soxhletasi	Konsistensi	Kental	12,568%
		Bau	Berbau khas	
		Warna	Coklat pekat	
2.	Maserasi	Konsistensi	Kental	8,275%
		Bau	Berbau khas	
		Warna	Coklat pekat	

2. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Simplisia Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Identifikasi senyawa metabolit sekunder simplisia buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

pada masing-masing jenis senyawa dilakukan sebanyak dua kali pengulangan.

Tabel 3. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Simplisia Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

No	Jenis Senyawa	No. Pengulangan	Hasil Pengamatan	Ket
1.	Alkaloid	1	a. Pereaksi <i>dragondrof</i> : endapan berwarna kuning b. Pereaksi mayer: endapan berwarna kuning	Negatif

			c. Pereaksi <i>bouchardat</i> : tidak terdapat endapan	
			a. Pereaksi <i>dragondrof</i> : endapan berwarna kuning orange	
		2	b. Pereaksi mayer: endapan berwarna kuning	Negatif
			c. Pereaksi <i>bouchardat</i> : tidak terdapat endapan	
2.	Flavonoid	1	Lapisan amil alkohol bening tidak berwarna	Negatif
		2	Lapisan amil alkohol bening tidak berwarna	Negatif
3.	Tanin	1	Larutan berwarna kuning bening	Negatif
		2	Larutan berwarna kuning bening	Negatif
4.	Saponin	1	Tidak terbentuk busa setelah diberikan HCl 2N	Negatif
		2	Tidak terbentuk busa setelah diberikan HCl 2N	Negatif
5.	Steroid/ Triterpenoid	1	Terbentuk warna hijau pada residu ekstrak	Positif steroid
		2	Terbentuk warna hijau pada residu ekstrak	Positif steroid

3. Reaksi Pendukung

Reaksi pendukung dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan amilum yang diduga terkandung di dalam simplisia Buah Cabai Jawa

(*Piper retrofractum* Vahl). Hasil uji reaksi pendukung dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Identifikasi Kandungan Amilum pada Simplisia Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Jenis Senyawa	No. Pengulangan	Hasil Pengamatan	Ket
Amilum	1	Terbentuk larutan biru kehitaman jika direaksikan dengan larutan I ₂	Positif
	2	Terbentuk larutan biru kehitaman jika direaksikan dengan larutan I ₂	Positif

4. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum larutan kontrol DPPH dilakukan dengan cara mengencerkan 1 mL larutan DPPH dengan 4 mL etanol *pro analysis* dan diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer

Visible (Spectroquant® Prove 600) dan didapatkan hasil bahwa larutan DPPH memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 515 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,342.

b. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Hasil pemeriksaan antioksidan ekstrak buah cabai jawa, dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metode DPPH

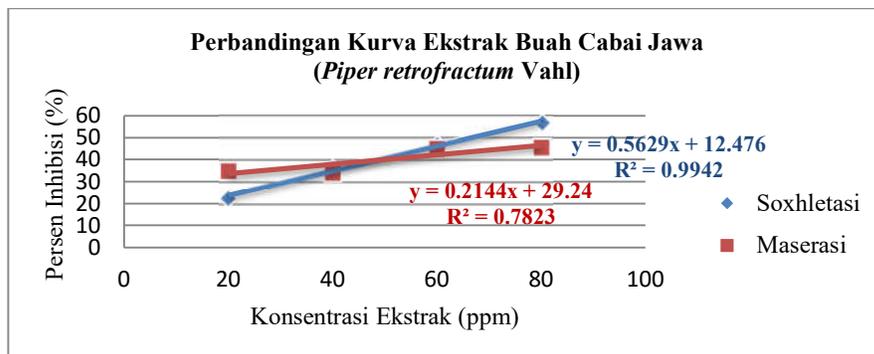
No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)				% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		n ₁	n ₂	n ₃	Rata-rata		
Sampel ekstrak buah Cabai Jawa (<i>Piper retrofractum</i> Vahl) yang diekstrak menggunakan metode soxhletasi							
1	20 ppm	0,267	0,265	0,261	0,2643	22,7096	66,677
2	40 ppm	0,217	0,219	0,219	0,218	36,1598	
3	60 ppm	0,181	0,182	0,181	0,181	46,9786	
4	80 ppm	0,149	0,148	0,148	0,1483	56,6277	
Sampel ekstrak buah Cabai Jawa (<i>Piper retrofractum</i> Vahl) yang diekstrak menggunakan metode maserasi							
1	20 ppm	0,229	0,219	0,219	0,2223	34,9903	96,828
2	40 ppm	0,226	0,225	0,225	0,2253	34,1131	
3	60 ppm	0,188	0,187	0,188	0,1876	45,1267	
4	80 ppm	0,186	0,186	0,186	0,186	45,6140	
Kuersetin (Pemanding)							
1	1 ppm	0,171	0,167	0,164	0,1673	51,0721	0,665
2	2 ppm	0,171	0,168	0,169	0,1693	50,4873	
3	4 ppm	0,157	0,159	0,158	0,158	53,8012	
4	8 ppm	0,145	0,142	0,144	0,1436	57,9922	

Hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persentase

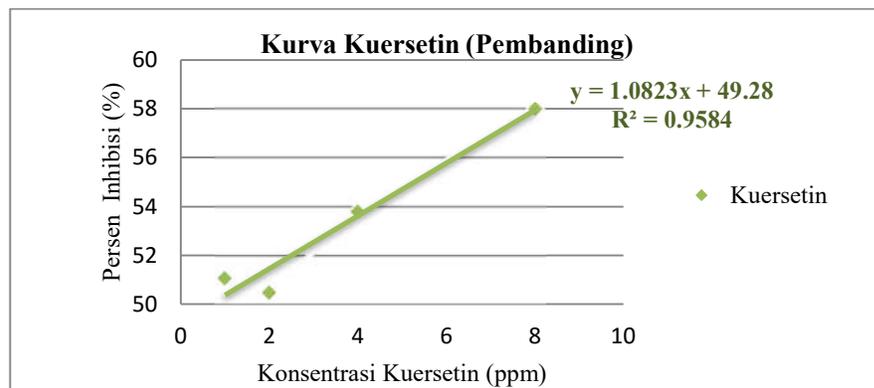
inhibisi serta perbandingan kurva pada persamaan regresi linear

ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) yang diekstrak menggunakan dua metode

ekstraksi, dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



a. Grafik Perbandingan Kurva Persamaan Regresi Linear Ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl).



b. Grafik Regresi Linear Kuersetin (Pembanding).

Gambar 1. Hubungan Konsentrasi Larutan Uji dengan Persen Inhibisi.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) sebagai sampel dan akan diekstrak menggunakan dua metode ekstraksi yaitu metode soxhletasi dan metode maserasi. Ekstraksi buah Cabai Jawa dengan metode soxhletasi diperoleh rendemen ekstrak sebesar 12,568%. Sedangkan pada metode maserasi, diperoleh rendemen ekstrak buah Cabai Jawa sebesar 8,275%.

Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, syarat rendemen ekstrak buah Cabai Jawa yaitu tidak kurang dari 8,3%⁽¹⁰⁾. Nilai rendemen kedua ekstrak tersebut memenuhi persyaratan pada Farmakope Herbal. Namun, rendemen ekstrak soxhletasi menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibanding ekstrak maserasi. Hasil rendemen dapat menunjukkan seberapa banyak senyawa zat aktif yang terekstrak selama proses ekstraksi berjalan. Semakin tinggi nilai rendemen,

maka semakin tinggi pula zat aktif yang terekstrak dari dalam sampel⁽¹¹⁾. Pada metode soxhletasi, proses ekstraksi terjadi secara terus-menerus dengan pelarut yang terbilang konstan. Selain itu, semakin sering terjadi sirkulasi atau perputaran siklus, maka zat yang tersari akan lebih banyak dan terisolasi dengan baik⁽¹²⁾.

Hasil identifikasi metabolit sekunder pada simplisia buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) menunjukkan bahwa buah Cabai Jawa positif mengandung steroid. Namun, menunjukkan hasil negatif pada identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.

Metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu faktor internal (gen) dan faktor eksternal (kelembaban, pH, kandungan unsur hara, ketinggian tempat, cahaya dan suhu)⁽¹³⁾. Selain dipengaruhi oleh faktor-faktor di atas, peneliti menduga bahwa buah Cabai Jawa mengandung senyawa amilum yang menghalangi reaksi pada saat proses identifikasi berlangsung dan mempengaruhi hasil identifikasi kandungan metabolit sekunder. Oleh karena itu, dengan adanya dugaan tersebut peneliti melakukan uji iodine sebagai reaksi pendukung. Dari proses pengamatan yang dilakukan, uji iodine pada buah Cabai Jawa menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya larutan biru kehitaman pada saat sampel direaksikan dengan pereaksi I₂. Terbentuknya warna tersebut karena pada zat amilum terdapat unit-unit

glukosa yang membentuk rantai heliks, sehingga menyebabkan molekul iodium masuk ke dalam spiralnya dan membentuk warna yang spesifik tergantung dengan jenis karbohidrat yang dikandungnya⁽¹⁴⁾.

Pada proses pemeriksaan aktivitas antioksidan buah Cabai Jawa, diperoleh serapan panjang gelombang maksimum larutan kontrol DPPH yaitu 515 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,342. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) hasil soxhletasi diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,5629x + 12,476$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9942 dan nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 66,677 µg/mL. Persamaan regresi linear ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) hasil maserasi yaitu $y = 0,2144x + 29,24$ dengan koefisien koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,7823 dan nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 96,828 µg/mL. Sedangkan, persamaan regresi linear pada kuersetin (pembanding) yaitu $y = 1,0823x + 49,28$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9584 dan nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 0,665 µg/mL.

Nilai koefisien determinasi berfungsi untuk mengetahui seberapa besar variabel terikat (Y) dapat dijelaskan oleh variabel bebas (X). Apabila nilai R^2 semakin besar, maka semakin baik variabel bebas memprediksi variabel terikat. Adapun rentang besaran nilai koefisien determinasi (R^2) adalah antara 0-1⁽¹⁵⁾. Jika dilihat pada hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak buah Cabai

Jawa hasil soxhletasi memiliki harga koefisien determinasi (R^2) mendekati 1 dan lebih besar jika dibanding ekstrak hasil maserasi dan kuersetin sebagai pembanding. Perbedaan nilai koefisien ini dikarenakan adanya penurunan nilai persen inhibisi pada ekstrak hasil maserasi dan kuersetin yang seharusnya berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi larutan uji. Penurunan nilai persen inhibisi dimungkinkan karena larutan uji tidak optimal dalam meredam radikal bebas pada DPPH. Selain itu, penurunan persen inhibisi juga berkaitan dengan ketidakstabilan nilai absorbansi pada larutan uji. Hal tersebut disebabkan oleh adanya variasi konsentrasi dengan perbedaan yang tidak signifikan, sehingga hasil yang diperoleh pun hampir terlihat pada nilai yang sama⁽¹⁶⁾.

Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan pada kuersetin menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} berada pada rentang kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kuersetin memiliki nilai IC_{50} sebesar 20,604 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, sehingga dengan konsentrasi kecil sudah mampu meredam radikal bebas⁽¹⁷⁾.

Uji aktivitas antioksidan pada kedua ekstrak buah Cabai Jawa yang diekstrak menggunakan dua metode ekstraksi menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} pada rentang 50-100 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan pada ekstrak buah Cabai

Jawa ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa buah Cabai Jawa memiliki peran sebagai antioksidan alami dengan nilai IC_{50} sebesar 57,6 $\mu\text{g/mL}$ ⁽¹⁸⁾. Selain itu, pada penelitian yang lain menyatakan bahwa buah Cabai Jawa mengandung senyawa metil piperat yang memiliki sifat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 16,07 ppm⁽¹⁹⁾. Dari hasil penelitian tersebut, membuktikan bahwa buah Cabai Jawa memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong dalam kategori kuat sampai kategori sangat kuat.

Berdasarkan hasil perbandingan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah Cabai Jawa, didapatkan hasil bahwa ekstrak hasil soxhletasi memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak hasil maserasi. Hal ini membuktikan bahwa proses pemanasan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang terkandung di dalam buah Cabai Jawa. Bertambahnya suhu dan waktu ekstraksi dapat mempengaruhi kelarutan suatu zat aktif. Selain itu, suhu yang digunakan pada metode soxhletasi dapat diatur sehingga tidak merusak komponen antioksidan yang dibutuhkan⁽⁸⁾. Adapun senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam buah Cabai Jawa adalah piperin dan metil piperat. Kedua senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa alkaloid yang tahan terhadap panas hingga suhu $\pm 87^\circ\text{C}$ - 238°C , sehingga dapat stabil dan tidak rusak karena proses pemanasan⁽²⁰⁾. Adanya penambahan suhu pada metode soxhletasi menyebabkan komponen yang

dibutuhkan dapat terekstrak dengan sempurna, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin besar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti dapat menyimpulkan bahwa:

1. Kedua Ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) memiliki sifat organoleptis yaitu konsistensi ekstrak kental, berwarna coklat pekat, dan memiliki bau yang khas.
2. Perolehan rendemen ekstrak buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) hasil soxhletasi lebih tinggi dibandingkan ekstrak hasil maserasi yaitu dengan nilai rendemen berturut-turut sebesar 12,568% dan 8,275%.
3. Hasil identifikasi metabolit sekunder serbuk simplisia buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) menunjukkan bahwa buah Cabai Jawa positif mengandung senyawa alkaloid dan steroid.
4. Aktivitas antioksidan ekstrak buah Cabai Jawa yang diekstrak menggunakan metode soxhletasi lebih besar dibandingkan ekstrak hasil maserasi yaitu dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 66,677 $\mu\text{g/mL}$ dan 96,828 $\mu\text{g/mL}$.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti menyarankan untuk:

1. Peneliti selanjutnya dapat melakukan identifikasi metabolit

sekunder menggunakan metode KLT, untuk menghindari reaksi yang tidak sempurna karena amilum yang dikandung buah Cabai Jawa.

2. Pada pengujian aktivitas antioksidan, peneliti perlu memperhatikan cara penanganan DPPH untuk menghindari kerusakan karena cahaya.
3. Pada proses pembacaan absorbansi larutan sampel dan perbandingan, dilakukan 3 kali pengulangan dengan larutan sampel yang baru.
4. Peneliti selanjutnya dapat melakukan identifikasi alkaloid total dan kadar piperin untuk melihat persentase kandungan alkaloid yang berperan sebagai antioksidan pada buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl).

DAFTAR PUSTAKA

1. Dhani, S. R. 2014. *Rancang bangun sistem pakar untuk mendiagnosa penyakit degeneratif*. Jurnal Manajemen Informatika, 3(2).
2. Labola, Y. A; dan Puspita, D. 2017. *Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit*. Majalah Farmasetika, 2(2), 12-17.
3. Tanzil, A. C. 2013. *Radikal Bebas pada Gangguan Sendi Rahang*. Journal of Dentistry Indonesia, 15(1), 77-82.
4. Sinaga, F. A. 2016. *Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal*. Generasi Kampus, 9(2).

5. Werdhasari, A. 2014. *Peran antioksidan bagi kesehatan*. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia, 3(2), 59-68.
6. Aisyah, Y; Rasdiansyah, R; dan Muhaimin, M. 2014. *Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas antioksidan pada beberapa jenis sayuran*. Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia, 6(2).
7. Wulan, W; Yudistira, A; dan Rotinsulu, H. 2019. *Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun Mimosa pudica Linn. menggunakan metode DPPH*. Pharmacon, 8(1), 106-113.
8. Nurhasnawati, H; Sukarmi, S; dan Handayani, F. 2017. *Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (Syzygium malaccense L.)*. Jurnal Ilmiah Manuntung, 3(1), 91-95.
9. Mulia, K; Hasan, A. E. Z; and Suryani, S. 2016. *Total Phenolic, Anticancer and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Piper retrofractum Vahl from Pamekasan and Karang Asem*. Current Biochemistry, 3(2), 80-90.
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
11. Hasnaeni, H., dan Wisdawati, W. 2019. *Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman Kayu Beta-beta (Lunasia amara Blanco)*. Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal), 5(2), 175-182.
12. Novitasari, N; dan Jubaidah, S. 2018. *Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (Sonneratia caseolaris L. Engl)*. Jurnal Ilmiah Manuntung, 4(1), 79-83.
13. Katuuk, R. H; Wanget, S. A; dan Tumewu, P. 2019. *Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (Ageratum conyzoides L.)*. In Cocos (Vol. 1, No. 4).
14. Tahir, M; Mustakin. 2019. *Analisis Kandungan Glikogen Pada Hati, Otot, Dan Otak Hewan:(Analysis Of Glicogen Content On Heart, Muscle, And Animal Brain)*. Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal, 75-80.
15. Pandanwangi, S; Bachtiar, A; dan Firmansyah, D. 2018. *Uji Aktivitas Antioksidan Krim Kombinasi Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Dan Ekstrak Umbi Wortel (Daucus carota L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)*. Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian, 3(1), 31-42.
16. Membri, D. K; Yudistira, A; dan Abdullah, S. S. 2021. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Liosina Paradoxa yang Dikoleksi Dari*

- PulauMantehage. Pharmacon, 10(2), 774-779.*
17. Pertiwi, R. D., Yari, C. E., dan Putra, N. F. 2016. *Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol limbah kulit buah apel (Malus domestica Borkh.) terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). Jurnal Ilmiah Manuntung, 2(1), 81-92.*
 18. Jadid, N; Hidayati, D; Hartanti, S. R; Arraniry, B. A; Rachman, R. Y; dan Wikanta, W. 2017. *Antioxidant activities of different solvent extracts of Piper retrofractum Vahl using DPPH assay.* In AIP conference proceedings (Vol. 1854, No. 1, p. 020019). AIP Publishing LLC.
 19. Fauziyyah, J. I. 2018. *Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metil Piperat Dari Ekstrak Metanol Buah Cabe Jawa (Piper retrofractum) Asal Jawa Barat* (Doctoral dissertation, Universitas Pendidikan Indonesia).
 20. Safitri, E. W. 2018. *Optimasi variasi pelarut dan variasi lama ekstraksi ultrasonik senyawa aktif alkaloid pada tanaman anting-anting (Acalypha indica L.) serta identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).