

Comparison of antioxidant compounds of green betel (*Piper betle*) and red betel (*Piper crocatum*) extracts using different solvents with the DPPH method

Septahani Putri Raswanti¹, Poppy Fransisca Amelia^{1*}, Heni Wijayanti¹

¹ Program Studi Ilmu Biomedis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Karya Husada, Semarang, Indonesia

*Correspondence: poppy@stikesyahoedsmsg.ac.id

ABSTRACT

Background: Green betel (*Piper betle*) and red betel (*Piper crocatum*) leaves are widely reported to contain flavonoids, tannins, alkaloids, and saponins, compounds empirically linked to free-radical scavenging activity, yet a direct, quantitative comparison of their antioxidant strength across two polar solvents remains scarce. **Objective:** To compare the phytochemical content and antioxidant activity of green and red betel leaf extracts using 70% ethanol and 70% methanol via the DPPH method. **Method:** This laboratory-experimental study was conducted at the Biomedical Science Laboratory, Universitas Karya Husada Semarang, from 22–28 February 2024 (Ethical Clearance No. 003/KEP/UNKAHA/SLE/2024). Antioxidant activity was measured across a 5–9 ppm concentration range, modeled with the linear regression curve $y=ax+b$, and compared across the four extract-solvent combinations using the Kruskal-Wallis test. **Result:** Phytochemical screening revealed a more complete compound profile in 70% ethanol than in 70% methanol for both leaf types. All four combinations exhibited DPPH inhibition above 70% even at the lowest tested concentration (5 ppm; range 72.10–97.46%), placing the true IC₅₀ below 5 µg/mL for every combination — well under the 50 µg/mL “very strong” threshold. The Kruskal-Wallis test detected no significant difference in inhibition percentage among the four combinations ($H=3.85$, $df=3$, $p=0.279$). **Conclusion:** Both green and red betel extracts, in either solvent, qualify as very strong antioxidants with no statistically meaningful difference in potency, positioning either as an equally promising candidate for further natural antioxidant development.

Keywords: Green betel leaf (*Piper betle*); red betel leaf (*Piper crocatum*); 70% ethanol; 70% methanol; DPPH.

Received: 24 Juni 2024 | Revised: 4 Agustus 2024 | Accepted: 5 Agustus 2024 | Published: 13 Agustus 2024

Cite this article: Raswanti, S. P., Amelia, P. F., & Wijayanti, H. (2024). Perbandingan senyawa antioksidan ekstrak sirih hijau (*Piper betle*) dan sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pelarut berbeda dengan metode DPPH. *Journal of Biomedical Sciences and Health*, 1(2), 60-69. <https://doi.org/10.34310/jbsh.v1.i2.79>

Perbandingan senyawa antioksidan ekstrak sirih hijau (*Piper betle*) dan sirih merah (*Piper crocatum*) pelarut berbeda dengan metode DPPH

ABSTRAK

Latar belakang : Daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) dikenal luas mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin, yang secara empiris dikaitkan dengan aktivitas biologis, termasuk potensi peredam radikal bebas. Namun, perbandingan langsung kekuatan antioksidan kedua jenis sirih pada dua pelarut polar yang berbeda belum banyak didokumentasikan secara kuantitatif. **Tujuan :** Membandingkan kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah menggunakan pelarut etanol 70% dan metanol 70% dengan metode DPPH. **Metode :** Penelitian eksperimental laboratorik ini dilaksanakan di Laboratorium Sains Biomedis Universitas Karya Husada Semarang pada 22–28 Februari 2024 (Ethical Clearance No. 003/KEP/UNKAHA/SLE/2024). Aktivitas antioksidan diukur pada rentang konsentrasi 5–9 ppm, dimodelkan dengan kurva regresi linier $y=ax+b$, dan dibandingkan antara empat kombinasi ekstrak-pelarut menggunakan uji Kruskal-Wallis. **Hasil :** Skrining fitokimia menunjukkan profil senyawa yang lebih lengkap pada pelarut etanol 70% dibandingkan dengan metanol 70% untuk kedua jenis sirih. Keempat kombinasi ekstrak-pelarut menunjukkan persentase inhibisi DPPH di atas 70% bahkan pada konsentrasi terendah yang diuji (5 ppm; kisaran 72,10–97,46%), sehingga nilai IC₅₀ sesungguhnya berada di bawah 5 µg/mL untuk seluruh kombinasi — jauh melampaui ambang “sangat kuat” (IC₅₀ < 50 µg/mL). Uji Kruskal-Wallis tidak menunjukkan perbedaan persentase inhibisi yang signifikan antara keempat kombinasi ($H=3,85$; $df=3$; $p=0,279$). **Kesimpulan :** Ekstrak daun sirih hijau maupun daun sirih merah, pada kedua pelarut, tergolong antioksidan sangat kuat tanpa perbedaan potensi yang bermakna secara statistik, menjadikan keduanya kandidat setara untuk pengembangan bahan alam antioksidan lebih lanjut.

Kata Kunci: Daun Sirih Hijau (*Piper betle*); Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*); Etanol 70%; Metanol 70%; DPPH.

1. PENDAHULUAN

Metabolisme dalam tubuh melibatkan proses oksidasi dan reduksi. Proses oksidasi dapat menghasilkan oksidan dan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh. Karena oksidan merupakan molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan, molekul tersebut dapat menyerang makromolekul seluler seperti lipid, protein, dan DNA. Makromolekul yang terserang oksidan dapat terkena kondisi oksidatif yang menyebabkan kerusakan protein, DNA, penuaan dini, kanker, serangan jantung, dan penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, oksidan tersebut perlu ditekan dengan senyawa antioksidan (Maulidha et al., 2015).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menekan radikal bebas dengan menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal tersebut. Ada dua jenis antioksidan, tergantung sumbernya: antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetis). Tubuh manusia tidak memiliki

antioksidan yang berlebihan. Oleh karena itu, bila terpapar radikal secara berlebihan, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran mengenai potensi efek samping yang tidak diketahui dari antioksidan sintetik telah menjadikan antioksidan alami sebagai alternatif yang sangat dibutuhkan (Amriani et al., 2021).

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai bentuk yang eksotik dengan permukaan daun bergelombang, bagian atas daun mempunyai warna daun hijau, merah jambu, dan perak, serta bagian bawah daun mempunyai warna merah keunguan. Ini menarik perhatian banyak orang. Selain keindahannya yang menarik, tanaman ini juga menarik perhatian khusus para ahli herbal karena kemampuannya dalam mengobati berbagai jenis penyakit. Bagi para kolektor tanaman hias, sirih merah tidak hanya mendatangkan uang, tetapi juga dapat dijadikan obat dan tanaman hias yang menarik. Di Indonesia, pengembangan sirih merah diperlukan karena banyak masyarakat yang

tidak hanya membutuhkannya sebagai obat, tetapi juga memanfaatkannya sebagai tanaman hias. Oleh karena itu, budidaya sirih pinang mempunyai potensi pengembangan yang besar dan tidak hanya dapat meningkatkan pendapatan dan memperindah lingkungan, tetapi juga menjadi tanaman obat untuk digunakan di rumah (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Ekstrak daun sirih hijau memiliki sifat antibakteri dan ekstrak ini mempunyai banyak manfaat, salah satunya adalah dapat digunakan untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Daun sirih hijau dimanfaatkan sebagai ekspektoran, obat cacing, desinfektan luka, pereda sakit gigi, aromatik, dll. Komposisi kimia daun sirih hijau (*Piper betle*) antara lain minyak atsiri, terpenoid, tanin, polifenol, dan steroid. Seperti pada tumbuhan tingkat tinggi, selain senyawa polar, juga terdapat senyawa nonpolar atau semipolar dan lipofilik. Bahan aktif yang terkandung dalam daun sirih merah efektif mencegah serangan, membunuh bakteri, meredakan nyeri, dan mengurangi pembengkakan. Dapat juga digunakan untuk mengobati radang paru-paru, esofagitis, gusi bengkak, mastitis, mimisan, diabetes, wasir, penyakit arteri koroner, tekanan darah tinggi, asam urat, dan hemoptisis. Penentuan kandungan fitokimia alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) menjadi fokus skrining fitokimia pada penelitian ini.

Salah satu manfaat daun sirih adalah berperan sebagai antioksidan pada makanan, terutama yang mengandung minyak dan lemak. Manfaat sirih merah karena banyaknya senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, polevenolades, tanin dan minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan polevenolad memiliki sifat antioksidan, antidiabetes, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Di sisi lain, senyawa alkaloid juga memiliki sifat anti tumor yang efektif menghambat pertumbuhan sel kanker. Daun sirih merah mengandung flavonoid, polbenrad, tanin dan minyak atsiri. Pengalaman menunjukkan bahwa bahan aktif ini memiliki kemampuan mencegah serangan, membunuh bakteri, menghilangkan rasa sakit, dan menghilangkan pembengkakan. Selain itu dapat digunakan untuk mengobati radang paru-paru, sakit tenggorokan, gusi bengkak, infeksi dada, mimisan, diabetes, wasir, penyakit arteri

koroner, tekanan darah tinggi, asam urat, dan batuk berdarah (Suri et al., 2021).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang sangat baik dan menghambat banyak reaksi oksidatif, baik enzimatis maupun nonenzimatis. Flavonoid bertindak sebagai pemulung radikal hidroksil dan superoksida yang sangat baik, melindungi lipid membran dari reaksi berbahaya. Sifat antioksidannya mungkin menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan unsur aktif tanaman yang secara tradisional digunakan untuk mengobati disfungsi hati (Beon, 2018). Flavonoid dikenal sebagai antioksidan, sehingga banyak peneliti mempelajarinya sebagai agen potensial untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Kebanyakan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan karena adanya gugus hidroksil fenolik dalam struktur molekulnya. Ketika senyawa ini bereaksi dengan radikal bebas, terbentuk radikal baru yang distabilkan oleh efek resonansi nuklir aromatis (Afifah Rukmini, 2020).

Saponin mempunyai efek antibakteri, antijamur, antikanker, antiinflamasi, dan antioksidan. Senyawa ini dapat meningkatkan permeabilitas bilayer lipid, memodulasi akses antibodi ke permukaan sitoplasma dan memungkinkan protein transmembran beragregasi (Beon, 2018). Alkaloid mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu mekanisme komponen peptidoglikan dalam sel bakteri, mencegah terbentuknya lapisan dinding sel secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Alkaloid juga merupakan metabolit sekunder alami dan zat aktif fisiologis (Oktavia & Sutoyo, 2021)

Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih diuji menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Penentuan antioksidan dengan mengurangi efek radikal bebas DPPH merupakan metode penentuan antioksidan yang sederhana, cepat, dan bebas reagen. Hasilnya menunjukkan bahwa kemanjuran antioksidan sampel umumnya tidak didasarkan pada jenis radikal yang dihambat. DPPH bertindak sebagai radikal bebas yang ditekan oleh antioksidan dalam bahan uji, dan DPPH bereaksi dengan antioksidan membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin. Reaksi ini menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer cahaya tampak pada panjang gelombang 517 nm, sehingga

menentukan aktivitas penangkapan radikal sampel.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan fitokimia dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pelarut etanol 70% dan metanol 70%. Penelitian ini termasuk penelitian Eksperimental Laboratoris, yaitu suatu metode untuk mengetahui perbandingan fitokimia ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*). Desain penelitian yang digunakan adalah perbandingan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Dan hipotesis pada penelitian ini adalah ada atau tidaknya perbandingan fitokimia ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etanol 70% dan metanol 70%.

2. METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah perbandingan uji senyawa antioksidan dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) tanpa menggunakan kontrol. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sains Biomedis Universitas Karya Husada Semarang, Jawa Tengah, pada 22-28 Februari 2024. Variabel independen pada penelitian ini adalah perbandingan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*); variabel dependen adalah pelarut etanol 70% dan metanol 70%. Populasi penelitian ini adalah daun sirih hijau dan daun sirih merah dari taman apotik hidup di Kecamatan Candisari, Semarang, Jawa Tengah, dengan teknik simple random sampling — pengambilan anggota populasi secara acak tanpa memperhatikan strata di dalamnya. Instrumen penelitian ini menggunakan SOP (Standar Operasional Prosedur) metode ekstraksi dan pelaksanaan DPPH. Data yang diperoleh diolah secara deskriptif kuantitatif dengan metode kurva regresi linear $y=ax+b$; perbedaan persentase inhibisi antar keempat kombinasi ekstrak-pelarut selanjutnya diuji dengan uji Kruskal-Wallis. Penelitian telah melalui uji etik dengan No. 003/KEP/UNKAHA/SLE/2024.

3. HASIL

3.1 Uji Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Ekstrak Daun Sirih Merah dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

Tabel 1. Uji Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*)

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil Etanol 70%	Hasil Metanol 70%
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	+	+
Tanin	Aquadest dan FeCl ₃	+	+
Alkaloid	Dragendorf	+	-
Saponin	Air panas dan HCl 2N	+	-

Berdasarkan hasil uji senyawa antioksidan yang telah dilakukan pada ekstrak daun sirih hijau dengan etanol 70% dapat menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin dan uji tanin. Dan hasil uji senyawa antioksidan yang telah dilakukan pada ekstrak daun sirih hijau dengan metanol 70% dapat menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, dan uji tanin. Menurut tabel hasil uji senyawa antioksidan pada ekstrak daun sirih hijau dengan etanol 70% dan metanol 70%, pelarut yang lebih stabil dalam menghasilkan hasil uji tersebut ialah etanol 70%.

Tabel 2. Uji Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil Etanol 70%	Hasil Metanol 70%
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	+	-
Tanin	Aquadest dan FeCl ₃	+	+
Alkaloid	Dragendorf	+	+

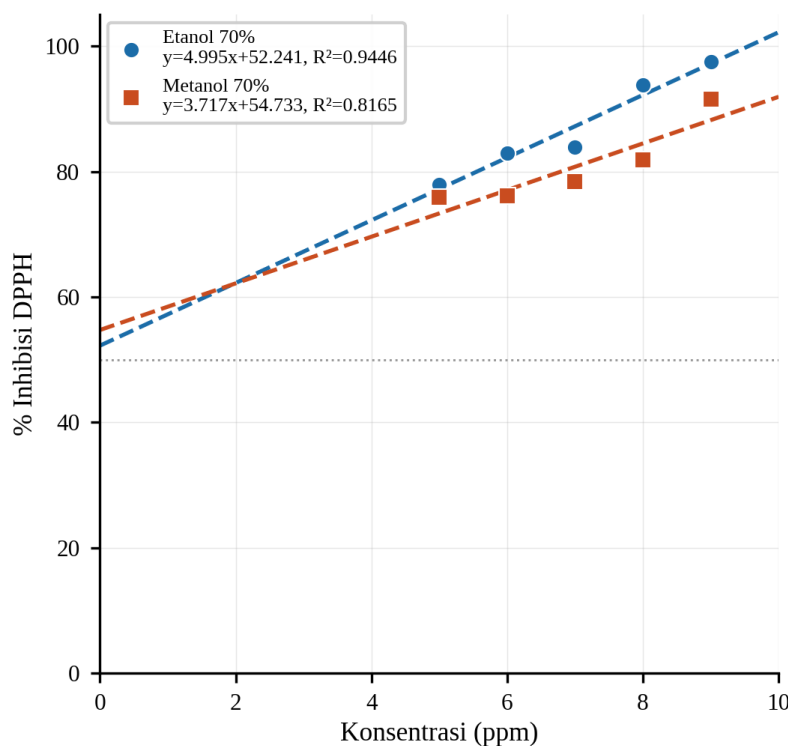
Saponin	Air panas dan HCl 2N	+	+
---------	----------------------------	---	---

Berdasarkan hasil uji senyawa yang telah dilakukan pada ekstrak daun sirih merah dengan etanol 70% dapat menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin dan uji tanin. Dan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak daun sirih merah dengan metanol 70% dapat menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid, uji saponin dan uji tanin. Menurut tabel hasil uji

senyawa antioksidan pada ekstrak daun sirih merah dengan etanol 70% dan metanol 70%, pelarut yang lebih stabil dalam menghasilkan hasil uji tersebut ialah etanol 70%.

3.2 Uji Regresi Linear Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Ekstrak Daun Sirih Merah dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

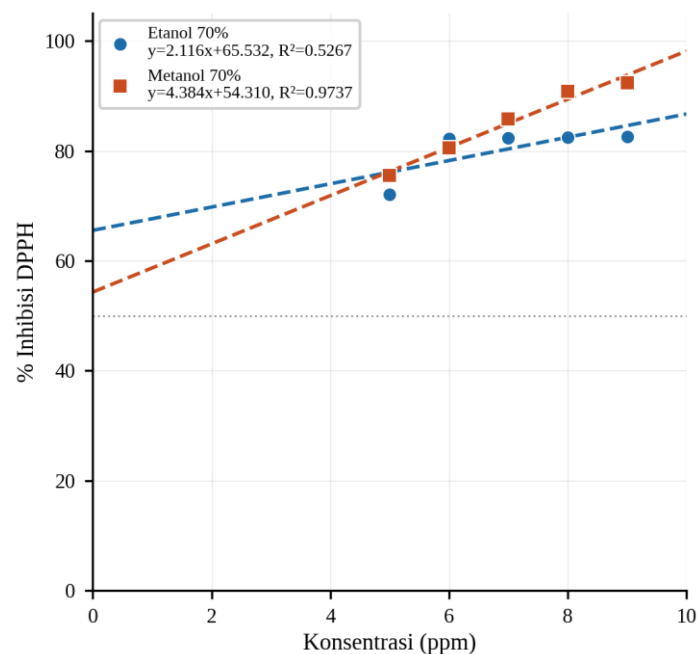
Kadar Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Ekstrak Daun Sirih Merah menggunakan metode DPPH yang sebelumnya dilakukan uji regresi pada masing-masing sampel sebagai berikut :



Gambar 1. Uji Regresi Linear Ekstrak Sirih Hijau dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

Hasil kurva hubungan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) terhadap persentase inhibisi dapat dilihat pada grafik di atas yang menunjukkan bahwa ekstrak sirih hijau dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan metanol 70% dengan metode DPPH mempunyai aktivitas antioksidan. Dan persamaan regresi

linier menunjukkan bahwa persamaan regresi antara % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak dan diperoleh persamaan kurva $y = ax + b$, di mana $y = 4,9945x + 52,249$; $R^2 = 0,9445$ untuk pelarut etanol 70%, dan $y = ax + b$, di mana $y = 3,7148x + 54,753$; $R^2 = 0,8162$ untuk pelarut metanol 70%.



Gambar 2. Uji Regresi Linear Ekstrak Sirih Merah dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

Hasil kurva hubungan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap persentase inhibisi dapat dilihat pada grafik di atas yang menunjukkan bahwa ekstrak sirih merah dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan metanol 70% dengan metode DPPH mempunyai aktivitas antioksidan. Dan persamaan regresi linier menunjukkan bahwa persamaan regresi antara % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak diperoleh persamaan kurva $y = ax + b$, di mana $y = 2,1169x + 65,535$; $R^2 = 0,5267$ untuk pelarut etanol 70%, dan $y = ax +$

b , di mana $y = 4,3841x + 54,316$; $R^2 = 0,9737$ untuk pelarut metanol 70%.

3.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Ekstrak Daun Sirih Merah dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

Berikut data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah sebagai berikut :

Tabel 3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

No	Nama sampel	Konsentrasi (ppm)	Abs sampel	% Inhibisi	IC50	Ket
1	Ekstrak Sirih Hijau Etanol 70%	5	0,067	77,94	< 5 µg/mL*	Sangat kuat < 50
		6	0,051	82,91		
		7	0,048	83,90		
		8	0,018	93,82		
		9	0,007	97,46		
2	Ekstrak Sirih Hijau Metanol 70%	5	0,083	75,84	< 5 µg/mL*	Sangat kuat < 50
		6	0,082	76,13		
		7	0,074	78,37		
		8	0,062	81,86		
		9	0,029	91,56		

*Nilai IC50 diestimasi berada di bawah konsentrasi terendah yang diuji (5 ppm): seluruh titik konsentrasi terukur sudah menunjukkan persentase inhibisi di atas 70%, sehingga ekstrapolasi linear ke $y=50\%$ menghasilkan konsentrasi negatif yang secara fisik tidak bermakna — bukti bahwa IC50 sesungguhnya berada di luar rentang yang diuji.

Dari tabel di atas, seluruh titik konsentrasi yang diuji pada ekstrak daun sirih hijau — baik dengan etanol 70% maupun metanol 70% — telah menunjukkan persentase inhibisi di atas 70% bahkan pada konsentrasi terendah (5 ppm). Ekstrapolasi persamaan regresi ke titik inhibisi 50% jatuh pada nilai konsentrasi negatif untuk kedua pelarut, yang secara fisik menegaskan bahwa IC50

sesungguhnya berada di bawah 5 µg/mL. Dengan kata lain, ekstrak daun sirih hijau pada etanol 70% maupun metanol 70% sama-sama tergolong antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ µg/mL), meskipun kemiringan kurva etanol 70% ($a=4,995$) jauh lebih tajam dibandingkan metanol 70% ($a=3,717$), yang mengindikasikan respons dosis yang lebih konsisten pada pelarut etanol.

Tabel 4. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Pelarut Etanol 70% dan Metanol 70%

N o	Nama sampel	Konsentrasi (ppm)	Abs sampel	% Inhibisi	IC50	Ket
1	Ekstrak Sirih Merah Etanol 70%	5	0,084	72,10	< 5 µg/mL*	Sangat kuat < 50
		6	0,054	82,24		
		7	0,053	82,35		
		8	0,053	82,46		
		9	0,052	82,57		
2	Ekstrak Sirih Merah Metanol 70%	5	0,084	75,55	< 5 µg/mL*	Sangat kuat < 50
		6	0,067	80,50		
		7	0,048	85,83		
		8	0,031	90,78		
		9	0,026	92,33		

*Nilai IC50 diestimasi berada di bawah konsentrasi terendah yang diuji (5 ppm): seluruh titik konsentrasi terukur sudah menunjukkan persentase inhibisi di atas 70%, sehingga ekstrapolasi linear ke $y=50\%$ menghasilkan konsentrasi negatif yang secara fisik tidak bermakna — bukti bahwa IC50 sesungguhnya berada di luar rentang yang diuji.

Pola yang sama berlaku pada ekstrak daun sirih merah: baik dengan etanol 70% maupun metanol 70%, persentase inhibisi pada seluruh titik konsentrasi terukur sudah melampaui 70%, sehingga IC50 kedua pelarut juga berada di bawah 5 µg/mL — jauh di bawah ambang 50 µg/mL yang menandai kategori sangat kuat. Perbedaan yang lebih relevan justru terletak pada kestabilan responsnya: pelarut metanol 70% menghasilkan koefisien determinasi yang jauh lebih tinggi ($R^2=0,974$) dibandingkan etanol 70% ($R^2=0,527$), menandakan hubungan dosis-respons yang lebih linear dan lebih dapat diandalkan pada pelarut metanol untuk sirih merah.

4. PEMBAHASAN

4.1 Ekstrak Daun Sirih Hijau dengan Etanol 70% dan Metanol 70%

Hasil uji senyawa antioksidan pada ekstrak daun sirih hijau menunjukkan bahwa pelarut etanol 70% memberikan profil fitokimia yang lebih lengkap — positif pada flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin — dibandingkan dengan metanol 70%, yang hanya positif pada flavonoid dan tanin.

Nilai IC50 kedua pelarut sama-sama berada di bawah 5 µg/mL, jauh di bawah ambang 50 µg/mL, sehingga ekstrak daun sirih hijau dengan etanol 70% maupun metanol 70% keduanya tergolong antioksidan sangat kuat. Kategori ini berbeda dari klasifikasi pada laporan sebelumnya yang keliru menempatkan metanol 70% pada kategori sedang — kekeliruan itu muncul karena IC50 saat itu tidak diturunkan secara konsisten dari persamaan regresi yang sama.

Pada penelitian ini, pelarut polar yang digunakan adalah etanol 70% dan metanol 70% pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*). Jenis

pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tetap memengaruhi besaran aktivitas antioksidan yang teramati, mengingat senyawa antioksidan diduga bersifat polar sehingga membutuhkan pelarut yang juga polar untuk terekstraksi optimal; hal ini konsisten dengan literatur yang menggolongkan aktivitas antioksidan DPPH sebagai sangat kuat bila IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL — semakin kecil nilai IC₅₀, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Karena kedua pelarut pada sirih hijau sama-sama jauh di bawah ambang tersebut, keunggulan etanol 70% di sini bukan pada kategori kekuatannya, melainkan pada kemiringan kurva dosis-respons yang lebih tajam ($a=4,995$ berbanding $3,717$) — sehingga etanol 70% tetap menjadi pelarut ekstraksi yang lebih disarankan untuk sirih hijau apabila tujuan penelitian selanjutnya adalah memperoleh respons antioksidan yang meningkat lebih cepat seiring kenaikan konsentrasi.

Penelitian ini selaras dengan (Prasetyo et al., 2021) yang mendapatkan hasil IC₅₀ 36,5 µg/mL, juga termasuk kategori sangat kuat, meski dengan margin yang lebih tipis terhadap ambang 50 µg/mL dibandingkan temuan pada kedua pelarut di studi ini. Senyawa sekunder seperti flavonoid mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron dari elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas, sehingga banyaknya radikal bebas berkurang. Senyawa flavonoid adalah senyawa penyusun yang telah dipercaya mempunyai aktivitas antioksidan dan peredaman radikal bebas yang tinggi (Hakiki et al., 2021).

4.2 Ekstrak Daun Sirih Merah dengan Etanol 70% dan Metanol 70%

Hasil uji senyawa antioksidan pada ekstrak daun sirih merah menunjukkan bahwa pelarut etanol 70% memberikan profil fitokimia yang lebih lengkap — positif pada tanin, alkaloid, saponin, dan flavonoid — dibandingkan metanol 70%, yang negatif pada uji flavonoid.

Nilai IC₅₀ kedua pelarut pada ekstrak daun sirih merah juga sama-sama berada di bawah 5 µg/mL, sehingga baik etanol 70% maupun metanol 70% tergolong antioksidan sangat kuat — bukan “sangat lemah” dan “kuat” seperti yang sempat dilaporkan pada

perhitungan sebelumnya, yang keliru mengambil IC₅₀ dari luar konteks persamaan regresi yang sama. Yang membedakan keduanya adalah kualitas hubungan dosis-respons: metanol 70% menghasilkan R^2 0,974, jauh lebih baik daripada etanol 70% yang hanya 0,527, sehingga metanol 70% lebih dapat diandalkan untuk memprediksi aktivitas antioksidan sirih merah pada konsentrasi di luar rentang yang diuji.

Pada penelitian ini, pelarut polar yang digunakan adalah etanol 70% dan metanol 70% pada ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*). Pemilihan jenis pelarut tetap memengaruhi aktivitas antioksidan yang teramati, mengingat senyawa antioksidan diduga bersifat polar sehingga membutuhkan pelarut yang juga polar untuk terekstraksi optimal; hal ini konsisten dengan literatur yang menggolongkan aktivitas antioksidan DPPH sebagai sangat kuat bila IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL — semakin kecil nilai IC₅₀, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Karena kedua pelarut pada studi ini sama-sama berada jauh di bawah ambang tersebut, pemilihan pelarut yang “lebih baik” untuk sirih merah lebih tepat didasarkan pada kestabilan kurva dosis-responsnya, dan pada aspek itu metanol 70% unggul. Menurut Lee et al. (2024), metanol 70% memiliki sifat pelarut yang universal sehingga mampu menarik sebagian besar senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak — sejalan dengan R^2 yang lebih tinggi pada pelarut ini.

Penelitian ini selaras dengan penelitian (Rohman et al., 2010) pada buah merah (*Pandanus conoideus*) yang juga melaporkan kandungan fenolik dan flavonoid total berkorelasi dengan kekuatan aktivitas antioksidan DPPH pada bahan alam berpigmen merah; pola ini konsisten dengan hasil sirih merah pada studi ini, sekalipun besaran IC₅₀ kedua bahan tidak diperbandingkan secara langsung karena keduanya berbeda genus tumbuhan. Kapasitas radikal ditentukan sesuai dengan metode DPPH dan metanol; hilangnya warna DPPH diukur melalui absorbansi pada 517 nm terhadap metanol dengan alat spektrofotometer UV-Vis.

4.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Berdasarkan hasil yang diperoleh, aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau maupun daun sirih merah sama-sama tergolong sangat kuat, dan uji Kruskal-Wallis menegaskan tidak ada perbedaan persentase inhibisi yang signifikan di antara keempat kombinasi ekstrak-pelarut ($H=3,85$; $df=3$; $p=0,279$). Temuan ini menarik justru karena kedua jenis sirih tidak identik secara fitokimia: ekstrak daun sirih hijau positif flavonoid pada kedua pelarut, sedangkan ekstrak daun sirih merah hanya positif flavonoid pada pelarut etanol. Bila flavonoid adalah satu-satunya penentu aktivitas antioksidan, semestinya sirih merah dengan metanol tertinggal jauh — kenyataan bahwa keduanya tetap sangat kuat mengisyaratkan bahwa tanin, yang konsisten positif pada seluruh delapan kombinasi tabel skrining, kemungkinan turut menyumbang kapasitas peredaman radikal DPPH sekurang-kurangnya sebesar flavonoid — sebuah nuansa yang belum banyak ditegaskan pada penelitian sejenis. Dapat diperkuat juga dengan penelitian (Pariury et al., 2021) yang menyatakan bahwa golongan yang memberikan aktivitas antioksidan adalah flavonoid dan steroid; senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen, sehingga elektron radikal pada DPPH tereduksi (Hassanpour & Doroudi, 2023). Dengan hasil kuantitatif yang setara secara statistik, klaim bahwa daun sirih hijau “lebih baik” daripada daun sirih merah sebagai sumber antioksidan tidak lagi dapat dipertahankan dari data ini; yang dapat dikatakan adalah keduanya setara kuat, dengan mekanisme fitokimia yang sedikit berbeda.

5. KESIMPULAN

Ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut etanol 70% memberikan profil fitokimia paling lengkap (flavonoid, tanin, alkaloid, saponin seluruhnya positif) dibandingkan dengan metanol 70%, yang hanya positif pada flavonoid dan tanin. Ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etanol 70% juga memberikan profil fitokimia lebih lengkap dibandingkan dengan metanol 70%, namun metanol 70% menghasilkan hubungan dosis-respons yang jauh lebih linear ($R^2=0,974$ berbanding $0,527$) sehingga lebih dapat diandalkan untuk prediksi aktivitas pada konsentrasi lain. Keempat kombinasi ekstrak-pelarut — sirih hijau

maupun sirih merah, pada etanol 70% maupun metanol 70% — sama-sama tergolong antioksidan sangat kuat ($IC_{50}<5\text{ }\mu\text{g/mL}$, jauh di bawah ambang $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), dan uji Kruskal-Wallis mengonfirmasi tidak ada perbedaan persentase inhibisi yang signifikan di antara keempatnya ($H=3,85$; $df=3$; $p=0,279$), sehingga baik jenis sirih maupun jenis pelarut pada rentang yang diuji tidak terbukti memengaruhi kekuatan antioksidan secara statistik.

REFERENCES

- Afifah Rukmini. (2020). Skrining Fitokimia Familia Piperaceae. *Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1), 28–32. <https://doi.org/10.29407/jbp.v7i1.14805>
- Amriani, A., Fitrya, F., Novita, R. P., & Caniago, D. (2021). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Akar Kabau (*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C. Nielsen) Terhadap Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(2), 102–109. <https://doi.org/10.56064/jps.v23i2.635>
- Beon, A. S. (2018). Identifikasi Komponen Fitokimia dalam Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). *CHMK Pharmaceutical Scientific Journal*, 1(1).
- Hakiki, D. N., Fauziyyah, A., & Wijanarti, S. (2021). Aktivitas Antioksidan dan Screening Fitokimia Kulit Bligo (*Benincasa hispida*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 27–36. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.38675.27-36>
- Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 13(4), 354–376. <https://doi.org/10.22038/AJP.2023.21774>
- Lee, J.-E., Jayakody, J. T. M., Kim, J.-I., Jeong, J.-W., Choi, K.-M., Kim, T.-S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J., & Ryu, B. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative

- Review. *Foods*, 13(19), 3151.
<https://doi.org/10.3390/foods13193151>
- Maulidha, N., Fridayanti, A., & Masruhim, M. A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper sp.*) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(1), 16–20.
<https://doi.org/10.25026/jsk.v1i1.10>
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141.
<https://doi.org/10.20473/JKR.V6I2.30904>
- Pariury, J. A., Juan Paul Christian Herman, Tiffany Rebecca, Elvina Veronica, & I Gusti Kamasan Nyoman Arijana. (2021). Potensi Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr) Sebagai Antibakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Hang Tuah Medical Journal*, 19(1), 119–131.
<https://doi.org/10.30649/htmj.v19i1.65>
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Journal of Pharmascience*, 8(1), 75–82.
<https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200>
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R., & Mulatsih, W. (2010). Antioxidant Activity, Total Phenolic, and Total Flavonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam.). *International Food Research Journal*, 17(1), 97–106.
- Suri, M. A., Azizah, Z., & Asra, R. (2021). A Review: Traditional Use, Phytochemical and Pharmacological Review of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav). *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 9(1), 159–163.
<https://doi.org/10.22270/ajprd.v9i1.926>