

## Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Sirih Hutan *Piper aduncum* L.

*Effect of Extraction Methods on Bioactive Compounds in Wild Betel (Piper aduncum L) Leaf*

**Hesty Nuur Hanifah\***, **Syumillah Saepudin**, **Anindita Octaviani**

\*Email: hesty.nuur@gmail.com

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Ghifari

Diterima: 28 Mei 2025 / Disetujui: 30 Agustus 2025

### ABSTRAK

*Piper aduncum* L., dikenal sebagai sirih hutan, merupakan tanaman dari famili Piperaceae yang secara tradisional dimanfaatkan untuk mengobati luka bakar, bisul, batuk, sariawan, dan gangguan saluran cerna. Tanaman ini diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Penelitian bertujuan mengevaluasi pengaruh metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar senyawa fenolik, flavonoid, dan alkaloid menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil analisis menunjukkan bahwa metode refluks menghasilkan kadar fenolik dan alkaloid yang lebih tinggi (60,686 mg GAE/g dan 4,628 mg PE/g) dibandingkan maserasi (42,134 mg GAE/g dan 3,678 mg PE/g). Sebaliknya, kadar flavonoid lebih tinggi pada metode maserasi (30,726 mg QE/g) dibandingkan refluks (26,368 mg QE/g). Perbedaan metode ekstraksi berpengaruh terhadap komposisi metabolit sekunder dalam ekstrak daun sirih hutan.

**Kata Kunci:** Merasasi, Refluks, Senyawa Bioaktif, Sirih Hutan, Spektrofotometri UV-Vis

### ABSTRACT

*Piper aduncum* L., commonly known as forest betel, is a plant from the Piperaceae family that has traditionally been used to treat burns, boils, coughs, mouth ulcers, and digestive disorders. This plant is known to contain secondary metabolites such as phenolics, flavonoids, and alkaloids. This study aimed to evaluate the effect of maceration and reflux extraction methods on the levels of phenolic, flavonoid, and alkaloid compounds using a UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the reflux method produced higher levels of phenolics and alkaloids (60.686 mg GAE/g and 4.628 mg PE/g, respectively) compared to the maceration method (42.134 mg GAE/g and 3.678 mg PE/g). Conversely, the maceration method yielded a higher flavonoid content (30.726 mg QE/g) than the reflux method (26.368 mg QE/g). The differences in extraction methods significantly influenced the composition of secondary metabolites in the forest betel leaf extract.

**Keywords:** Maceration, Reflux, Bioactive compounds, Forest Betel, UV-Vis Spectrophotometry



This work is licensed under Creative Commons Attribution License 4.0 CC-BY International license

### A. PENDAHULUAN

Potensi Indonesia dalam sektor tanaman obat sangat besar karena memiliki keanekaragaman tumbuhan yang luas. Masyarakat kini mulai mengalihkan perhatian pada pemanfaatan bahan alam untuk pengobatan tradisional. Salah satu

tumbuhan yang sering digunakan adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), yang diketahui secara tradisional bermanfaat dalam mengobati luka bakar, infeksi kulit, batuk, sariawan, dan gangguan pencernaan. (Hasibuan et al., 2024).

Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) memiliki berbagai senyawa kimia yang berperan aktif dan dipengaruhi oleh faktor geografis dan lingkungan. Bagian dari tanaman sirih hutan yang paling umum dimanfaatkan adalah bagian daunnya, karena mengandung minyak atsiri hingga 4,2 % dan sebagian besar minyak atsiri tersebut terdiri dari beteophenol yang berfungsi sebagai antibakteri. Selain minyak atsiri, sirih hutan juga mengandung senyawa metabolit sekunder berupa steroid, tannin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, kumarin, dan emodin (Sanjaya et al., 2024).

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan komponen tertentu dari suatu campuran dengan memanfaatkan pelarut sebagai media pemisah. Berdasarkan penggunaan panas selama prosesnya, metode ekstraksi diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi tanpa pemanasan (ekstraksi dingin) dan dengan pemanasan (ekstraksi panas). Ekstraksi dingin seperti maserasi dan perkolasai dilakukan tanpa melibatkan pemanasan untuk menghindari degradasi senyawa aktif yang sensitif terhadap suhu. Sebaliknya, metode ekstraksi panas seperti refluks dan soxhletasi menggunakan panas untuk mempercepat proses pemisahan zat aktif dari bahan (Hujjatusnaini et al., 2021).

Departemen Kesehatan Republik Indonesia menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis sebagai teknik analisis dalam pengukuran kadar senyawa pada sampel herbal. Spektrofotometri UV-Vis adalah metode yang memanfaatkan serapan cahaya pada wilayah ultraviolet dan tampak (visible) untuk mendekripsi dan mengidentifikasi kandungan senyawa dalam suatu larutan (Aminah et al., 2017).

Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis kadar fenolik, flavonoid dan alkaloid total pada ekstrak daun Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan refluks.

## B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan April 2025 di Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Al Ghifari Bandung. Alat penelitian yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), maserator, alat refluks, *moisture analyzer*, oven (Biobase), timbangan analitik (Fujitsu FSH-12) dan alat-alat yang umum digunakan di laboratorium. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), etanol 96%, aquadest, serbuk magnesium (Mg), natrium hidroksida (NaOH) 2%, asam klorida pekat (HCl),

amil alkohol, feri klorida ( $FeCl_3$ ) 5%, iodin 10%, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, kuersetin, alumunium klorida ( $AlCl_3$ ) 10%, natrium asetat, piperin, pereaksi Folin-Ciocalteu, natrium karbonat ( $NaCO_3$ ), amoniak 10% dan kloroform.

### Pembuatan Simplisia

Daun sirih hutan sebanyak 1 kg yang diperoleh dari Desa Gudang, Kecamatan Tanjungsari, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat, dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Setelah itu, daun dirajang dan dikeringkan di bawah paparan sinar matahari langsung. Daun kering dihaluskan dengan blender hingga diperoleh serbuk, lalu disimpan dalam wadah tertutup yang bersih dan kering serta terhindar dari paparan sinar matahari untuk keperluan ekstraksi selanjutnya (Hasibuan et al., 2024).

### Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor.

### Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer*, sampel ditimbang sebanyak 2 g

kemudian diletakan di atas alumunium dengan cara disebar keseluruhan bagian. Suhu pada alat diatur menjadi  $100^{\circ}C$ . Nilai kadar air tertera pada alat setelah pengujian selesai dilakukan (Kusuma & Andriani, 2019).

### Penetapan Susut Pengeringan

Sebanyak 2gram simplisia dimasukkan ke dalam cawan kering yang telah ditimbang terlebih dahulu. Cawan kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu  $105^{\circ}C$  hingga diperoleh berat tetap. Setelah dua jam pemanasan, cawan didinginkan dan ditimbang kembali. Nilai susut pengeringan dihitung berdasarkan Persamaan (1)(Rivai et al., 2014):

$$\% \text{Susut Pengeringan} = \frac{B_1 - B_2}{B_1} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

$B$  = Berat sampel (g)

$B_1$  = Berat akhir (g)

$B_2$  = Berat cawan kosong (g)

### Penetapan Kadar Sari

Sebanyak masing-masing 5 g simplisia ditempatkan pada dua buah labu erlemeyer. Labu erlenmeyer pertama ditambahkan dengan 100 mL air jenuh kloroform dan labu Erlenmeyer kedua ditambahkan dengan 100 mL etanol 96% lalu dimaserasi selama 24 jam setelah itu disaring. Masing-masing filtrat sebanyak 20 mL dituang ke dalam cawan penguap bertara. Selanjutnya, filtrat diuapkan menggunakan penangas air hingga kering.

Residu yang dihasilkan kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C hingga beratnya tidak mengalami perubahan (Rivai et al., 2014). Kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air dan etanol dihitung menggunakan Persamaan (2) di bawah ini :

$$\% \text{Kadar sari} = \frac{B. \text{ ekstrak}}{B. \text{ simplisia}} \times \frac{V. \text{ maserasi}}{V. \text{ filtrat}} \times 100 \% \quad (2)$$

### Pembuatan Ekstrak

#### Merasasi

Sebanyak 50 gram serbuk simplisia kering dimasukkan ke dalam toples kaca sebagai wadah maserasi, kemudian direndam dengan etanol 96% hingga seluruh permukaan simplisia terendam. Wadah ditutup rapat menggunakan penutup yang dilapisi aluminium foil dan dibiarkan selama  $3 \times 24$  jam pada suhu ruang. Pelarut diganti setiap 24 jam. Setelah proses maserasi selesai, ekstrak disaring menggunakan kain flanel untuk memisahkan filtrat dan ampas, kemudian diuapkan menggunakan penangas air pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Hasibuan et al., 2024). Nilai rendemen ditentukan dengan menggunakan Persamaan (3):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \% \quad (3)$$

#### Refluks

Sebanyak 50 gram simplisia kering dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan diekstraksi dengan 500 mL etanol 96% melalui metode refluks pada suhu 40°C selama 3 jam. Setelah proses pemanasan, campuran disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pada penangas air hingga diperoleh ekstrak kental (Maryam et al., 2023). Nilai rendemen ditentukan dengan menggunakan Persamaan (3)

### Penapisan Fitokimia

#### Identifikasi Senyawa Fenolik

Sebanyak masing-masing 2 mL sampel dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Ke dalam tabung pertama ditambahkan dengan 3 tetes larutan iodin 10%, tabung kedua ditambahkan 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%, dan tabung ketiga digunakan sebagai blangko. Hasil positif penambahan larutan iodin ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah sedangkan hasil positif penambahan larutan  $\text{FeCl}_3$  ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Malik et al., 2017).

#### Identifikasi Flavonoid

Sebanyak masing-masing 2 mL sampel dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Ke dalam tabung pertama ditambahkan dengan 1 mL  $\text{NaOH}$  2%, tabung kedua ditambahkan 0,1 g serbuk

magnesium, 1 mL asam klorida pekat (HCl) dan 2 mL amil alkohol. Tabung ketiga digunakan sebagai blangko. Hasil positif penambahan NaOH ditandai dengan terbentuknya warna kuning sedangkan hasil positif pengujian HCl pekat ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Kiko et al., 2023).

### Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 1 g sampel dibiaskan dengan 4 mL amoniak 10%, kemudian ditambahkan kloroform 4 mL dan dikocok kuat. Lapisan kloroform dipipet, kemudian ditambahkan 8 ml HCl 2N. Kemudian campuran dikocok hingga terdapat dua lapisan. Lapisan asam dipipet, kemudian dibagi menjadi dua tabung. Tabung pertama ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi Dragendorff. Tabung kedua ditambahkan dengan 2-3 tetes pereaksi Wagner. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna coklat kemerahan untuk pereaksi dragendorff dan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna coklat atau kemerahan untuk pereaksi wagner (Saepudin et al., 2024).

### Penetapan Kadar Fenolik Total

Sebanyak 10 mg asam galat dilarutkan dalam akuades dan diencerkan hingga 100 mL untuk memperoleh larutan

standar 100 ppm. Larutan ini digunakan sebagai pembanding dalam penetapan kadar fenolik total. Untuk penentuan panjang gelombang maksimum, 1 mL larutan asam galat diinkubasi bersama 0,4 mL pereaksi Folin–Ciocalteu selama 3 menit, lalu ditambahkan 4 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan akuades hingga 10 mL. Setelah inkubasi selama 40 menit, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang panjang gelombang 400–800 nm (Hanifah et al., 2021).

Pembuatan kurva standar dilakukan setelah diperoleh panjang gelombang maksimum dari asam galat. Larutan 100 ppm asam galat dipipet sebanyak 0,5 hingga 2,5 mL ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL, sehingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi bertingkat 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Dari masing-masing larutan, diambil 1 mL dan direaksikan dengan 0,4 mL Folin–Ciocalteu. Setelah diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan 4 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan akuades hingga 10 mL, kemudian diinkubasi kembali selama 40 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (Hanifah et al., 2021).

Ekstrak daun sirih hutan hasil dari ekstraksi maserasi dan refluks masing-

masing dilakukan penentuan kadar fenolik total. Sebanyak 10 mg masing-masing sampel dilarutkan dalam 100 mL akuades. Diambil 1 mL sampel kemudian direaksikan dengan 0,4 mL Folin-Ciocalteu. Setelah diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan 4 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan akuades hingga 10 mL, kemudian diinkubasi kembali selama 40 menit. Pengujian sampel dilakukan sebanyak 3 kali. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan hasil panjang gelombang asam galat yang diperoleh (Hanifah et al., 2021).

Data absorbansi yang didapat dari setiap larutan sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier ( $y = bx + a$ ). Perhitungan kadar fenolik menggunakan Persamaan (4):

$$\text{TPC} = \frac{C \times V \times Fp}{g} \quad (4)$$

Keterangan:

TPC = *Total Phenolic Content* (mg GAE/g)

C = Konsentrasi fenolik (mg/L)

V = Volume sampel (L)

Fp = Faktor pengenceran

g = berat sampel yang digunakan (gram)

### Penetapan Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% hingga volume 100 mL untuk memperoleh larutan standar 100 ppm. Kuersetin digunakan sebagai senyawa acuan dalam pengukuran kadar flavonoid total. Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, 0,1 mL

larutan kuersetin dicampur dengan 0,2 mL larutan  $\text{AlCl}_3$  10% dan 0,2 mL natrium asetat 1 M dalam labu ukur 10 mL, kemudian diencerkan dengan etanol 96% sampai tanda volume. Panjang gelombang maksimum diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Hanifah et al., 2021).

Kurva standar kuersetin dibuat setelah pengukuran panjang gelombang maksimum. Dari larutan induk 100 ppm, masing-masing sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL dipipet ke dalam labu ukur 10 mL untuk menghasilkan larutan dengan konsentrasi bertingkat (5–25 ppm). Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan diolah dengan menambahkan 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan etanol 96% hingga mencapai volume 10 mL. Absorbansi seluruh larutan diukur pada panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Hanifah et al., 2021).

Ekstrak daun sirih hutan hasil dari ekstraksi maserasi dan refluks masing-masing dilakukan penentuan kadar flavonoid total. Sebanyak 10 mg masing-masing sampel dilarutkan dalam 100 mL akuades. Diambil sebanyak 0,1 mL sampel kemudian ditambahkan 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 0,2 mL natrium asetat 1 M kemudian

ditambahkan etanol 96% hingga 10 ml. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali.

Data absorbansi yang didapat dari setiap larutan sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier ( $y = bx + a$ ). perhitungan kadar flavonoid menggunakan Persamaan (5):

$$TFC = \frac{C \times V \times Fp}{g} \quad (5)$$

Keterangan:

TFC = *Total Flavonoid Content* (mg QE/g)  
 C = Konsentrasi flavonoid (mg/L)  
 V = Volume sampel (L)  
 Fp = Faktor pengenceran  
 g = berat sampel yang digunakan (gram)

### Penetapan Kadar Alkaloid

#### Pembuatan Larutan Induk Piperin

Sebanyak 10 mg piperin ditimbang dan dilarutkan dalam metanol dalam labu ukur hingga volume 100 mL untuk memperoleh larutan standar 100 ppm. Larutan ini digunakan sebagai pembanding dalam penetapan kadar alkaloid total. Panjang gelombang maksimum piperin ditentukan dengan merekam nilai absorbansi tertinggi pada rentang 200–400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Cahyono et al., 2019). Setelah panjang gelombang maksimum piperin diperoleh, dilakukan pembuatan kurva standar piperin.

Dari larutan piperin (100 ppm), dipipet sebanyak 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; dan 0,4 mL masukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas. Diperoleh konsentrasi larutan piperin masing-masing 0,5, 1, 2, 3, dan 4 ppm. Absorbansi larutan piperin diukur pada panjang gelombang maksimum piperin, dengan menggunakan metanol sebagai blanko (Cahyono et al., 2019).

Ekstrak daun sirih hutan hasil dari ekstraksi maserasi dan refluks masing-masing dilakukan penentuan kadar alkaloid total. Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum piperin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali (Cahyono et al., 2019).

Data absorbansi yang didapat dari setiap larutan sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier ( $y = bx + a$ ). perhitungan kadar alkaloid menggunakan Persamaan (6):

$$TAC = \frac{C \times V \times Fp}{g} \quad (6)$$

Keterangan:

TAC = *Total Alkaloid Content* (mg PE/g)  
 C = Konsentrasi alkaloid (mg/L)  
 V = Volume sampel (L)  
 Fp = Faktor pengenceran  
 g = berat sampel yang digunakan (gram)

### C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan. Determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Berdasarkan surat hasil determinasi No.21/HB/04/2025 menyebutkan bahwa tanaman yang digunakan adalah sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Dari 1 kg sampel daun sirih

hutan, dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan di bawah sinar matahari langsung selama 5 hari, sehingga diperolah daun sirih hutan kering sebanyak 154,00 g.

Karakterisasi simplisia merupakan suatu langkah awal untuk mengetahui mutu dari suatu simplisia, sehingga hasil tersebut dapat dijadikan sebagai acuan untuk pengembangan penelitian lanjutan (Supriningrum et al., 2020). Hasil karakterisasi simplisia pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Sirih Hutan

| Parameter uji           | Hasil   | Syarat<br>(FHI ed II, 2017) | Keterangan      |
|-------------------------|---------|-----------------------------|-----------------|
| Kadar air               | 8,14 %  | <10 %                       | Memenuhi syarat |
| Susut pengeringan       | 8,20 %  | <10 %                       | Memenuhi syarat |
| Kadar sari larut air    | 40,00 % | >20,8 %                     | Memenuhi syarat |
| Kadar sari larut etanol | 20,00 % | >17,6 %                     | Memenuhi syarat |

Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air yang terdapat dalam simplisia. Sedangkan penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui persentase dari penguapan air dan senyawa yang menghilang selama proses pemanasan pada suhu 105°C (Wibowo et al., 2024). Penetapan kadar sari larut air bertujuan untuk menentukan banyaknya kandungan senyawa aktif terdapat pada sampel yang terlarut dalam air. Sedangkan penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk menentukan

banyaknya kandungan senyawa aktif terdapat pada sampel yang terlarut dalam etanol (Wibowo et al., 2024).

Proses ekstraksi simplisia daun sirih hutan dilakukan dengan 2 metode ekstraksi yaitu metode panas dan metode dingin. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Metode panas yang digunakan yaitu ekstraksi refluks sedangkan metode dingin yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi. Hasil perolehan nilai rendemen ekstrak terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak

| Metode ekstraksi | Berat sampel (g) | Bobot ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|------------------|------------------|-------------------|--------------|
| Maserasi         | 50,00            | 5,52              | 11,04        |
| Refluks          | 50,00            | 3,64              | 7,28         |

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan rendemen yang lebih tinggi daripada metode refluks. Hal tersebut bisa terjadi karena beberapa faktor, seperti waktu ekstraksi yang lebih lama, suhu yang terkontrol, dan volume total pelarut yang digunakan. Maserasi, dengan waktu ekstraksi yang lebih panjang, memungkinkan pelarut untuk lebih lama berinteraksi dengan sampel, sehingga lebih banyak senyawa yang terlarut. Suhu yang terkontrol pada maserasi mencegah kerusakan senyawa yang sensitif terhadap panas (Priyadi et al., 2025). Selain itu, total volume pelarut juga dapat mempengaruhi nilai rendemen karena semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak juga

jumlah ekstrak yang dihasilkan, namun hanya sampai batas efisiensi tertentu (Kusuma, 2022)

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 kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti. Pada penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan, melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi identifikasi fenolik, flavonoid dan alkaloid. Skrining fitokimia masing-masing identifikasi dilakukan dengan dua metode pengujian dengan tujuan untuk mempertegas hasil bahwa sampel uji mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid (Maryam et al., 2023).

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia

| Metabolit | Identifikasi        | Hasil Identifikasi |    |    |
|-----------|---------------------|--------------------|----|----|
|           |                     | S                  | EM | ER |
| Fenolik   | Uji Iodine          | +                  | +  | +  |
|           | Uji $\text{FeCl}_3$ | +                  | +  | +  |
| Flavonoid | Uji NaOH            | +                  | +  | +  |
|           | Uji HCl pekat       | +                  | +  | +  |
| Alkaloid  | Uji Dragendorff     | -                  | +  | +  |
|           | Uji Wagner          | -                  | +  | +  |

Keterangan:

S = Simplicia

EM = Ekstrak Metode Maserasi

ER = Ekstrak Metode Refluks

(+) = Terdeteksi mengandung metabolit sekunder

(-) = Tidak terdeteksi mengandung metabolit sekunder

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia kering dan ekstrak daun sirih hutan mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid.

Identifikasi fenolik dengan iodin menunjukkan warna cokelat kemerahan di hampir semua sampel. Warna kemerahan ini menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa fenolik. Pada uji  $\text{FeCl}_3$  semua sampel menunjukkan positif fenol karena menghasilkan warna hijau kehitaman. Hal ini disebabkan karena senyawa fenolik memiliki gugus-gugus fungsi  $-\text{OH}$  yang berinteraksi dengan ion besi  $\text{Fe}^{3+}$  dari  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan suatu senyawa kompleks yang memberikan warna hijau kehitaman (Malik et al., 2017).

Identifikasi flavonoid dengan  $\text{NaOH}$  menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna cokelat pada sampel simplisia kering dan ekstraksi maserasi, sedangkan pada ekstraksi refluks menunjukkan warna kuning.  $\text{NaOH}$  merupakan basa yang dapat menyebabkan perubahan warna pada beberapa senyawa, termasuk flavonoid. Flavonoid memiliki struktur yang mengandung gugus hidroksil yang bereaksi dengan  $\text{NaOH}$ , menghasilkan ion flavonoid yang berwarna kuning (Mailuhu et al., 2019).

Pada uji  $\text{Mg} + \text{HCl}$  pekat + amil alkohol menunjukkan hasil positif karena

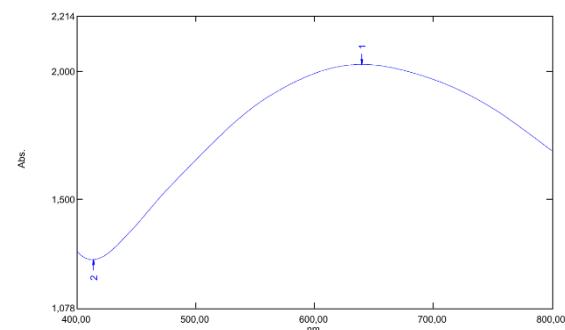
terbentuknya warna kuning pada lapisan amil alkohol. Hasil positif pada uji ini dikarenakan senyawa flavonoid mengandung gugus hidroksil ( $-\text{OH}$ ) dan gugus karboksil ( $-\text{COOH}$ ) senyawa ini bereaksi dengan  $\text{Mg}$  dan  $\text{HCl}$  sehingga membentuk kompleks yang berwarna kuning yang merupakan ciri khas flavonoid. Penambahan amil alkohol sebagai tempat lapisan yang akan mengalami perubahan warna sehingga akan menunjukkan positif mengandung flavonoid (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Dalam pengujian alkaloid, sampel terlebih dahulu dilarutkan dengan amoniak. Amoniak merupakan basa yang lemah, yang akan melepaskan alkaloid dari bentuk garamnya. Penambahan asam membuat endapan alkaloid lebih mudah, dan reagen pada uji alkaloid menghasilkan reaksi yang menghasilkan endapan kompleks alkaloid. Dari kedua metode identifikasi alkaloid yang digunakan, warna yang dihasilkan adalah warna jingga pada sampel simplisia kering dan eksraksi refluks, sedangkan pada ekstraksi maserasi warna yang dihasilkan coklat dan semua sampel cenderung tidak menunjukkan adanya endapan. Tidak adanya endapan yang terbentuk dikarenakan kandungan alkaloid yang jumlahnya sedikit sehingga tidak dapat

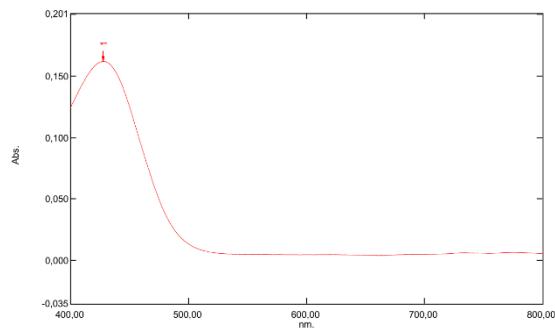
terekstraksi dan terdeteksi dengan pereaksi. Alkaloid biasanya hanya ada dalam kuantitas yang sedikit dan perlu dipisahkan dari kumpulan senyawa kompleks yang berasal dari struktur tumbuhan (Saepudin et al., 2024).

### Hasil Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat, Kuersetin, dan Piperin

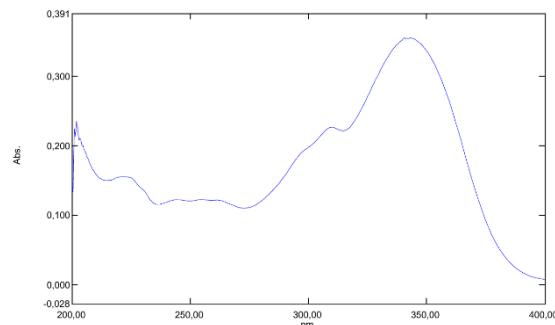
Penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga dapat digunakan untuk mengukur dan mengestimasi senyawa yang terkandung dalam suatu sampel. Spektrofotometer UV-Vis memiliki kelebihan di antaranya yaitu memiliki sensitivitas yang tinggi, penggunaannya relatif cepat, dan sederhana sehingga metode ini banyak digunakan dalam berbagai penelitian ilmiah (Lestari et al., 2023).



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat



Gambar 2. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin



Gambar 3. Panjang Gelombang Maksimum Piperin

Berdasarkan Gambar 3. di atas, hasil panjang gelombang maksimum larutan asam galat yang didapat adalah 640,00 nm, panjang gelombang kuersetin yang didapat adalah 427,50 nm, dan panjang gelombang piperin yang didapat adalah 348,80 nm.

### Hasil Pengukuran Kurva Standar Asam Galat, Kuersetin, dan Piperin

Hasil pengukuran absorbansi digunakan untuk membuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansinya sehingga diketahui nilai persamaan regresi liniernya. Persamaan regresi linier tersebut berguna untuk menghitung konsentrasi

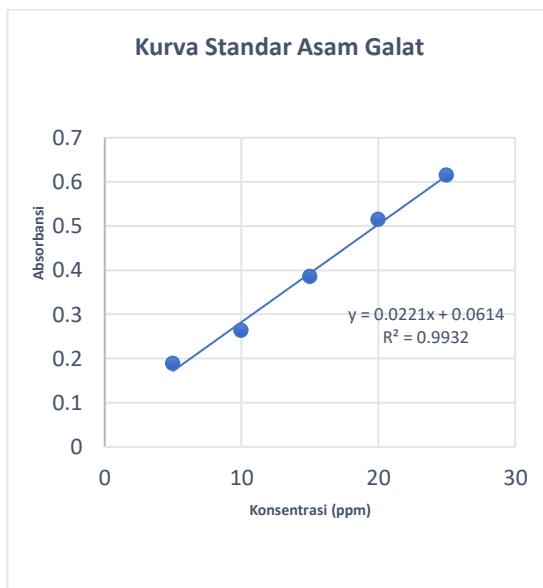
senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam sampel.

Asam galat digunakan sebagai standar karena asam galat merupakan golongan senyawa polifenol turunan dari asam benzoat hidrosiklik yang dapat dimurnikan dan bersifat stabil (Christiani et al., 2023). Larutan standar asam galat yang direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu dan natrium karbonat menghasilkan larutan berwarna biru. Warna biru tersebut akan semakin pekat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam galat. Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan yang lebih pekat mengandung lebih banyak senyawa fenolik (Supriningrum et al., 2020).

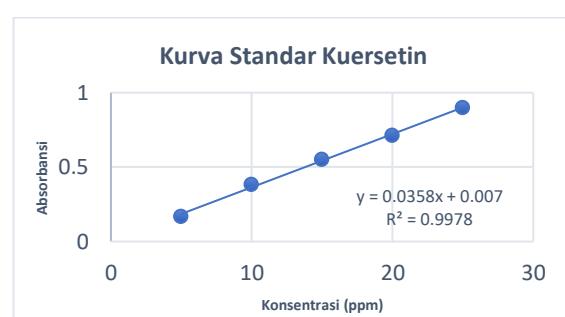
Kuersetin digunakan sebagai standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol dengan gugus keton pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga yang nantinya dapat membentuk kompleks dengan  $\text{AlCl}_3$  (Candra et al., 2021).

Piperin merupakan senyawa alkaloid yang banyak ditemukan dalam tanaman famili Piperaceae (Aswad et al., 2023). Piperin digunakan sebagai standar karena piperin merupakan senyawa alkaloid yang termasuk dalam golongan piridina yang relatif stabil dalam pelarut organik seperti

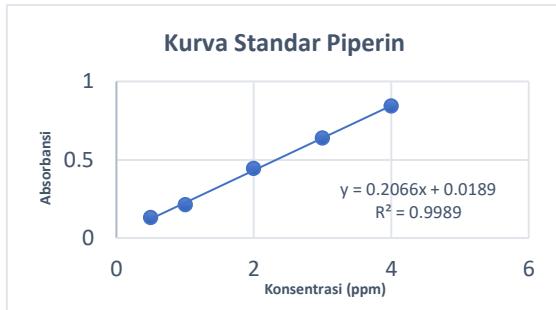
etanol atau metanol. Senyawa ini mengandung enam ikatan rangkap terkonjugasi yang diyakini sebagai sistem penyerapan pada panjang gelombang sekitar 343 nm, sehingga memungkinkan pengukuran menggunakan spektrofotometer (Cahyono et al., 2019).



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Larutan Standar Asam Galat



Gambar 5. Kurva Regresi Linier Larutan Standar Kuersetin



Gambar 6. Kurva Regresi Linier Larutan Standar Piperin

Berdasarkan kurva kalibrasi asam galat, kuersetin, dan alkaloid di atas, persamaan regresi linier larutan standar asam galat, kuersetin, dan piperin dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Persamaan Kurva Regresi Linier Standar Asam Galat, Kuersetin, dan Piperin

| Larutan Standar | Regresi Linier         | Koefisien Korelasi ( $R^2$ ) |
|-----------------|------------------------|------------------------------|
| Asam galat      | $y = 0,0221x + 0,0614$ | 0,9932                       |
| Kuersetin       | $y = 0,0358x + 0,007$  | 0,9978                       |
| Piperin         | $y = 0,2066x + 0,0189$ | 0,9989                       |

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) mendekati 1 yang menunjukkan bahwa kurva kalibrasi tersebut linier dan terdapat hubungan antara nilai konsentrasi larutan standar nilai absorbansi (Nofita et al., 2020). Hasil kurva kalibrasi tersebut sudah sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi sampel

terhadap kenaikan absorbansi sampel (Niwele et al., 2020).

#### Hasil Pengukuran Kadar Fenolik, Flavonoid, dan Alkaloid Total Pada Sampel

Kandungan fenolik total dalam ekstrak daun sirih hutan ditentukan kadarnya dengan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu karena reagen tersebut dapat bereaksi dengan golongan senyawa fenolik yang menghasilkan larutan berwarna biru sehingga absorbansinya dapat diukur pada panjang gelombang *visible*. Prinsip dari metode ini adalah reduksi fosfomolibdat-fosfotungstat oleh inti aromatis senyawa fenolik sehingga terbentuk kompleks molybdenum-tungsten yang berwarna biru (Christiani et al., 2023). Reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dan senyawa fenolik dapat terjadi pada suasana basa, sehingga diperlukan penambahan natrium karbonat untuk memberikan suasana menjadi basa. Suasana basa ini dapat mendisosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Larutan natrium karbonat memberikan suasana basa sehingga asam galat maupun golongan senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hutan dapat bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan perubahan warna larutan menjadi biru. Inkubasi dilakukan sehingga

reaksi antara senyawa golongan senyawa fenol dan reagen dapat berlangsung secara optimal (Christiani et al., 2023).

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri dengan pereaks  $\text{AlCl}_3$ . Senyawa  $\text{AlCl}_3$  akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning dan ditambahkan larutan natrium asetat digunakan sebagai pengantar pH untuk membentuk kompleks tidak tahan asam

dengan gugus OH pada flavonoid sehingga penambahan dua larutan ini dapat membantu dalam mendeteksi gugus flavon dan flavonol yang ada pada senyawa flavonoid (Candra et al., 2021)

Penetapan kadar alkaloid total dilakukan pada panjang gelombang UV karena alkaloid memiliki kemampuan menyerap cahaya pada daerah spektrum UV (Ifantri & Rawar, 2023).

Hasil penetapan kadar fenolik, flavonoid, dan alkaloid total dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Kadar Fenolik, Flavonoid, dan Alkaloid Total Daun Sirih Hutan

| Senyawa   | Sampel | Rata-rata Absorbansi | Rata-rata Kadar |
|-----------|--------|----------------------|-----------------|
| Fenolik   | ER     | 0,732                | 60,686 mg GAE/g |
|           | EM     | 0,527                | 42,134 mg GAE/g |
| Flavonoid | ER     | 0,479                | 26,368 mg QE/g  |
|           | EM     | 0,557                | 30,726 mg QE/g  |
| Alkaloid  | ER     | 0,497                | 4,628 mg PE/g   |
|           | EM     | 0,399                | 3,678 mg PE/g   |

Keterangan:

ER = Ekstrak Metode Refluks

EM = Ekstrak Metode Maserasi

Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa pada kadar fenolik dan alkaloid total metode refluks lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi. Hal ini dapat terjadi karena senyawa fenolik dan alkaloid diketahui merupakan senyawa yang bersifat stabil terhadap pemanasan dengan suhu tertentu. Selain itu juga faktor pemanasan dapat menyebabkan senyawa yang mudah larut dan tertarik. Namun, perlu diperhatikan juga jika suhu terlalu tinggi dapat berisiko

menyebabkan rusaknya senyawa fenolik dan alkaloid tertentu yang sensitif terhadap panas (Khofifah & Amelia, 2025; Priyadi et al., 2025). Sedangkan kadar flavonoid total pada metode maserasi lebih tinggi dibandingkan dengan metode refluks. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan kadar flavonoid adalah suhu ekstraksi. Suhu dapat mempengaruhi kelarutan senyawa karena adanya efek densitas. Flavonoid merupakan senyawa yang mudah teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak

tahan terhadap panas. Peningkatan suhu dapat menyebabkan penurunan kadar flavonoid atau kerusakan (Darotulmutmainnah et al., 2025).

#### D. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun sirih hutan mengandung metabolit sekunder yaitu fenolik, flavonoid dan alkaloid. Kadar fenolik total ekstrak metode refluks sebesar 60,686 mg GAE/g dan ekstrak metode maserasi sebesar 42,134 mg GAE/g. Kadar flavonoid total ekstrak metode refluks sebesar 26,368 mg QE/g dan ekstrak metode maserasi sebesar 30,726 mg QE/g. Kadar alkaloid total ekstrak metode refluks sebesar 4,628 mg PE/g dan ekstrak metode maserasi sebesar 3,678 mg PE/g.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Cahyono, B., Hasanah, E. F., Judiono, Suzery, M., & Widayat. (2019). Analysis of piperine content in cabe jawa extracts (*Piper retrofractum* Vahl) using UV spectrophotometry and HPLC. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509, 012025. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012025>
- Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), 397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>
- Christiani, G. J., Rawar, E. A., & Yuhara, N. A. (2023). Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Kandungan Fenol Total dalam Minyak Atsiri Daun Sirih Hijau. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*, 10(2), 79–85. <https://doi.org/10.33508/jfst.v10i2.4893>
- Darotulmutmainnah, A., Marini, M., Herliningsih, H., & Handayani, H. (2025). Comparison Of Total Flavonoid Content And Antioxidant Activity Of Purple Leaf Extract (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff.) Using Maceration And Soxhletation Extraction Methods. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 10(1), 45–56. <https://doi.org/10.37874/ms.v10i1.1608>
- Hanifah, H. N., Hadisoebroto, G., & Dewi, L. (2021). Comparison of phenolic, flavonoid, and tannin contents from ethanol extract of Kratom stem (*Mitragyna speciosa* Korth.) and senggani flower (*Melastoma malabathrum* L.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1869(1), 012002. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1869/1/012002>
- Hasibuan, N. H., Siregar, A. U., & Hasibuan, A. S. (2024). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Estrak Daun Sirih Hutan (*Piper Aduncum* L.) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etanol 70% Dan Etanol 96%. *Jurnal Kesehatan Syuhada*, 1(2).
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afifri, E., Widayastuti, R., & Ardiansyah, A. (2021). *Buku Referensi Ekstraksi*. IAIN Palangka Raya.
- Ifantri, D., & Rawar, E. A. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Dalam Ekstrak Etanol Daun Mint (*Mentha Piperita* L.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Duta Pharma Journal*, 3(1). <https://doi.org/10.47701/djp.v3i1.2408>

- Khofifah, D. N., & Amelia, I. (2025). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Sirih Cina (Peperomia Pellucida L.) Terhadap Kadar Total Flavonoid Dan Alkaloid. *Jurnal Etnofarmasi*, 3(01), 33–46.  
<https://doi.org/10.36232/jurnalfarmasiunimuda.v3i01.1972>
- Kiko, P. T., Taurina, W., & Andrie, M. (2023). Karakterisasi Proses Pembuatan Simplisia Daun Sirih Hijau (Piper Betle) Sebagai Sediaan Obat Penyembuhan Luka. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(1).  
<https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i1.18808>
- Kusuma, A. E. (2022). Pengaruh Jumlah Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Katuk (Sauvopus Androgynus L. Merr). *SITAWA: Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, 1(2), 125–135.  
<https://doi.org/10.62018/sitawa.v1i2.22>
- Kusuma, E. W., & Andriani, D. (2019). Karakterisasi Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum, Ruiz&Amp; Pav) Sebagai Obat Antidiabetes Menuju Obat Herbal Terstandar. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 71–76.  
<https://doi.org/10.34035/jk.v10i1.331>
- Lestari, P. F. A., Yulianti, A. D., Hasan, H., Cahyo, R. N., Rahman, Z. A., Rahmadani, A., & Erika, F. (2023). Penentuan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Pada Buah Kelapa Sawit (Elais guineensis Jacq) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Lantanida Journal*, 11(2), 158–167.
- Mailuhu, M., Runtuwene, M., & Koleangan, H. (2019). Skrining Fitokimia dan Aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang Soyogik (Saurauia bracteosa DC). *Chemistry Progress*.
- Malik, A., Marpaung, L., Simanjuntak, P., & Nasution, P. (2017). Aktivitas Sitosoksik Senyawa Golongan Fenolik Dari Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 1–6.  
<https://doi.org/10.33751/jf.v7i2.770>
- Maryam, F., Utami, Y. P., Mus, S., & Rohana, R. (2023). Perbandingan Beberapa Metode Ekstraksi Ekstrak Etanol Daun Sawo Duren (Chrysophyllum cainito L.) Terhadap Kadar Flavanoid Total Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(1), 132–138.  
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i1.336>
- Niwele, A., Umar, C. B. P., & Samal, R. R. (2020). Determination of total phenolic content of nutmeg leaf (Myristica fragrans Houtt) ethanol extract by UV-Vis spectrophotometry. *Jurnal Kesehatan Amanah*, 4(2), 01–15.
- Nofita, D., Sari, S. N., & Mardiah, H. (2020). Penentuan fenolik total dan flavonoid ekstrak etanol kulit batang matoa (Pometia pinnata JR & G. Forst) secara spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 8(1).
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining fitokimia, kandungan flavonoid total, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan Selaginella doederleinii. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141–153.
- Priyadi, A., Harun, F. R., Daulay, A. S., & Ridwanto, R. (2025). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun sirih (Piper betle L.) secara spektrofotometri visibel. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*.  
<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i1.818>
- Rivai, H., Nanda, P. E., & Fadhilah, H. (2014). Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun sirih hijau (Piper betle L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 133–144.
- Saepudin, S., Dewi, L., NurmalaSari, R., Kartikawati, E., Hidayat, T. S., & Azzahra, Y. Al. (2024). Skrining Fitokimia dari Tiga Tanaman Famili Asteraceae dengan Berbagai Pereaksi Kimia. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 13(3), 333–347.  
<https://doi.org/10.30591/pjif.v13i3.7069>
- Sanjaya, I. M. D., Purba, R., & Saleh, C. (2024). Skrining Fitokimia Dan Potensi

- Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan (*Piper Aduncum* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*: A Mini Review. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 78–82.
- Supriningrum, R., Nurhasnawati, H., & Faisah, S. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena Odorata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Al Ulum Jurnal Sains Dan Teknologi*, 5(2), 54. <https://doi.org/10.31602/ajst.v5i2.2802>
- Wibowo, F. B., Tutik, T., & Amalia, P. (2024). Standarisasi Mutu Simplisia Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Analis Farmasi*, 9(2). <https://doi.org/10.33024/jaf.v9i2.11857>.