

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL, FRAKSI POLAR, SEMI POLAR DAN NONPOLAR DAUN SIRIH CINA (*PEPEROMIA PELLUCIDA* (L.) KUNTH) DENGAN METODE DPPH

Nurliansyah¹, Ridwanto^{2*}, Gabena Indrayani Dalimunthe³, Rafita Yuniarti⁴

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan^{1,2,3,4}

*Corresponding Author : rid.fillah66@gmail.com

ABSTRAK

Daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) secara tradisional digunakan sebagai obat, untuk mengurangi nyeri rematik dan rematik gout. Sirih Cina memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid. Terdapat senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai penangkal dan dapat menstabilkan radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan melindungi dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa antioksidan alami sering terdapat dari bagian-bagian tanaman seperti daun, bunga, dan buah. Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol, dan fraksi polar, semi polar dan nonpolar daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dengan metode DPPH. Penelitian ini meliputi daun sirih cina dilakukan maserasi dengan methanol 96% selama 5 hari dan remaserasi 2 hari. Ekstrak kental dilakukan fraksinasi dengan pelarut air, n-heksan dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Dengan mengukur aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil dari uji aktivitas antioksidan fraksi daun sirih cina dengan metode DPPH memiliki kategori yang sangat kuat dengan aktivitas nilai IC₅₀ pada fraksi air sebesar 40,71525 µg/ml, fraksi etil asetat memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategorisebesar 6,17085 µg/ml, dan fraksi n-Heksan memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategori sebesar 23,8421 µg/ml. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) yang berasal dari kecamatan kota medan adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida dan steroid/terpenoid.

Kata kunci : daun sirih Cina, DPPH, fraksi semi polar, radikal bebas

ABSTRACT

Chinese betel leaves (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) are traditionally used as a medicine to reduce the pain of rheumatism and gout. Chinese betel has secondary metabolite compounds, namely alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and steroids. There are antioxidant compounds that function as antidotes and can stabilize free radicals. The method most often used to test the antioxidant activity of medicinal plants is the test method using DPPH radicals. This research aims to determine the potential antioxidant activity of ethanol extract and polar, semi-polar and non-polar fractions of Chinese betel leaves (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) using the DPPH method. This research included maceration of Chinese betel leaves with 96% methanol for 5 days and remaceration for 2 days. The thick extract was fractionated using n-hexane and ethyl acetate solvents. The antioxidant activity test used DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) by measuring the antioxidant activity against DPPH free radicals qualitatively and quantitatively. The results of the antioxidant activity test of the Chinese betel leaf fraction using the DPPH method have a very strong category with an IC₅₀ activity value in the water fraction of 40.71525 µg/ml, the ethyl acetate fraction has a very strong strength with a category of 6.17085 µg/ml, and the n-Hexane fraction has very strong strength with a category of 23.8421 µg/ml. The secondary metabolite compounds contained in Chinese betel leaves (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) originating from Medan City sub-district are flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, glycosides and steroids/terpenoids.

Keywords : Chinese betel leaf, DPPH, semi-polar fraction, free radicals

PENDAHULUAN

Sirih cina adalah salah satu tanaman tradisional yang dapat digunakan untuk pengobatan. Pengobatan tradisional telah digunakan hingga 65% dari penduduk negara maju, menurut *World Health Organization* (WHO). Tanaman ini berasal dari Amerika Selatan tetapi umumnya ditemukan di Asia Tenggara. Daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) secara tradisional digunakan sebagai obat untuk abses, bisul acne vulgaris, penyakit kulit, sakit kepala, dan rematik gout (Yuliani *et al.*, 2022). Menurut Penelitian (Marlina *et al.*, 2023). Sirih Cina memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid. Radikal bebas berperan penting dalam proses patologi dan kerusakan jaringan. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang senyawa yang rentan seperti lipid, dan protein yang dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit. Senyawa antioksidan alami sering terdapat dari bagian-bagian tanaman seperti daun, bunga, dan buah (Yanti *et al.*, 2023). Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal DPPH. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Karena adanya elektron yang tidak berpasangan DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Yanti *et al.*, 2023).

Fraksinasi merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran. Metode fraksinasi yang biasa digunakan adalah dengan ekstraksi cair-cair. Proses fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur (Harborne, 1987). Dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol teh benalu, pada fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan mempunyai aktifitas antioksidan. Antioksidan terbaik ditunjukkan pada fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} sebesar 14,08 ppm (sangat kuat), disusul oleh ekstrak etanol nilai IC_{50} sebesar 21,92 ppm (sangat kuat), fraksi air dengan nilai IC_{50} sebesar 89,57 ppm (kuat), dan fraksi n-heksana dengan nilai IC_{50} sebesar 162,09 ppm (sedang), sedangkan nilai IC_{50} vitamin C sebesar 4,41 ppm (sangat kuat) (Mustarichie, dkk, 2017).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh ekstraksi dengan cara fraksinasi terhadap ekstrak etanol daun sirih cina dengan menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya seperti n-heksana, etil asetat dan air, sehingga komponennya lebih sederhana. Pada ekstrak etanol daun sirih cina, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dilakukan uji aktivitas antioksidan. Untuk mengetahui suatu aktivitas antioksidan yang paling kuat dari setiap fraksi dari ekstrak etanol daun sirih cina. Dimana pelarut n-heksan digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar, pelarut etil asetat digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar sedangkan pelarut air digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar (Permadi A, *et al.*, 2018). Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang judul tersebut. Karena adanya keterkaitan tentang mengetahui potensi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi nonpolar pada tumbuhan sirih cina secara DPPH melalui nilai IC_{50} . Langkah ini sebagai langkah awal untuk mengetahui potensi tumbuhan herbal sehingga dapat dikembangkan sebagai obat tradisional.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol, dan fraksi polar, semi polar dan nonpolar daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dengan metode DPPH.

METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium, dalam penelitian dengan melakukan percobaan terhadap perlakuan tertentu, dengan dengan kondisi yang dapat dikontrol,. Tahapan penelitian ini meliputi determinasi tanaman daun sirih cina, pengumpulan sampel, pengolahan sampel, pembuatan larutan bahan, pembuatan ekstraksi dengan maserasi, ekstraksi fraksinasi, skrinning fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dan uji fraksi polar, semi polar, dan non polar daun sirih cina dengan metode DPPH. Variabel dalam penelitian ini terdapat variabel bebas, dan variabel terikat Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak etanol, dari daun sirih cina Variabel terikat dari penelitian ini adalah uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji skrinning fitokimia, Karakteristik dan nilai IC50. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al-Washiliah Medan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2024.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth), DPPH (1,1 diphenyl-2picrylhydrazyl) p,a, Vitamin C ascorbic acidt, etanol 96%, N-Heksan 200 ml, etil asetat, serbuk magnesium, FeCl₃ 1%, etil asetat, HCL 2 %, metanol 1 liter, Hcl pekat, Aquadest 2 liter, Kloroform p 2,5 ml, asam asetat anhidrat, 10%, kalium asetat 1M. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Blender, toples bejana maserasi, Spektrofotometri UV-Vis (Thermo evolution 201), Rotary evaporator (Eyela osh-2010, ser No, 61012144), Waterbath (maskot), Cawan penguap, Erlenmeyer (iwaki), Gelas ukur (pyrek), Batang pengaduk kaca, Labu takar (iwaki), Pipet tetes, Krus porselin, Beaker gelas (pyrek), Pipet fillter univesrsal bola hisap, Pipet volume (iwaki), Corong, Kaca arloji, Kertas saring (whatman filter papers), Neraca analitik (vibra, vernier), Aluminium foil, tabung reaksi (pyrek), ayakan 40-60 mesh.

Determinasi tumbuhan dilakukan oleh Herbarium Medanense (MEDA) Sumatera Utara terhadap daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) yang diteliti. Sampel daun sirih cina diambil dari daerah Kota Medan, Provinsi Sumatera Utara, Indonesia. Sampel daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dicuci dengan air sampai bersih dari zat pengotor. Kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari sampai benar-benar kering. Setelah kering, sampel dipotong-potong lalu di blender sehingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan ukuran mesh 40-60 sehingga mendapatkan hasil serbuk yang halus dan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat.

HASIL

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Hasil Identifikasi Tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Medanase (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Terhadap daun yang diteliti menunjukkan bahwa bahan uji adalah daun sirih cina dari familiy piperaceae. Identifikasi ini bertujuan untuk memastikan kebenaran dari tumbuhan yang akan digunakan sebagai bahan uji.

Hasil Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth). Berat basah daun sirih cina diperoleh sebesar 5 kilogram, setelah itu sampel dibersihkan dari segala zat pengotor dan dikeringkan. Berat sampel setelah diperoleh setelah dikeringkan diperoleh 1,25 kilogram, dan setelah itu sampel di blender hingga menjadi serbuk lalu diayak dengan ayakan 40 mesh agar mendapatkan bagian yang halus. Berat sampel serbuk adalah 500 gram, berwarna coklat kehijauan dengan bau khas.

Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan Makroskopik Simplisia Daun Sirih Cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth)

Pengamatan Makroskopik dilakukan dengan mengamati secara langsung kondisi fisik daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) yang digunakan dalam penelitian ini. Dari hasil pemeriksaan secara makroskopik daun sirih cina menunjukkan bahwa tegak bercabang, bulat, tebalnya sekitar 5 mm, berair dan lunak memiliki panjang 2,5 cm, lebar sekitar 2,2 cm. Memiliki warna hijau pucat atau hijau muda berkilau dahan bebuku-buku serupa tumbuhan daun sirih.

Hasil Pemeriksaan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun sirih cina bertujuan untuk melihat fragmen pengenal pada daun sirih cina. Dari hasil pemeriksaan secara mikroskopik terlihat adanya epidermis, sklerenkim dan rambut penutup.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Karakteristik merupakan suatu langkah awal untuk mengendalikan mutu simplisia agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam yang akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut (BPOM, 2005). Parameter mutu simplisia mencakup penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol. Hasil karakteristik serbuk simplisia daun sirih cina tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakteristik Simplisia Daun Sirih Cina

No	Parameter	Hasil (%)	Syarat MMI (%)
1	Kadar Air	3	< 10
2	Kadar Abu Total	7,23	< 14
3	Kadar Abu Tidak Larut Asam	2,74	< 7
4	Kadar Sari Larut Air	19,295	>14
5	Kadar Sari Larut Etanol	6,25	>4,5

Penetapan kadar air adalah pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Tujuan penetapan kadar air adalah memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia tersebut (Ditjen POM, 2000). Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10%. Hasil penetapan kadar air untuk simplisia daun sirih cina adalah 3%. Hal ini berarti simplisia daun sirih cina memenuhi persyaratan kadar air.

Penetapan kadar abu total adalah suatu parameter dimana bahan simplisia dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Ditjen POM, 2000). Persyaratan kadar abu simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 14%. Hasil penetapan kadar abu total untuk simplisia daun sirih cina adalah 7,23%. Hal ini berarti simplisia daun sirih cina memenuhi persyaratan kadar abu total. Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu selanjutnya dididihkan dengan 25 ml asam klorida selama 5 menit, bagian tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas lalu dipijarkan hingga bobot tetap kemudian ditimbang. Persyaratan kadar abu tidak larut asam adalah tidak lebih dari 7%. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam pada daun sirih cina adalah 2,74%, dimana hasil tersebut memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam. Kadar abu tak larut asam ini menunjukkan jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat (Depkes RI, 2000).

Berdasarkan parameter standar yang berlaku, kadar sari larut air tidak kurang dari 14%. Kadar sari larut air dari daun sirih cina yang diperoleh adalah 19,297%. Penetapan kadar sari larut etanol dilakukan dengan menimbang sejumlah 5 gram serbuk simplisia yang dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (95%) menggunakan labu bersumbat selama 6 jam dan selama 18 jam. 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam etanol (95%) dihitung terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000). Berdasarkan parameter standar yang berlaku, kadar sari larut etanol tidak kurang dari 4,5%. Kadar sari larut etanol dari daun sirih cina adalah 6,25%. Berdasarkan hasil pengujian kadar sari larut dalam pelarut air dibandingkan dengan kadar sari larut dalam pelarut etanol, menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang larut dalam pelarut air lebih besar dibandingkan dengan senyawa non polar yang larut dalam pelarut etanol, dan masih memenuhi persyaratan yang di persyaratkan.

Hasil Ekstraksi dan Fraksi Daun Sirih Cina

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Ditjen POM, 2000). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008). Maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dikarenakan etanol 96% merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu menarik senyawa polar dan non polar (senyawa kurang polar). Terjadinya adanya proses disolusi ketika senyawa dalam pelarutnya serta ada proses difusi saat senyawa dalam simplisia bergerak dari konsentrasi tertinggi ke rendah hingga terjadinya keseimbangan. Pengaturan suhu 50°C untuk menghindari kerusakan senyawa pada suhu tertinggi terutama pada flavonoid, adanya proses pemekatan untuk menghilangkan pelarut sehingga tidak mempengaruhi zat aktif.

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 200,4746 gram dari 500 gram serbuk simplisia (Rendemen 40,094%) dengan ekstrak yang berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman dan memiliki bau yang khas. Fraksinasi merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran. Metode fraksinasi yang biasa digunakan adalah dengan ekstraksi cair-cair. Proses fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur (Harborne, 1987). Fraksinasi dilakukan berturut-turut dengan pelarut Air (polar), n-heksana (non polar) dan etil asetat (semi polar). Senyawa yang bersifat polar terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih cina akan terdistribusi kedalam pelarut air, sedangkan senyawa yang bersifat semi polar yang akan terdistribusi ke dalam pelarut etil asetat dan senyawa yang bersifat non polar akan terdistribusi ke dalam pelarut n-heksan.

Hasil Penentuan % Randemen Ekstrak dan Fraksi

Berdasarkan hasil pengolahan sampel yang dilakukan dilaboratorium, maka didapati hasil % randemen sampel yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil % Randemen Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Cina

Sampel	Nilai Randemen (%)
Ekstrak Etanol	40,094
Fraksi n-Heksan	37,195
Fraksi Etil Asetat	37,295
Fraksi Air	39,77

Hasil randemen pada tabel 2 menunjukkan perbedaan hasil randemen akibat polaritas pelarut untuk menarik senyawa dalam daun sirih cina berbeda. Randemen tertinggi untuk fraksi terdapat pada fraksi Air 39,77 % yang diamna menarik senyawa seperti glikosida flavanoid, polisakarida yang bersifat polar. Fraksi etil asetat 37,295 % bersifat semi polar dapat menarik senyawa aglikon, alkaloid dan polifenol. Fraksi n-Heksan 37,195 % bersifat non polar dapat menarik senyawa seperti steroid, lemak, fenil propanoid (Wicaksono dkk, 2021).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran mengenai kadungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti. Skrining fitokimia dapat dilakukan, baik secara kualitatif, semi kuantitatif, maupun kuantitatif sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu (Kristiati et al., 2008). Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam serbuk, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n- heksan daun sirih cina. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk, Ekstrak, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Dan Fraksi N-Heksan Daun Sirih Cina

No	Golongan Senyawa	Serbuk	Ekstra k Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan	Fraksi Air
1	Alkaloid					
	+Mayer	+	+	+	+	+
	+Dragendrof	+	+	+	+	+
	+Bouchardat	+	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	+	+	+
3	Saponin	+	+	+	+	+
4	Tanin	+	+	+	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	+Steroid	+Steroid	+Triterpenoid	+Steroid	+Triterpenoid
6	Glikosida	+	+	+	+	+

Keterangan:

(-): Tidak mengandung metabolit sekunder

(+): Mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 3 hasil skrining fitokimia serbuk, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirih cina menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan glikosida. Pada uji senyawa alkaloid, hasil positif pereaksi Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, pada pereaksi Dragendorf terdapat endapan berwarna merah atau jingga sedangkan untuk pereaksi Bouchardat terdapat endapan berwarna coklat (Septia Ningsih et al., 2020). Alkaloid dianggap positif apabila 2 dari 3 pereaksi terbentuk endapan atau terjadi perubahan warna, yang berarti serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun sirih cina positif mengandung senyawa alkaloid.

Pada hasil uji pemeriksaan alkaloid dari ekstrak daun sirih cina menggunakan fraksi n-heksan pada tabel diatas mengandung alkaloid, yang menunjukkan adanya kesalahan saat pengerjaan proses fraksinasi yang kurang efektif dalam pengojrokan yang kurang lama, sehingga pada pemisahan senyawa-senyawa aktif pada n-heksan belum sempurna terpisahkan sehingga pada pada uji alkaloid dihasilkan positif. Sementara alkaloid memiliki sifat polar dan semi polar. Sedangkan pelarut n-heksan memiliki sifat non polar, sehingga tidak akan

bereaksi dengan senyawa aktif dalam daun sirih cina yang tidak menarik metabolit sekunder pada alkaloid. Untuk menarik senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan air untuk menarik senyawa-senyawa polar.

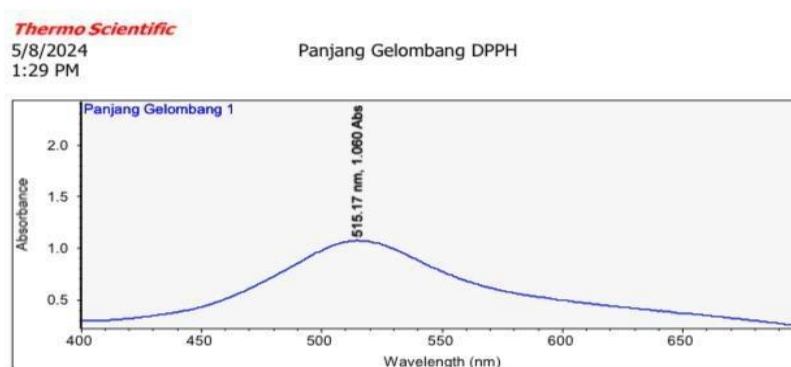
Pada uji flavonoid, terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga menunjukkan hasil positif flavonoid. Dari uji flavonoid pada serbuk dan fraksi daun sirih cina diperoleh hasil yang positif karena terbentuknya warna kuning. Sedangkan pada ekstrak etanol terbentuk warna kuning dan jingga. Pada uji saponin, serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun sirih cina menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan selama 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCL. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana et al., 2005).

Hasil positif pada uji tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 1%. Hal ini dapat terjadi karena penambahan FeCl_3 pada tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Septia Ningsih et al., 2020). Serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi air, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun sirih cina menunjukkan adanya senyawa tannin, karena terbentuk warna hijau kehitaman. Warna biru sampai hijau pada sampel menyatakan hasil positif senyawa steroid, sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menyatakan hasil positif uji terpenoid (Septia Ningsih et al., 2020). Serbuk simplisia, ekstrak etanol, dan fraksi n-Heksan daun sirih cina menunjukkan warna hijau yang berarti positif steroid. Hal ini terjadi karena senyawa steroid bereaksi dengan H_2SO_4 sehingga menghasilkan warna hijau hingga biru, sedangkan pada fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan warna merah kecoklatan yang berarti positif terpenoid. Pada hasil skrining glikosida dengan metode refluks. Serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-Heksan dan fraksi air daun sirih cina menunjukkan hasil positif senyawa glikosida. Hal ini ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida.

Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih cina, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan dengan metode pemerangkapan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV- Visibel.

Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum



Gambar 1. Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH 40 $\mu\text{g/ml}$ Dalam Etanol Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 µg/mL dalam metanol dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa DPPH dalam metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 515 nm yang telah memenuhi syarat interval panjang gelombang DPPH, dimana biasanya absorbansi DPPH dapat diukur pada panjang gelombang 515-520 nm (Marxen dkk, 2007), dan hasil pengukuran tersebut memenuhi kisaran panjang gelombang sinar tampak (400-800 nm), dimana warna yang diserap adalah warna ungu yang akan memberikan serapan pada panjang gelombang antara 500-560 nm.

Hasil Penentuan *Operating Time*

Operating time (waktu kerja) adalah waktu yang tepat untuk pembacaan serapan larutan yang diperiksa pada saat serapannya stabil pada kurva *operating time*. Sampel yang digunakan adalah yang berwarna sehingga dapat diketahui pada menit berapa terjadi kestabilan (Prastiwati dkk, 2010). Waktu kerja ditunjukkan dengan nilai absorbansi konstan yang diperoleh pada pengukuran rentang waktu tertentu selama 0-30 menit. Hasil penentuan *operating time* didapatkan absorbansi 0,987 pada menit ke 30 sampai menit ke 35. Maka pada menit tersebut waktu kerja yang baik untuk dilakukan pengukuran sampel berbagai konsentrasi. Diperoleh larutan stabil pada menit ke 30 sampai 35, berarti *operating time* (waktu kerja) pada menit ke 30 sampai 35, maka pada menit tersebut waktu kerja yang baik untuk dilakukan pengukuran sampel maupun vitamin C dengan berbagai konsentrasi.

Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Ekstrak Etanol Daun Sirih Cina, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan

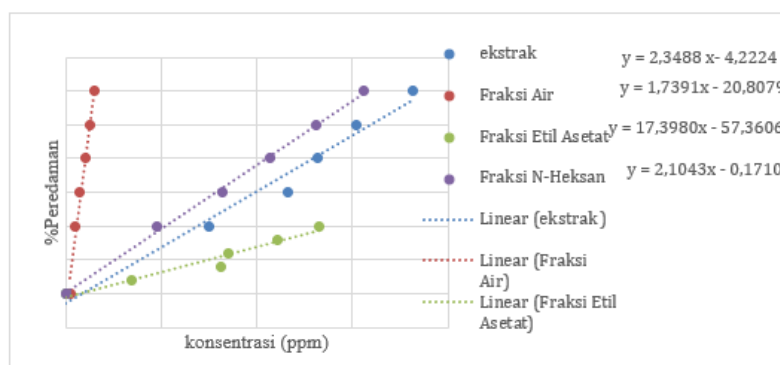
Tabel 4. Hasil pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Ekstrak Etanol Daun Sirih Cina, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan

No	Larutan uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata absorbansi	Abs blanko	% peredaman
1	Ekstrak Daun Sirih Cina	10	0,704	1,007	30,0893
		15	0,540		46,3753
		20	0,475		52,8301
		25	0,396		60,6752
		30	0,276		72,5918
2	Fraksi Air	10	0,861	0,906	4,9668
		15	0,721		20,4194
		20	0,661		27,0419
		25	0,534		41,0596
		30	0,464		48,7858
3	Fraksi Etil Asetat	2	0,791	0,918	13,8344
		4	0,620		32,4618
		6	0,606		33,9869
		8	0,510		44,4444
		10	0,431		53,0501
4	Fraksi n-Heksan	10	0,736	0,910	19,1208
		15	0,611		32,8571
		20	0,522		42,6373
		25	0,433		52,4175
		30	0,342		62,4175

Kemampuan antioksidan diukur pada menit ke 30-35 sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman radikal bebas) akibat adanya penambahan bahan uji dengan dilakukan pada

panjang gelombang maksimum 515 nm dengan konsentrasi 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL; 25 µg/mL; 30 µg/mL. Prinsip metode ini adalah senyawa DPPH yang tidak bereaksi dengan antioksidan (sisa) akan terbaca sebagai nilai absorbansi pada panjang gelombang 515 nm dalam pelarut metanol dan dapat dilihat secara organoleptis melalui perubahan warna dari ungu menjadi ungu muda, atau kuning muda. Penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri. Penurunan nilai absorbansi terjadi karena larutan uji memerangkap DPPH dan pemerangkapan terjadi karena adanya senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal yang akan mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi (Garcia dkk, 2012).

Hubungan antara konsentrasi dengan persen peredaman pada ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-Heksan daun sirih cina dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hubungan Konsentrasi dengan Peredaman

Pemerangkapan Pada Ekstrak, Fraksi Air, N-Heksan dan Etil Asetat Daun Sirih Cina

Tabel 4. dapat dilihat bahwa adanya kenaikan persen peredaman pada DPPH yang diberi ekstrak dan fraksi daun sirih cina sebagai pembandingan dalam metanol pada setiap kenaikan konsentrasi. Persen peredaman terjadi karena adanya senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal yang akan mereduksi DPPH-H yang tereduksi. Reaksi ini diamati dengan adanya perubahan warna pada DPPH dari ungu menjadi kuning ketika electron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hydrogen dari senyawa penangkap radikal bebas. Keberadaan antioksidan dalam tumbuhan akan menetralisasi radikal DPPH dengan memberikan elektroka kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning atau intensitas warna ungu larutan jadi berkurang. Penghilang warna akan sebanding dengan jumlah electron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri (Molyneux, 2004).

Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

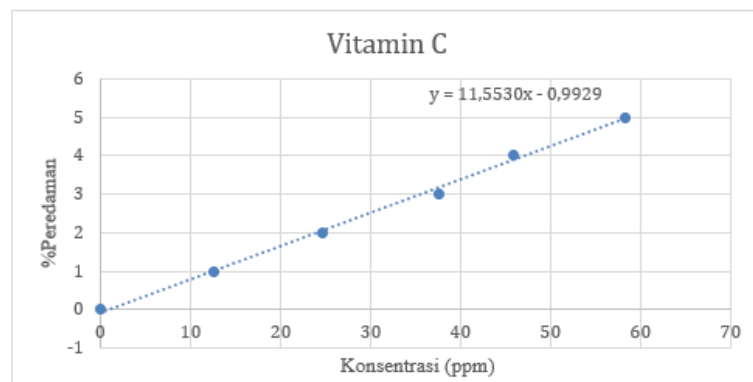
Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C menggunakan kontrol positif ditunjukkan untuk membandingkan seberapa kuat potensi antioksidan yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi daun sirih cina dengan antioksidan sintetik yang umum digunakan seperti vitamin C. Pengukuran absorbansi DPPH setelah penambahan baku vitamin C ini dilakukan pada panjang gelombang 515 nm, dengan konsentrasi 1 µg/mL ; 2 µg/mL ; 3 µg/mL ; 4 µg/mL ; 5 µg/mL . Maka didapatkan hasil absorbansi DPPH setelah penambahan vitamin C yang dapat dilihat pada tabel 5.

Persamaan regresi linier yang didapat dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C pada tabel 5 adalah: $y = 11,5530x + 0,9929$, dengan nilai korelasi 0,964. Nilai IC₅₀ yang dapat dari hasil pengukuran vitamin C adalah sebesar 4,2419 µg/ml. Nilai ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, karena memiliki nilai IC₅₀

kurang dari 50 µg/ml. Hubungan antara konsentrasi dan persen penghambat vitamin C dapat dilihat pada gambar 3.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Baku Pembanding (Vitamin C)

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Perendaman
1	1	0,842	12,6556
2	2	0,726	24,6887
3	3	0,601	37,6556
4	4	0,521	45,9543
5	5	0,402	58,2987



Gambar 3. Kurva Linier Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh antara ekstrak dan fraksi daun sirih cina dan vitamin C sebagai kontrol positif, dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ ekstrak dan fraksi daun sirih cina jauh lebih besar dibandingkan dengan nilai IC₅₀ vitamin C. Dimana pada nilai ekstrak daun sirih cina memiliki IC₅₀ 23,08514 µg/ml, fraksi air memiliki IC₅₀ 40,7152 µg/ml, etil asetat memiliki nilai IC₅₀ 6,17085 µg/ml, n-heksana memiliki IC₅₀ sebesar 23,8421 µg/ml dan tergolong sangat kuat, sedangkan vitamin C memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,2419 µg/ml dan tergolong sangat kuat. Hal tersebut menunjukkan ekstrak, fraksi dan vitamin C sama-sama memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori yang sangat.

Hasil Analisis Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan senyawa sebagai antioksidan yaitu IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara didapatkan konsentrasi sampel (µg/mL) atau fraksi uji sebagai absis (sumbu X) dan nilai% peredaman sebagai ordinat (sumbu Y). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin aktif sampel tersebut sebagai senyawa penangkap radikal DPPH atau senyawa antioksidan. Hasil analisis nilai IC₅₀ yang diperoleh dari sampel uji, Fraksi dan vitamin C dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Persamaan Regresi Linier dan Hasil Nilai IC₅₀

Larutan Uji	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Etanol	2,3488x+4,2224	23,08514
Daun Sirih Cina		
Fraksi Air	1,7391x+20,8079	40,71525
Fraksi Etil Asetat	17,3980x+57,3606	6,17085
Fraksi N-Heksan	2,1043x+0,1710	23,8421
Vitamin C	11,5530x+0,9929	4,2419

Hasil dari tabel 6 diketahui bahwa ekstrak etanol menunjukkan Berdasarkan regresi linier yang diperoleh, nilai IC₅₀ atau menangkap radikal DPPH sebanyak 50% dari aktivitas antioksidan memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategori 23,08514 µg/ml, diikuti dengan fraksi air memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategori 40,71525 µg/ml, fraksi etil asetat memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategori 6,17085 µg/ml, dan fraksi n-Heksan memiliki kekuatan sangat kuat dengan kategori 23,8421 µg/ml. Baku pembanding yang digunakan merupakan Vitamin C salah satu antioksidan alami yang memiliki aktifitas sangat kuat 4,2419 µg/ml. Perbedaan aktivitas antioksidan disebabkan perbedaan kandungan metabolit sekunder seperti pada fraksi etil asetat yang mengandung senyawa semi polar seperti flavonoid, polifenol yang memiliki potensi antioksidan. Hasil pada ekstrak etanol disebabkan masih adanya senyawa kompleks metabolit sekunder, adanya kandungan polifenol dan flavonoid memberikan aktivitas antioksidan lebih tinggi. Menurut (Salar & Seasotiya, 2011), jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi kandungan flavonoid yang dihasilkan semakin tinggi kandungan flavonoid akan meningkat aktivitas antioksidan. Adapun kategori kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Kategori Kekuatan Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀

IC ₅₀ (µg/ml)	Aktivitas Antioksidan
< 50	Sangat Kuat
50-100	Kuat
101-250	Sedang
250-500	Lemah
>500	Tidak Aktif

Dari tabel 7, menurut (Molynex, 2004), menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ kurang dari 200 µg/mL. Antioksidan berperan mencegah terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan radikal bebas dengan cara mengeliminir terbentuknya radikal, meredam atau meningkat penguraiannya (Saefudin dkk, 2013).

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi karakteristik serta aktivitas antioksidan daun sirih cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) melalui serangkaian analisis makroskopik, mikroskopik, karakterisasi simplisia, ekstraksi, dan fraksinasi.

Hasil Identifikasi dan Pengolahan Sampel

Daun sirih cina dari famili Piperaceae diidentifikasi di Herbarium Medanase (MEDA), Universitas Sumatera Utara. Proses pengolahan dimulai dengan pengeringan daun sirih cina dari berat basah 5 kilogram hingga menjadi 1,25 kilogram daun kering. Selanjutnya, daun dikonversi menjadi serbuk halus seberat 500 gram dengan warna coklat kehijauan dan aroma khas.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Analisis makroskopik menunjukkan bahwa daun sirih cina memiliki bentuk tegak bercabang dengan ketebalan sekitar 5 mm, panjang 2,5 cm, dan lebar 2,2 cm. Daun berwarna hijau pucat dengan tampilan yang berkilau. Pemeriksaan mikroskopik memperlihatkan adanya epidermis, sklerenkim, dan rambut penutup yang khas pada daun sirih cina. Karakterisasi simplisia mengungkapkan kadar air sebesar 3%, kadar abu total 7,23%, dan kadar abu tidak larut asam 2,74%, yang semuanya memenuhi standar yang ditetapkan. Kadar sari larut air (19,295%) dan sari larut etanol (6,25%) juga sesuai dengan kriteria yang diharapkan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, menghasilkan ekstrak kental

seberat 200,4746 gram dari 500 gram serbuk simplisia, dengan rendemen 40,094%. Fraksinasi dilakukan dengan pelarut air, n-heksan, dan etil asetat untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Fraksi air memiliki rendemen tertinggi (39,77%), diikuti oleh fraksi etil asetat (37,295%) dan fraksi n-heksan (37,195%).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia mengidentifikasi keberadaan berbagai senyawa metabolit sekunder. Semua sampel—serbuk simplisia, ekstrak etanol, dan fraksi—menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan glikosida. Pada uji alkaloid, hasil positif menunjukkan bahwa senyawa ini terdapat dalam semua fraksi, meskipun proses fraksinasi mungkin tidak sepenuhnya efektif. Flavonoid, saponin, dan tannin terdeteksi dengan jelas pada semua sampel, sedangkan steroid dan terpenoid teridentifikasi dalam fraksi tertentu.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dievaluasi menggunakan metode DPPH dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 515 nm. Hasil menunjukkan bahwa semua ekstrak dan fraksi memiliki kemampuan meredam radikal DPPH, dengan persen peredaman meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Ekstrak etanol menunjukkan peredaman terbaik dengan IC₅₀ sebesar 23,085 µg/ml, sedangkan fraksi air, etil asetat, dan n-heksan memiliki IC₅₀ masing-masing sebesar 40,7152 µg/ml, 6,17085 µg/ml, dan 23,8421 µg/ml. Vitamin C sebagai kontrol positif menunjukkan IC₅₀ 4,2419 µg/ml, yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi daun sirih cina. Daun sirih cina mengandung berbagai senyawa aktif yang menunjukkan potensi antioksidan yang signifikan. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat menunjukkan kemampuan antioksidan yang relatif baik, meskipun vitamin C tetap menjadi kontrol positif dengan aktivitas yang lebih kuat. Hasil ini menegaskan potensi daun sirih cina sebagai sumber alami untuk senyawa dengan aktivitas antioksidan yang bermanfaat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling kuat, dengan nilai IC₅₀ mencapai 6,17085 µg/ml. Ini menandakan bahwa etil asetat memiliki potensi antioksidan yang sangat tinggi. Selain itu, fraksi yang paling banyak dihasilkan dari penelitian ini adalah fraksi air, dengan rendemen mencapai 39,77%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih atas dukungan, inspirasi dan bantuan kepada semua pihak dalam membantu peneliti menyelesaikan penelitian ini, termasuk pada peserta yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Dirjen POM, (2000). Farmakope standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta, Indonesia
- Garcia, E. J., Oldoni, T. L. C., Alencar, S. M. D., Reis, A., Loguercio, A. D., Grande, R. H. M. 2012. Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth. Braz Dent J. 23(1): 23.

- Kristiati, Elly, and Winda Utami Putri. Dormansi Pada Biji Kedawung (*Parkia Javanica* (Lam.) Merr.): Pengaruh Skarifikasi Dan Aplikasi Stimulan Kimiawi Terhadap Perkecambahan Biji. Indonesian Institute of Sciences, 2008.
- Marlina, A., Salsabilla, F., & Mariska, R. P. (2023). Upaya Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Asam Urat Menggunakan Tanaman Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L Kunth) di RT 28 Kelurahan Lebak Bandung Kecamatan Jelutung, Kota Jambi. *Jurnal Abdi Masyarakat Indonesia*, 3(1), 97–102. <https://doi.org/10.54082/jamsi.603>
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., Hansen, U. P. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors* 2007.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219. Halaman 212-217.
- Mustarichie, R., Runadi, D. & Danni, R. 2017. The Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of Ethanol Extract, Fractions of Water, Ethyl Acetate and n-hexana from Mistletoe Tea (*Scurrula Atropurpurea* bl. Dans). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(2): 343
- Ningsih, Septia, Diana Vivanti Sigit, and Elsa Lisanti. "Development of Multimedia Based Teaching Materials To Increase Cognitive Learning Outcomes in Respiration Systems." *International Journal of Engineering Technologies and Management Research* 6.7 (2020): 34-45.
- Permadi, A. at al.,(2018). Perbandingan Metode Estraksi Bertingkat Dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplikan (*Physalis angulata* L.) Secara Kolorimetri. *Jurnal Online Mahasiswa*.
- Wicaksono, B., Pratimasari, D., & Lindawati, N. Y. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Metode ABTS. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(3), 88-94.
- Yanti, N. P. R. D., Anggreni, N. P. P. C., Pratiwi, K. A. P., Udayani, N. N. W., & Adrianta, K. A. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Sirih Cina (*Peperomia pellucida*) dengan Metode DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3).