

ISOLASI SENYAWA KIMIA AKTIF ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.)

ISOLATION OF CHEMICAL ACTIVE COMPOUNDS ANTIOXIDANT FROM ETHYL ACETATE FRACTION OF BETEL LEAF FOREST (*Piper aduncum* L.)

Alfrida Batan,¹ Daniel,^{1,*} Partomuan Simanjuntak²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok, Kampus Unmul Gunung Kelua No.4 Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

²Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Cibinong Bogor, Indonesia

*E-mail: daniel_trg08@yahoo.com

Received: 31 May 2018, Accepted: 15 August 2018

ABSTRACT

Research about the isolation of chemical active compounds antioxidants from ethyl acetate fraction of betel leaf forest (*Piper aduncum* L.) have been done. This research aimed to determine the type of secondary metabolites that contained in ethyl acetate fraction and the value of antioxidant activity as well as the structure that contained in ethyl acetate fraction. The test results of phytochemical showed that the secondary metabolites in ethanol extract are alkaloids, steroids and triterpenoids. The inhibitory concentration 50% (IC₅₀) value that shown in the fraction *Piper aduncum* ethyl acetate-4-3 (PAEA-4-3) is 132.84 ppm. Fraction of PAEA-4-3 that have high levels of antioxidant activity was analyzed using a spectrophotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis), Infrared Fourier-Transform (FTIR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) proton and carbon. The result analysis of PAEA-4-3 isolates showed the compound as 2,3-dimethoxy-metilanaoksi-benzene.

Keywords: *Piper aduncum* L., Antioxidant, Phytochemical, Fractionation, Secondary Metabolites

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber hayati dan telah menempati urutan kedua sebagai negara yang memiliki keanekaragaman hayati (*biodiversity*) setelah negara Brazil. Di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan obat dan baru sekitar 1.200 spesies tumbuhan obat yang telah dimanfaatkan dan diteliti sebagai obat. Beberapa spesies tumbuhan obat di hutan tropis Indonesia justru digunakan oleh negara lain [1].

Salah satu tanaman obat yang sering digunakan adalah Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang dikenal dengan nama daerah seureuh (Sunda), ranub (Aceh) dan base (Bali). Pemanfaatan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) sebagai obat tradisional telah dikenal oleh masyarakat Indonesia yang dapat digunakan untuk pengobatan antara lain menghilangkan bau badan, menghentikan pendarahan, membantu penyembuhan luka dikulit dan gangguan saluran pencernaan. Beberapa sumber menyatakan bahwa sirih hutan bersifat mengeluarkan dahak dan meluruhkan ludah. Selain itu kandungan bahan aktif fenol dan kavikol daun sirih hutan juga dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati untuk mengendalikan hama pengisap. Selain itu, tanaman

ini memiliki getah pada batang yang berkhasiat sebagai obat bisul dan obat luka baru [2].

Penelitian sebelumnya ditemukan berbagai jenis metabolit sekunder yang memperlihatkan aktivitas antioksidan dan potensi sebagai antioksidan seperti senyawa flavonoid, fenolat dan alkaloid [3]. Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat antioksidan atau saat tubuh kelebihan radikal bebas. Hal ini dapat menyebabkan perkembangan sel kanker, penyakit hati, katarak bahkan juga mempercepat proses penuaan. Sehubungan dengan hal tersebut perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap daun sirih hutan [4].

Pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa kimia aktif antioksidan dari fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) ekstrak total sirih hutan difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Fraksi etil asetat diuji fitokimia dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Isolat yang diperoleh ditentukan aktivitas antioksidannya dan penentuan struktur kimia diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FTIR dan Resonansi Magnet Inti (RMI) proton dan karbon.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah serangkaian alat *Rotary evaporator*, corong kaca, gelas ukur 1000 mL, Labu Erlenmeyer 1000 mL, neraca analitik, spatula, batang pengaduk, corong pisah 1000 mL, pipet tetes, cawan petri, *waterbath*, sonikator, vial, tiang statif, kromatografi kolom, tabung reaksi, labu ukur 25 mL, labu ukur 10 mL, rak tabung, mikropipet, alat inkubasi 37°C, gelas ukur, kuvet, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR, spektrofotometer RMI, *chamber* KLT, lampu TL, pinset, pipa kapiler, mistar, dan lemari asam.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah etanol, etil asetat, akuades, serium sulfat, kapas, vaselin, aluminium *foil*, tissue, metanol pro analis, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), vitamin C, plat silika gel 60 GF₂₅₄, celite dan sea sand, reagen Dragendroff, reagen Lieberman-Bouchard, FeCl₃ 1%, serbuk Mg dan HCl_(p).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sebanyak 1 kg simplisia dimaserasi dengan pelarut organik etanol, kemudian hasil maserasi difraksinasi dengan pelarut etil asetat:air (1:1). Hasil fraksinasi yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* (pada suhu 40°-50°C). Ekstrak pekat yang didapatkan di *waterbath* untuk mempercepat pengeringan, serta diangin-anginkan. Sehingga diperoleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air yang kental.

Pada ekstrak etanol dilakukan uji fitokimia kemudian ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling baik dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif sebagai antioksidan.

Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji fenolik, uji saponin, uji terpenoid dan steroid.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas

Larutan uji dan larutan kontrol positif yang sudah disiapkan, masing-masing dimasukkan ke

dalam tabung reaksi. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM, kemudian ditambahkan dengan metanol hingga 5 mL, homogenkan. Larutan blanko, larutan uji dan larutan vitamin C (pembanding) segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan yang diperoleh kemudian dicatat dan dihitung persen hambatan aktivitas radikal bebasnya.

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT)

Masing-masing ekstrak dianalisis dengan KLT yang bertujuan untuk mengetahui pola kromatogram. Analisis dilakukan dengan menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ menggunakan beberapa fase gerak. Bercak diamati di bawah sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian disemprotkan dengan pereaksi (serium sulfat 10 %) lalu dipanaskan sampai bercak muncul. Fase gerak yang dicoba adalah *n*-heksana:etil asetat (1:1); kloroform:metanol (5:1) dan kloroform:metanol:air (5:1).

Fraksinasi dengan metode kromatografi kolom

Fraksi PAEA-4-3 yang diperoleh difraksinasi dengan kromatografi kolom yang menggunakan fase diam silika gel dan menggunakan fase gerak yang sesuai berdasarkan hasil analisis KLT yaitu etil asetat secara gradien dari 10:1 sampai 1:1. Hasil yang diperoleh ditampung dan kemudian diuapkan sampai hasil fraksinasi kering kemudian dianalisis menggunakan KLT dan setiap fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung dalam satu wadah dan tiap fraksi diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

Spektrofotometri Ultra violet (UV), Infra Merah (IR), Resonansi Magnet Inti (RMI) Proton dan Karbon

Isolat murni yang diperoleh dari hasil pemurnian kromatografi kolom diidentifikasi menggunakan spektrofotometri ultra violet (UV), Infra Merah (IR) dan Resonansi Magnet Inti (RMI) proton dan karbon untuk mendapatkan informasi gugus kromofor, gugus fungsional dan jumlah atom karbon dan proton sehingga dapat dipergunakan untuk menentukan struktur senyawa tersebut.

Analisis data

Pada setiap fraksi yang dihasilkan pada kromatografi kolom dilakukan analisis uji aktivitas antioksidan.

a. Serapan blanko, kontrol positif dan serapan larutan yang telah diukur pada spektrofotometer

UV-Vis dicatat kemudian dicari persen hambatan aktivitas radikal bebas dengan cara memasukkan hasil serapan pada masing-masing konsentrasi, pada rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\% \quad (1)$$

- b. Mencari persamaan regresi linier dengan memasukkan nilai konsentrasi larutan uji sebagai sumbu X dan persen hambatan sumbu Y.
- c. Menghitung IC₅₀ dengan cara memasukkan persen hambatan sebesar 50% pada persamaan linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi komponen metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol tanaman *Piper aduncum* L. sehingga memungkinkan untuk mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan (tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun sirih hutan

Jenis Senyawa	Pereaksi Kimia	Ekstrak Etanol
Alkaloid	Dragendorff	+
Saponin	Dikocok	-
Steroid	Liebermann-Burchard (Hijau)	+
Triterpenoid	Liebermann-Burchard (Merah)	+
Flavonoid	Serbuk Mg + 1 mL HCl _(p)	-
Fenolik	FeCl ₃ 1%	-

Keterangan: + = ada, - = tidak ada

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal Bebas

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak sampel daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) didasarkan pada kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH dilakukan secara spektrofotometri ultra ungu-tampak. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pereaksi DPPH pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm karena DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang tersebut apabila ada elektron yang tidak berpasangan, yang mana apabila direaksikan dengan larutan uji (ekstrak dan pembanding) dengan ditandai peluruhan warna ungu pada DPPH. Perubahan warna tersebut mempengaruhi nilai absorbansi DPPH. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin rendah nilai absorbansi dari larutan DPPH. Perubahan warna ini terjadi dikarenakan adanya senyawa yang memberikan atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk

yang lebih stabil yaitu DPPH-H (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) (Molyneux, 2004). Perubahan warna tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer yang dinyatakan dengan % inhibisi lalu diplotkan terhadap konsentrasi. Kemudian nilai IC₅₀ dihitung dari regresi linear yang diperoleh. Nilai tersebut menunjukkan konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Pada uji antioksidan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air dengan menggunakan konsentrasi 100 ppm terhadap ekstrak. Pengujian dilakukan secara triplo. Pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Nilai % inhibisi dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air

Sampel	C (ppm)	Ab	As			As rata-rata	Peredaman radikal bebas (%)
			As1	As2	As3		
Ekstrak etanol	100	0,643	0,073	0,083	0,063	0,073	88,65
Fraksi etil asetat	100	0,643	0,069	0,068	0,067	0,068	89,42
Fraksi etanol-air	100	0,643	0,021	0,023	0,018	0,021	96,73

Keterangan :

Ab = serapan blangko (kontrol negatif)

As = serapan larutan uji

C = konsentrasi larutan

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Etil Asetat

Fraksi etil asetat dilarutkan dengan pelarutnya. Eluen non-polar n-heksana-etil asetat dengan perbandingan 10:1 dan fase diam Silika Gel GF₂₅₄ eluen ini dipilih karena pada saat dielusi dengan eluen tersebut plat menunjukkan noda yang baik, dengan penampakan bercak serum sulfat menghasilkan 3 noda dengan Rf= 0,71; 0,22 dan 0,25.

Isolasi Fraksi Etil Asetat

Kromatografi kolom pertama

Fraksinasi dari fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dengan kromatografi kolom bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang murni (lebih sederhana) dari sebelumnya.

Fraksinasi dengan kolom kromatografi kolom SiO₂; n-heksana; etil asetat secara gradien menggunakan fase diam silika gel 60 mesh dan fase gerak yang digunakan adalah n-heksana-etil asetat (10:1), (5:1) dan (2:1), diperoleh 17 fraksi. Setiap fraksi yang diperoleh dilakukan analisis dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung, sehingga diperoleh 6 fraksi. Hasil fraksinasi yang sederhana dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil fraksi PAEA-1 sampai PAEA-6 dilakukan uji antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi yang dihasilkan. Dimana digunakan konsentrasi 100 ppm terhadap fraksi PAEA-1 sampai PAEA-6. Pengujian dilakukan secara triplo. Pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Dari hasil tersebut didapatkan nilai persentase peredaman radikal bebas (% inhibisi) apa bila nilainya suatu fraksi di atas 50% maka ekstrak tersebut dapat dilanjutkan dengan pengujian antioksidan dengan menggunakan variasi konsentrasi untuk mendapatkan persamaan linear sehingga nilai IC₅₀ dapat ditentukan. Nilai % inhibisi dari fraksi PAEA-1 sampai PAEA-6 dapat dilihat pada tabel 4.

Berdasarkan tabel 4 hasil uji senyawa antioksidan terhadap fraksi PAEA-1 sampai fraksi PAEA-6 menunjukkan bahwa fraksi PAEA-4 memiliki aktivitas antioksidan dengan % inhibisi diatas 50% yaitu 83,30% yang hampir sama dengan fraksi PAEA-6, sehingga fraksi ini dapat dilanjutkan untuk fraksinasi ke kromatografi kolom kedua.

Tabel 3. Hasil fraksinasi kromatografi kolom I

Fraksi	Botol no.	Fase gerak	Bobot fraksi (g)
PAEA-1	1-2	n-heksana-etil asetat (10:1)	1,98
PAEA-2	3	n-heksana-etil asetat (10:1)	1,76
PAEA-3	4-6	n-heksana-etil asetat (5:1)	4,27
PAEA-4	7-9	n-heksana-etil asetat (2:1)	1,45
PAEA-5	10-16	n-heksana-etil asetat (2:1)	1,47
PAEA-6	17	n-heksana-etil asetat (1:1)	0,17

Keterangan : PAEA (*Piper aduncum* etil asetat)

Tabel 4. Hasil uji senyawa aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas

Sampel	C (ppm)	Ab	As			As rata-rata	Peredaman radikal bebas (%)
			As1	As2	As3		
PAEA - 1	100	0,497	0,463	0,478	0,442	0,461	7,24
PAEA - 2	100	0,497	0,390	0,356	0,427	0,391	21,33
PAEA - 3	100	0,497	0,337	0,313	0,333	0,328	34
PAEA - 4	100	0,497	0,076	0,081	0,091	0,083	83,30
PAEA - 5	100	0,497	0,143	0,136	0,138	0,139	72,03
PAEA - 6	100	0,497	0,079	0,084	0,072	0,078	84,31

Keterangan :

Ab = serapan blangko (kontrol negatif)

As = serapan larutan uji

C = konsentrasi larutan

Kromatografi kolom kedua

Sebanyak 1,45 g fraksi PAEA-4 yang mempunyai aktivitas antioksidan kuat dengan % inhibisi diatas 50% yaitu 83,30 % dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom dengan harapan diperoleh suatu senyawa yang murni. Fraksi PAEA-4 (1,45 g) difraksinasi secara isokratik dengan fase gerak *n*-heksana-etil asetat (10:1) hingga diperoleh 99 fraksi. Setiap fraksi yang diperoleh dilakukan analisis

dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung, sehingga diperoleh 6 fraksi yang lebih sederhana. Pada kromatografi kolom kedua terdapat kristal yang berwarna putih kehijauan pada fraksi PAEA-4-3 (No.25-29) dan fraksi PAEA-4-4 (No.30-38). Hasil fraksinasi dapat dilihat pada tabel 5 dan hasil kromatogram dengan KLT menghasilkan noda tunggal dengan Rf= 0,87.

Tabel 5. Hasil akhir penggabungan fraksinasi fraksi PAEA-4 kromatografi kolom II

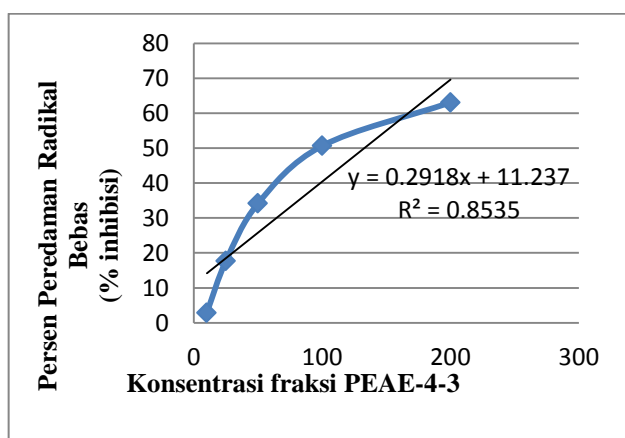
Fraksi	Botol no.	Fase gerak	Bobot fraksi (g)
PAEA-4-1	1-18	<i>n</i> -heksana-etil asetat (10:1)	0,03
PAEA-4-2	19-24	<i>n</i> -heksana-etil asetat (10:1)	0,02
PAEA-4-3	25-29	<i>n</i>-heksana-etil asetat (10:1)	0,08
PAEA-4-4	30-38	<i>n</i> -heksana-etil asetat (10:1)	0,11
PAEA-4-5	39-51	<i>n</i> -heksana-etil asetat (10:1)	0,11
PAEA-4-6	52-99	<i>n</i> -heksana-etil asetat (10:1)	0,10

Tabel 6 Hasil uji antioksidan fraksi PAEA-4-3 dan vitamin C sebagai kontrol positif

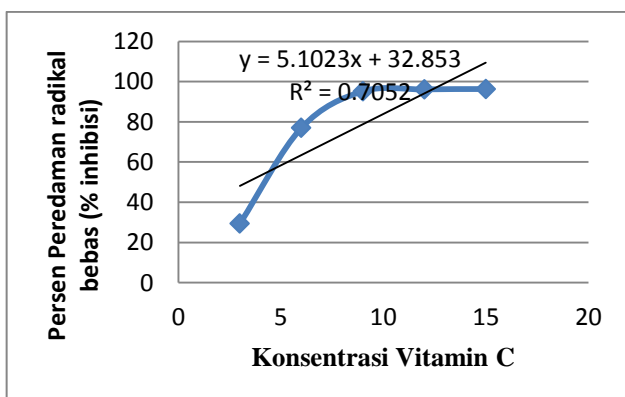
Sampel	Ab	C(ppm)	As	Peredaman radikal bebas (%)	Regresi Linear	IC ₅₀ (µg/mL)
PAEA-4-3	0,620	10	0,602	2,90	Y= 0,2918x + 11,237	132,84
		25	0,510	17,74		
		50	0,408	34,19		
		100	0,036	50,65		
		200	0,229	63,06		
Vitamin C	0,620	3	0,438	29,35	Y = 5,1023x + 32,853	3,36
		6	0,143	76,94		
		9	0,030	95,16		
		12	0,024	96,13		
		15	0,023	96,29		

Setelah disemprot kemudian dipanaskan sampai timbul bercak Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal bebas DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan menentukan IC_{50} . Hasil dari uji antioksidan fraksi PAEA-4-3 hasil koromatografi kolom dapat dilihat pada tabel 6.

Hasil uji peredaman radikal bebas terhadap fraksi PAEA-4-3 memberikan IC_{50} sebesar 132,84 ppm yang mempunyai taraf sedang aebagai antioksidan. Kurva persamaan regresi linear dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi PAEA-4-3 daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat dilihat pada gambar 1 dan untuk vitamin C sebagai pembanding pada gambar 2.



Gambar 1. Grafik regresi Linear antara konsentrasi dengan % inhibisi dari fraksi PAEA-4-3 daun sirih hutan (*Piper aduncum* L)



Gambar 2. Grafik regresi linear antara konsentrasi dengan % inhibisi dari vitamin C (Asam askorbat)

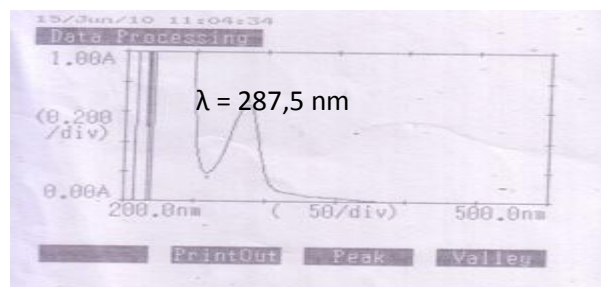
Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} bernilai 101-250 ppm dan lemah jika IC_{50} bernilai 250-500 ppm (Jun M, 2006). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi PAEA-4-3 tergolong sebagai senyawa antioksidan kategori sedang.

Identifikasi isolat fraksi PAEA-4-3

Analisis senyawa isolat murni PAEA-4-3 dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer Ultra violet (UV) untuk memberikan informasi gugus kromofor, Infra merah (IR) untuk gugus fungsional, Resonansi Magnet Inti (RMI) proton dan karbon untuk memberikan jumlah proton (hydrogen) dan karbon dari struktur kimia yang akan ditentukan.

Analisis spektrofotometer ultraviolet cahaya tampak UV-VIS

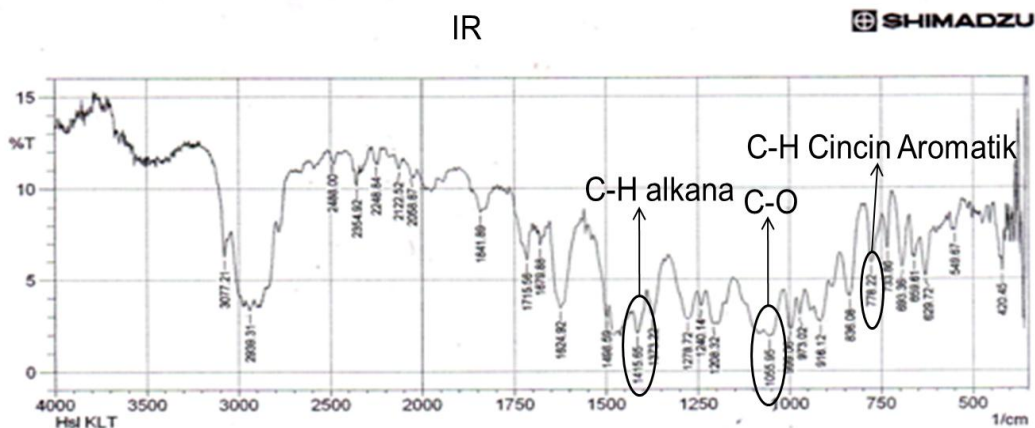
Analisis spektroskopi UV-VIS terhadap isolat murni menunjukkan bahwa serapan maksimum terjadi pada panjang gelombang 287,5 nm Data ini menginformasikan bahwa pada struktur kimia isolat mengandung gugus kromofor (suatu alkena). Hasil pengukuran serapan UV-VIS dari isolat dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Spektrum UV isolat murni PAEA 4-3

Analisis spektroskopi inframerah (IR)

Spektrum FT-IR untuk senyawa isolate menunjukkan adanya gugus C-H cincin aromatic pada 690,36 cm^{-1} , 733,80 cm^{-1} , 778,72 cm^{-1} , 808,08 cm^{-1} , gugus C-O pada 1050,85 cm^{-1} , 1204,32 cm^{-1} , 1240,14 cm^{-1} , 1279,72 cm^{-1} ; gugus C-H alkanapada 1373,33 cm^{-1} , dan 1415,90 cm^{-1} . Hasil spektrum inframerah isolate dapat dilihat pada gambar 4 dan hasil analisisnya dapat dilihat pada tabel 7.



Gambar 4. Spektrum Infra merah untuk isolat murni PAEA-4-3

Tabel 7. Hasil pektrum FT-IR senyawa isolat X

Bilangan Gelombang cm ⁻¹	Rentang Bilangan Gelombang cm ⁻¹	Tipe ikatan
690,36 733,80 778,72 808,08	690 – 900	C-H cincinaromatik
1050,85 1204,32 1240,14 1279,72	1050 – 1300	C-O
1373,33 1415,90	1340 – 1470	C-H alkana

Analisis spektra resonansi magnet inti proton (¹H-RMI) fraksi PAEA-4-3

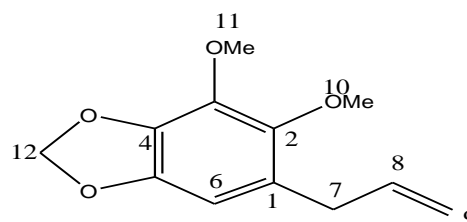
Analisa struktur dengan ¹H-RMI memungkinkan untuk mengetahui kedudukan proton dalam suatu molekul. Data yang dihasilkan dari ¹H-RMI berupa pergeseran kimia yang dapat dianggap sebagai ciri bagian tertentu dari suatu struktur molekul dan dapat membantu mengidentifikasi tiap gugus suatu senyawa.

Data spektrum ¹H-RMI pada fraksi PAEA-4-3 menunjukkan bahwa pergeseran kimia proton δH 3,31 doublet (d) -CH₂-; 3,75 singlet (s) O-CH₃; 4,01 singlet (s) O-CH₃; 5,05 triplet (t) =CH₂; 5,88 singlet (s) O-CH₂-O; 5,90 singlet (s) =CH-; 6,35 singlet (s) =CH.

Analisis spektra RMI karbon dan DEPT fraksi PAEA-4-3

Penyidikan spektra RMI karbon dan analisis DEPT (*Distortions Enhacement of NMR Singnals by Polarization Transfer*) untuk senyawa isolat menunjukkan bahwa terdapat 12 atom karbon. Kedua belas karbon tersebut terdiri dari 3 gugus CH₂ pada

δC 34,07; 101,26 dan 115,73. 2 gugus O-CH₃ pada δC 60,14 dan 61,45; 2 gugus CH pada δC 102,91 dan 137,55; 5 gugus C pada δC 126,21; 136,07; 137,78; 144,44 dan 144,75.



2,3-Dimetoksi-metilenaoksi-benzena
Gambar 5. Struktur kimia PAEA-4-3

Berdasarkan data spektra UV yang menunjukkan adanya ikatan rangkap (suatu alkena), data spektra IR menunjukkan adanya suatu cincin aromatik dan data RMI (proton dan karbon) memberikan skeleton karbon yang mempunyai 12 karbon terdiri dari 5 karbon kuartener; satu gugus =CH₂- ; dua metoksi satu gugus metilen satu gugus metilen ikatan rangkap dua (OCH₃); satu gugus

metilen (-CH₂-) dan satu gugus metilanaoksi (-O-CH₂-O-) yang dapat dilihat pada gambar 5 dan penelusuran pustaka oleh M. Habsah, *et. al.*, 2015), maka struktur kimia isolat PAEA 4-3 ditentukan sebagai senyawa Dillapiol.

KESIMPULAN

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) adalah senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas (DPPH) dari fraksi PAEA-4-3 daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) diperoleh nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50) sebesar 132,84 ppm tergolong sebagai senyawa antioksidan kategori sedang. Struktur kimia isolat murni PAEA4-3 ditetapkan sebagai 2,3-dimeteoksi - metilenoksi-benzena.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hembing, 2007. *Tanaman Obat Asli Milik Masyarakat Bangsa dan Negara RI*. Mambo Open Source. 21 Agustus 2007: hal. 1-2.
- [2] Orjala, J., Wright A.D., Behreds, H., Folkers, G., Sticher, O., Ruegger, H., Rail, T. 2004. 'Cytotoxic and Antibacterial Dydrohalcones from *Piper aduncum*', *J. Nat. Prod.*, Jan;57.

- [3] Kalauw, S. N. 2015. "*Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol dan Air Daun Sirih Hutan (Piper Aduncum L.)*". Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Mulawarman.
- [4] Molyeux, P. 2004. *The Use of Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Journal of Science Technology*, Vol 26 (2): 211-219.