

ANALISIS SENYAWA FENOLIK PADA EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)

Annisa Primadiamanti¹, Lia Amura¹

ABSTRACT

Various types of medicinal plants that had been used traditionally were re-popularized, one of those was betel (*Piper betle* L.). Betel was known to be consumed all with its herb or known as "menginang" with belief that betel leaves could strengthen teeth, heal small wounds inside the mouth, eliminate bad breath, stop gum bleeding and act as a mouthwash. Therefore, this study was conducted to analyze total phenols in fresh extracts of green betel leaves. Green betel leaves were selected based on age, which was 1 month old. Extracts were made using maceration method. The leaves were washed thoroughly and then were dried by aerating, were chopped, were weighed and then were put into erlenmeyer and 87,5 ml methanol was added into erlenmeyer. Then, filtration was conducted. Filtrate was filtrated by filter paper and stored in a fridge. Then the residue was macerated again with methanol 87.5 ml for 2x24 hours at 27°C. The residue was then filtered again with filter paper. Phenolic compound analysis used UV-Vis spectrophotometry method. Determination of phenolic compounds level used Folin-Ciocalteu reagent. Wavelength used in determining the amount of phenolic compounds was 785 nm, and using aquabidestilata as a blank with three repetitions. Standard curve that had been used was gallic acid with series concentration of 0;50;100;150;200 ppm. The results of this study were consisted of absorbance value of repetition I as 0,046 with total phenols = 166,71 ppm; absorbance value of repetition II as 0,049 with total phenols = 165,10 ppm; absorbance value of repetition III as 0,050 with total phenols = 164,56 ppm. This study concluded that average level of total phenols in green betel leaves was 165,45 ppm.

Keywords : green betel, total phenols, *Piper betle*

ABSTRAK

Beragam jenis tumbuhan obat yang telah lama digunakan secara tradisional kini dipopulerkan kembali, salah satunya sirih (*Piper betle* L.). Daun sirih dikenal sebagai bahan untuk menginang dengan keyakinan bahwa daun sirih dapat menguatkan gigi, menyembuhkan luka-luka kecil di mulut, menghilangkan bau mulut, menghentikan perdarahan gusi dan sebagai obat kumur. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis total fenol pada ekstrak segar daun sirih hijau. Pengambilan sampel daun sirih hijau berdasarkan usia, yaitu dipilih daun sirih hijau yang berusia 1 bulan. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Daun dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dirajang, ditimbang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan metanol 87,5 ml. Filtrasi dengan kertas saring, filtrat disimpan di lemari pendingin, lalu residu kembali dimaserasi dengan metanol 87,5 ml selama 2x24 jam pada suhu 27°C, residu kemudian disaring kembali dengan kertas saring. Analisis senyawa fenolik menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Panjang gelombang yang digunakan pada penetapan kadar senyawa fenolik yaitu 785 nm dan aquabidest sebagai blanko dengan tiga kali pengulangan.

1. Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Lampung

Kurva baku yang digunakan adalah asam galat dengan konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 ppm. Data hasil penelitian berupa nilai absorbansi pengulangan I sebesar 0,046 sehingga diperoleh kadar I = 166,71 ppm; absorbansi pengulangan II sebesar 0,049 sehingga diperoleh kadar II = 165,10 ppm; serta absorbansi pengulangan III sebesar 0,050 sehingga diperoleh kadar III = 164,56 ppm. Penelitian ini menyimpulkan kadar rata-rata total fenol pada ekstrak daun sirih hijau yang diperoleh adalah sebesar 165,45 ppm.

Kata kunci : sirih hijau, total fenol, *Piper betle*

PENDAHULUAN

Merebaknya kecenderungan atau tren hidup kembali ke alam (*back to nature*) semakin menambah keingintahuan masyarakat tentang khasiat tanaman obat. Beragam jenis tumbuhan obat yang telah lama digunakan secara tradisional kini dipopulerkan kembali, salah satunya sirih. Masyarakat Indonesia sudah sejak lama mengenal daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai bahan untuk menginang dengan keyakinan bahwa daun sirih dapat menguatkan gigi, menyembuhkan luka-luka kecil dimulut, menghilangkan bau mulut, menghentikan perdarahan gusi dan sebagai obat kumur (Dea, 2010 dalam Desto, 2012). Daun sirih mengandung minyak atsiri (eugenol, methyl eugenol, karvakrol, kavikol, alil katekol, kavibetol, sineol, estragol), karoten, tiamin, riboflavin, asam nikotinat, vitamin C, tanin, gula,

pati, dan asam amino (Kristio, 2007 dalam Desto, 2012).

Penelitian oleh Serlahwaty dkk (2011) dengan judul Aktifitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol 70% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Sirih Merah (*Piper cf. Fragile Benth*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH menunjukkan aktifitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol 70% daun sirih hijau (nilai IC_{50} = 10.59 $\mu\text{g/mL}$), diikuti dengan daun sirih merah (nilai IC_{50} = 28,05 $\mu\text{g/mL}$), begitu pula ekstrak air daun sirih hijau (nilai IC_{50} = 36.02 $\mu\text{g/mL}$), dan yang terakhir ekstrak air daun sirih merah (nilai IC_{50} = 60,35 $\mu\text{g/mL}$). Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak etanol adalah penyari yang paling baik dalam analisis senyawa antioksidan. Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian dengan tujuan untuk menganalisis total fenol pada ekstrak segar daun sirih hijau

(*Piper betle* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang adanya kandungan fenol sebagai antioksidan pada daun sirih hijau serta khasiatnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Erlenmeyer, rotary evaporator, gelas ukur, beaker glass, pipet volume, labu takar, corong, gunting, spektrofotometer UV-Vis, labu ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, kertas saring, aquabidest, metanol, pereaksi Folin-Ciocalteu, asam galat, etanol, Na₂CO₃ dan ekstrak metanol daun sirih hijau segar (*Piper betle* L.).

Pengambilan Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Teknik pengambilan sampel yaitu *Purposive sampling*, yang didasarkan pada pertimbangan yang dibuat oleh peneliti sendiri yaitu berdasarkan usia daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berusia 1 bulan karena daun tidak terlalu muda atau tua sehingga

kandungan zat aktifnya yang tinggi.

Preparasi Sampel

Daun sirih hijau segar (*Piper betle* L.) dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Lalu dirajang dan ditimbang daun sirih hijau segar (*Piper betle* L.) sebanyak 35 gr. Lalu dimaserasi dengan metanol 87,5 ml selama 2x24 jam pada suhu ($\pm 27^{\circ}\text{C}$). Kemudian difiltrasi dengan kertas saring. Residu dilakukan perendaman kembali dan disaring kembali. Hasil filtrasi dipisahkan dengan menggunakan vakum rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental daun sirih hijau segar.

Pembuatan Kurva Standar

Asam Galat

1. Timbang 25 mg asam galat secara analitis dalam kertas perkamen lalu masukkan ke dalam labu takar 100 ml.
2. Tambahkan 0,2 ml etanol kemudian tambahkan aquabidest hingga mencapai volume 100 ml (didapatkan larutan asam galat 250 ppm). Kemudian lakukan homogenisasi dengan pengocokan. Larutan ini

selanjutnya sebagai larutan induk asam galat.

3. Buat larutan standar asam galat dengan berbagai konsentrasi (larutan *series*) 0; 50; 100; 150; 200 ppm dengan mengambil masing-masing larutan induk asam galat sebanyak 0; 2; 4; 6; 8 ml masukkan ke dalam labu takar ukuran 10 ml ad dengan menggunakan aquabidest hingga tanda.

Pembuatan Larutan Na₂CO₃ 7%

1. Timbang Na₂CO₃ sebanyak 7 g dengan kertas timbang lalu masukkan dalam labu takar 100 ml.
2. Tambahkan aquadest ad 100 ml.

Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

1. Sebanyak 0,4 ml larutan asam galat pada konsentrasi 50 ppm ditambahkan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu, digojok kemudian didiamkan selama 5 menit.
2. Tambahkan 4 ml Na₂CO₃ 7% gojok hingga homogen.
3. Tambahkan aquabidest ad 10 ml.
4. Diamkan pada suhu kamar selama 5 menit.
5. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm.

Pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu

1. Sebanyak 0,4 ml larutan asam galat pada konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 ppm masing-masing dimasukkan kedalam tabung.
2. Tambahkan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu dan gojok kemudian diamkan selama 5 menit.
3. Tambahkan 4 ml larutan Na₂CO₃ 7% pada masing-masing larutan, digojok hingga homogen lalu diamkan 5 menit pada suhu kamar.
4. Ukur setiap absorbansi larutan pada panjang gelombang 750 nm.

Penetapan Kadar Fenolik Total

1. Sebanyak 50 mg ekstrak metanol daun sirih hijau dimasukkan ke dalam labu ukur tambahkan aquabidest ad 50 ml.
2. Pipet 0,4 ml masukkan dalam labu ukur tambahkan aquabidest ad 50 ml.
3. Pipet 0,4 ml sampel masukkan kedalam labu ukur 10 ml.
4. Tambahkan reagen Folin-Ciocalteu 0,4 ml, kocok dan diamkan selama 5 menit.
5. Tambahkan 4 ml larutan Na₂CO₃ 7%, tambahkan aquabidest ad 10 ml, kocok

hingga larutan homogen dan diamkan selama 5 menit pada suhu kamar.

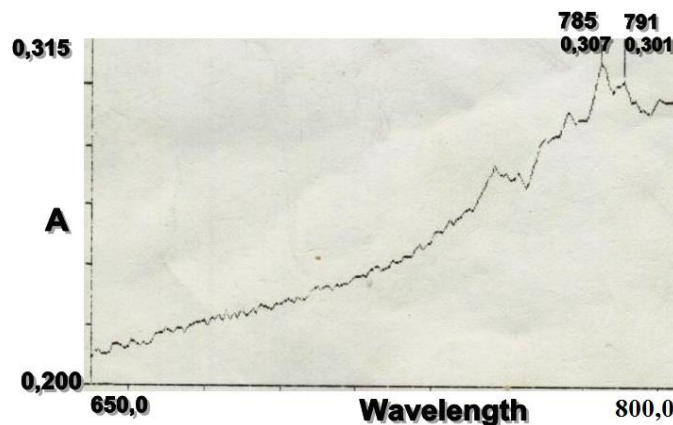
6. Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 750 nm.
7. Dilakukan 3x pengulangan.

Analisis Data

1. Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar.
2. Regresi linier $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menganalisis senyawa fenolik yang terdapat pada daun sirih hijau yang dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Pada proses penentuan panjang gelombang maksimum, didapatkan *peak* panjang gelombang 785,0 nm dengan absorban 0,307 (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum

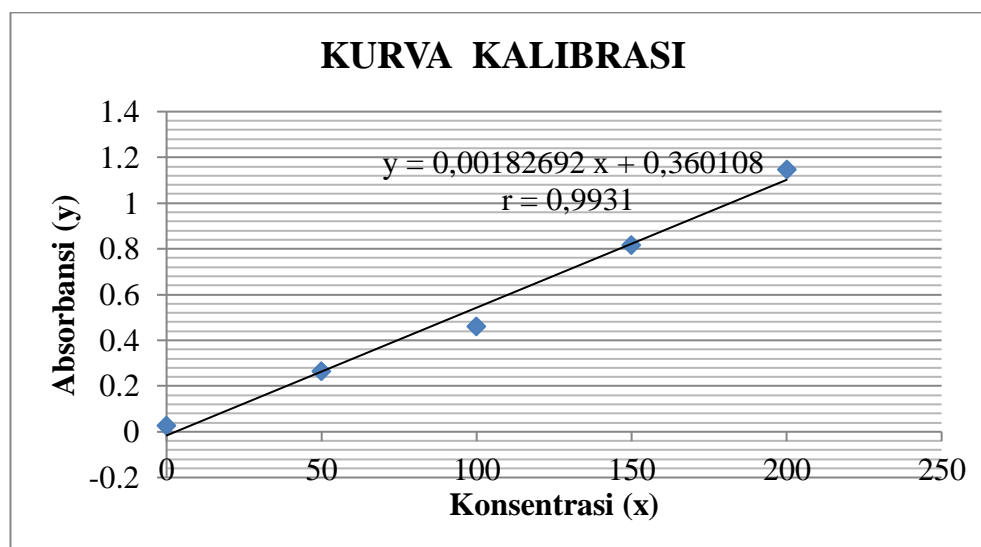
Dengan menggunakan panjang gelombang yang telah didapat dan data absorbansi larutan standar (Tabel 2) dilakukan pembuatan kurva

kalibrasi (Gambar 2) sehingga didapatkan persamaan regresi $y = 0,00183 x + 0,3601$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9931.

Tabel 1. Data Absorbansi

Larutan	Konsentrasi (ppm) (x)	Absorban (y)	xy	x ²	y ²
Standar 1	0	0,026	0	0	0,00067
Standar 2	50	0,265	13,25	2500	0,070225
Standar 3	100	0,459	45,9	10000	0,210681
Standar 4	150	0,817	122,55	22500	0,667489
Standar 5	200	1,147	229,4	40000	1,315609

Σ	500	2,714	411,1	75000	2,2646
----------	-----	-------	-------	-------	--------



Gambar 2. Kurva Kalibrasi

Kemudian dilanjutkan proses penetapan kadar sampel daun sirih hijau, didapatkan absorbansi serta kadar seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Senyawa Fenolik pada Ekstrak Segar Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)

Sampel	Pengulangan	Absorban	Kadar (ppm)	Kadar Rata-rata (ppm)
Ekstrak	1	0,046	166, 71	165,45
Segar Daun	2	0,049	165, 10	
Sirih Hijau	3	0,050	164, 563	

Sampel daun sirih yang diambil adalah sampel berdasarkan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang tidak terlalu muda atau tua sehingga kandungan zat aktifnya yang tinggi. Sampel diambil di halaman rumah warga, Kemiling Bandar Lampung dan diuji dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis senyawa fenolik pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*).

Untuk mendapatkan kadar fenol pada daun sirih hijau (*Piper betle L.*), proses yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan metode maserasi. Alasan menggunakan maserasi karena dilihat dari sifat fenol yang mudah terbakar. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut tertentu. Maserasi itu sendiri bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan

pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan.

Maserasi ini dilakukan dengan cara daun sirih hijau (*Piper betle* L.) segar yang dipilih baik mulai dari daun muda sampai tua, dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dirajang dan ditimbang daun sirih hijau segar (*Piper betle* L.) sebanyak 35 g lalu masukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan metanol 87,5 ml kemudian dimaserasi selama 2x24 jam pada suhu 27°C. Filtrasi dengan kertas saring, filtrat disimpan di lemari pendingin, lalu residu kembali dimaserasi dengan metanol 87,5 ml selama 2x24 jam pada suhu 27°C, residu kemudian disaring kembali dengan kertas saring. Hal ini dilakukan untuk memperoleh hasil ekstrak yang maksimal.

Kemudian hasil filtrasi dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40° C untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak. Lalu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Alasan dilakukan panjang gelombang maksimum karena dengan menggunakan panjang gelombang maksimum nilai absorbansinya maksimum, maka menghasilkan

kepekaan yang maksimum juga sehingga tingkat kesalahan yang terjadi kecil. Berdasarkan hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Nilai serapan dikatakan baik apabila berada pada *range* 0,2 - 0,8. Panjang gelombang maksimum pada penelitian ini ditetapkan pada *range* 650 - 800 nm dengan melihat nilai serapan tertinggi. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan panjang gelombang maksimum yaitu 785 nm dengan nilai serapan 0,307. Panjang gelombang maksimum yang telah didapat digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dan persamaan regresi, serta mendapatkan kadar pada sampel.

Pembuatan kurva standar yang digunakan yaitu asam galat. Asam galat merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman yang bersifat stabil dan murni. Alasan menggunakan asam galat karena asam galat itu sendiri merupakan turunan dari asam hidrosikbenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Pembuatan kurva standar asam galat menggunakan *series* konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 ppm dengan menggunakan aquabidest sebagai blanko. Dari hasil pembuatan kurva kalibrasi

diperoleh persamaan garis regresi sebagai berikut, $y = 0,00186 x + 0,3565$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9931. Dimana koefisien korelasi (r) adalah bilangan yang digunakan untuk mengetahui kuat, sedang, dan lemahnya indeks korelasi diantara variabel yang sedang diteliti. Nilai koefisien korelasi (r) dari kurva kalibrasi asam galat adalah 0,9931, maka hal ini menunjukkan bahwa hasil r sangat kuat, karena menunjukkan tingkat hubungan linier yang sangat kuat antara x (konsentrasi) dan y (absorbansi). Hal ini juga ditunjukkan dengan nilai r mendekati 1 dengan taraf kepercayaan sangat kuat dan kurva yang terbentuk linier (Hartono, 2008). Pada pembuatan kurva kalibrasi ini, ternyata terjadi sedikit kesalahan pada konsentrasi 100 ppm yang akibatnya nilai r menurun menjadi 0,9931. Alasan mengapa pada konsentrasi 100 ppm tersebut terjadi kesalahan yaitu disebabkan karena kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi dan adanya serapan oleh pelarut.

Lalu dilakukan penetapan kadar senyawa fenolik dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu*. Prinsip dari metode *Folin-Ciocalteu* adalah

terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Alasan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk menciptakan kondisi basa digunakan Na_2CO_3 7%. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*, membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui (Apsari dan Susanti, 2011).

Panjang gelombang yang digunakan pada penetapan kadar senyawa fenolik yaitu 785 nm dan aquabidest sebagai blanko dengan tiga kali pengulangan. Didapatkan absorbansi pengulangan 1 sebesar 0,046 sehingga diperoleh kadar 166,71 ppm; absorbansi pengulangan 2 sebesar 0,049 sehingga diperoleh kadar 165,10 ppm; serta absorbansi pengulangan 3 sebesar 0,050 sehingga diperoleh kadar 164,56 ppm dan dengan rata-rata kadar

diperoleh 165,45 ppm. Hal ini juga didukung dengan penelitian dari Andarwulan, dkk (1996) dengan judul Aktifitas Antioksidan dari Daun Sirih ((*Piper betle* L.), dari penelitian tersebut senyawa fenolik dari daun sirih hijau segar dengan cara *soxhlet* yaitu 26,09 ppm. Sehingga disimpulkan dari penelitian ini kadar ini melebihi dengan kadar rata-rata yang didapat 165,45 ppm mencapai senyawa fenolik dari penelitian Andarwulan, dkk (1996). Secara perhitungan perbedaan kadar rata-rata yang dilakukan peneliti berbeda dengan penelitian terdahulu dikarenakan perbedaan metode. Metode yang dilakukan oleh Andarwulan menggunakan cara *soxhlet*. Sedangkan metode yang dilakukan oleh peneliti menggunakan cara maserasi. Hal ini mempengaruhi perhitungan secara matematis dan nilai, namun memiliki kemaknaan yang dapat dianalogikan sama.

KESIMPULAN

Kadar total fenol pada ekstrak daun sirih hijau yang diperoleh pada penelitian ini adalah 165,45 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Wijaya, H., Cahyono, D.T., 1996, Aktivitas Antioksidan dari Daun Sirih (*Piper betle* L.), Bul. Tek. dan Industri Pangan Vol. VII No. 1.
- Apsari, P.D., Susanti, H., 2011, *Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa* Linn) secara Spektrofotometri, Prosiding Seminar Nasional Home Care, Fakultas Farmasi dan Kesehatan Masyarakat UAD, Yogyakarta.
- Desto, P.P., 2012, *Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) pada Jumlah Leukosit Darah tepi model hewan coba Tikus Wistar Jantan yang dipapar Candida Albicans* secara Intrakutan, Universitas Jember, Jawa Timur.
- Serlahwaty, Sugiastuti & Ningrum, 2011, *Aktifitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol 70% Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Sirih Merah (Piper cf. Fragile Benth.) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH*, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta, Jakarta Selatan.