

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN FITOKIMIA DARI EKSTRAK KULIT BUAH PINANG SIRIH MUDA DAN TUA (*Areca catechu* L)

Nurul Hidayah<sup>1\*</sup>, Andi Hairil Alimuddin<sup>1</sup>, Harlia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Strudi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,

\*email: [nhurulhidayah10@gmail.com](mailto:nhurulhidayah10@gmail.com)

### ABSTRAK

Tumbuhan pinang (*Areca catechu* L) umumnya sering digunakan untuk obat. Tumbuhan ini mulai dari daun, batang, serabut hingga bijinya dapat dimanfaatkan. Pinang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antimutagenik, astringent, antiseptik dan antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan dan kandungan fitokimia pada kulit pinang sirih muda dan tua (*Areca catechu* L). Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidannya yaitu menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit pinang muda sebesar 56,6 ppm, sedangkan ekstrak kulit pinang sirih tua sebesar 67,50 ppm. Ekstrak kulit pinang sirih muda dan tua tergolong ke dalam sifat antioksidan kuat.

**Kata Kunci :** *Antioksidan, Areca Catechu L, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*

### PENDAHULUAN

Tanaman pinang (*Areca catechu* LINN) adalah tanaman yang termasuk kedalam salah satu jenis palma. Di Indonesia tanaman pinang banyak terdapat di pulau Sumatera (Aceh, Sumatera Utara dan Sumatera Barat), Kalimantan (Kalimantan Barat dan Kalimantan Selatan), dan Nusa Tenggara (Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur) (Ferry, 1992).

Tanaman ini dikatakan sebagai tanaman yang serbaguna karena mulai dari daun, batang, serabut, dan bijinya dapat dimanfaatkan. Daun tanaman tersebut, banyak mengandung minyak atsiri, biji buahnya banyak mengandung tannin dan alkaloid sebagai obat dan penyamak pada industri kulit. Sedangkan serabut buahnya berfungsi sebagai obat pada gangguan pencernaan, sembelit, aderma dan beri-beri dan batang dari tanaman pinang umumnya dijadikan sebagai bahan bangunan, jembatan, saluran air dan sebagainya (Ferry, 1992).

Antioksidan memiliki peran penting untuk mencegah kerusakan jaringan sel disebabkan adanya radikal bebas. Antioksidan mendonasikan satu atau lebih elektron mengarah pada senyawa oksidan satu atau lebih sehingga menjadi stabil. Antioksidan dapat juga mengeliminasi senyawa radikal bebas didalam tubuh sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki, dkk, 2002).

Penelitian aktivitas antioksidan menggunakan tanaman pinang sudah pernah dilakukan. Menurut Mamonto, dkk., (2014) menyatakan bahwa kulit biji pinang buah Yaki mempunyai potensi sebagai antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 46,67 pada ekstrak metanol. Selain itu, menurut Revina Petrina, dkk., (2017) menyatakan bahwa kulit biji pinang sirih (*Areca catechu* L) mempunyai sifat antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 7,695 ppm. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan kulit buah pinang sirih muda dan tua sebagai bahan utama yang didasari oleh pendekatan kemotaksonomi.

Adapun metode yang dilakukan pada penelitian ini diawali dengan maserasi sampel menggunakan pelarut metanol p.a, kemudian maserat dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental. Penentuan aktivitas antioksidan sampel menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Pengukuran aktivitas antioksidan secara DPPH dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diukur pada gelombang maksimum 518 nm.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah batang pengaduk, bulb, botol semprot, botol vial, chamber, corong kaca, gelas beaker, kaca arloji, kertas saring, kromatografi kolom, labu ukur 100 mL; 250 mL, neraca analitik, peralatan KLT, pipa kapiler, pipet volume, plat tetes, dan rotari evaporator, spektrofotometer Uv-Vis dan tabung reaksi.

Bahan utama yang digunakan adalah buah pinang muda dan tua yang diperoleh dari desa Punggur Kecil kabupaten Kubu Raya, sedangkan untuk bahan lainnya yaitu akuades, metanol p.a, *n*-heksan, etil asetat, dan DPPH.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi bahan

Sampel buah pinang diambil dan dicuci. Masing-masing sampel berupa buah pinang sirih muda dan tua dicuci dan dipisah. Dipisahkan kulit buah, cangkang dan biji buah. Kemudian sampel dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan pada suhu kamar selama 2 hari. Lalu masing-masing buah pinang sirih muda dan tua ditimbang sebanyak 25 gram. Sampel dimaserasi menggunakan pelarut metanol p.a selama 1x24 jam.

#### Ekstraksi buah pinang

Sampel buah pinang yang sudah dimaserasi dievaporasi menggunakan pelarut metanol p.a dengan suhu 50°C hingga mendapatkan ekstrak kentalnya. Selanjutnya ekstrak kental yang telah diperoleh dilakukan kromatografi lapis tipis untuk menentukan isolat murni.

Randemen ekstrak kulit biji buah pinang sirih muda dan tua dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat (gr)}}{\text{berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

#### Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif yang bertujuan untuk melakukan identifikasi metabolit sekunder. Golongan metabolit sekunder yang akan diuji yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid.

##### a. Uji flavonoid

Sejumlah kecil ekstrak kental kulit biji pinang sirih muda dan tua ditambahkan 0,1 gr serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat, terjadinya warna jingga, merah muda sampai merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

##### b. Uji alkaloid

Sejumlah kecil ekstrak kental kulit biji pinang sirih dan fraksi-fraksinya ditambahkan beberapa tetes HCl 2M dan akuades, lalu ditambahkan pereaksi mayer (campuran HgCl<sub>2</sub> dan KI). Jika terbentuk endapan putih dengan pereaksi mayer atau terbentuknya endapan coklat kemerahan dengan pereaksi mayer menunjukkan hasil yang positif alkaloid.

##### c. Uji fenolik

Sejumlah kecil ekstrak kental kulit biji pinang sirih dan fraksi-fraksi ditambahkan akuades dan FeCl<sub>3</sub> 5%. Jika terbentuk warna hijau sampai biru menandakan adanya senyawa fenolik.

##### d. Uji triterpenoid

Sejumlah kecil ekstrak kental kulit biji pinang sirih muda dan tua ditambahkan anhidrida asetat dan asam sulfat. Terbentuknya warna coklat kehitaman menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.

#### Uji aktivitas antioksidan

##### a. Larutan DPPH 0,2 mM

Sebanyak 8 mg DPPH dilarutkan dengan metanol pro analis hingga 100 mL, kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

##### b. Larutan blanko

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 0,2 mM dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang ditara 5 mL. Seluruh tabung reaksi ditutupi dengan aluminium foil.

### c. Larutan uji

Sebanyak 5 mg sampel dilarutkan dalam 5 mL metanol pro analis (100 ppm), larutan ini merupakan larutan induk. Sebanyak 4, 6, 8, dan 10  $\mu\text{L}$  larutan induk dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah ditara sebanyak 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi sampel 4, 6, 8, dan 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan ditambahkan dengan metanol pro analisis hingga total volume menjadi 5 mL. Larutan uji dihomogenkan dan seluruh bagian tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil.

### Analisis data

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 518 nm. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Grafik regresi linier dibuat dengan konsentrasi terhadap % inhibisi. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan akan diperoleh berupa nilai IC<sub>50</sub> dari persamaan garis  $y=ax + b$ . Perlakuan yang sama juga dilakukan pada blanko dan kontrol positif vitamin C. Persamaan garis ini kemudian digunakan untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub> (konsentrasi yang diperlukan untuk menginhibisi 50% radikal bebas) dengan nilai  $y=50$ . Perhitungan nilai konsentrasi efektif atau IC<sub>50</sub> menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{Antioksidan} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan kulit pinang muda dan tua yang berasal dari desa Punggur Kecil, kabupaten Kubu Raya. Tumbuhan pinang sebelumnya dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi FMIPA UNTAN untuk melihat identitas tumbuhan yang digunakan agar menghindari kesalahan pada pengambilan sampel. Berdasarkan surat dari Laboratorium Biologi nomor 114/A/LB/FMIPA/UNTAN/2019 menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *Areca catechu* L.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit biji pinang sirih muda dan tua yang berasal dari desa Punggur Kecil kabupaten Kubu Raya provinsi Kalimantan Barat. Tahap preparasi sampel dimulai dari pemisahan buah pinang sirih muda dan tua lalu dicuci sampai bersih, kemudian dibelah untuk memisahkan antara kulit buah, kulit biji dan biji buah. Selanjutnya diambil bagian kulit biji pinang muda dan tua yang merupakan bahan utama. Kemudian dikeringkan pada suhu kamar selama 2 -3 hari, lalu dipotong kecil-kecil. Tujuan pengeringan kulit buah pinang muda dan tua adalah untuk mengurangi kadar air yang masih terkandung dalam kulit buah tersebut. Dari pemotongan ini bertujuan untuk memperluas permukaan pada sampel menjadi lebih besar sehingga senyawa metabolit yang terdapat pada sampel terekstrak sempurna. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar pula luas permukaannya dan interaksi kontak dengan pelarut semakin besar pula sehingga proses ekstraksi akan semakin efektif. Berat total sampel yang telah dihaluskan sebanyak 648,4001 gram untuk kulit pinang muda dan kulit pinang tua sebesar 657,953 gram .

### Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang digunakan lalu dihaluskan berupa serbuk kasar, dilarutkan dengan bahan pengestraksi lalu didiamkan selama beberapa jam atau beberapa hari. Pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi adalah metanol, etanol, etil asetat, aseton dan asetonitril dengan air. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi bertujuan agar pelarut mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah untuk dipisahkan dan dimurnikan kembali.

Pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi kulit biji pinang sirih adalah pelarut metanol p.a. Metanol merupakan senyawa alkohol yang mempunyai titik didih yang rendah yaitu 64,70°C sehingga pelarut mudah menguap pada saat proses ekstraksi berlangsung. Metanol adalah pelarut yang dapat mengekstraksi hampir semua senyawa bahan alam yang terdapat pada

tumbuhan. Selain itu, menurut Mamonto, dkk., (2014), menyatakan bahwa nilai randemen ekstrak dan aktivitas antioksidan yang tinggi saat menggunakan pelarut metanol, dibandingkan dengan pelarut kloroform dan etil asetat. Kemudian ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator dengan pelarut metanol p.a. Penentuan randemen ekstrak kental metanol dilakukan melalui penentuan secara aliquot. Penentuan ini bermaksud untuk mengetahui jumlah bahan yang homogen dengan sampling error diabaikan.

**Kandungan Metabolit Sekunder**

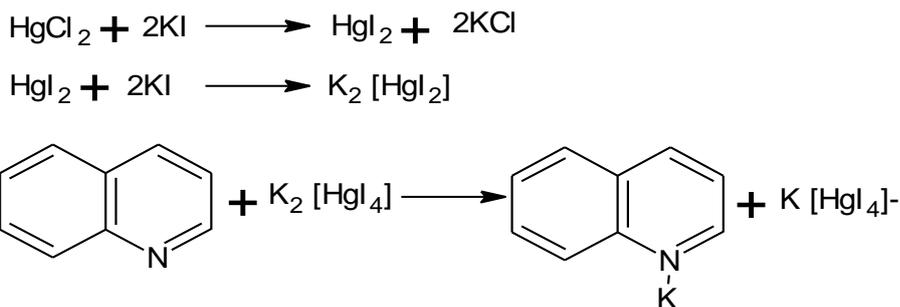
Uji metabolit sekunder dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa organik yang terdapat pada pinang sirih muda dan tua (*Areca catechu* L.). Ada beberapa uji yang dilakukan dalam mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder, yaitu uji fitokimia dan uji menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil uji fitokimia untuk penentuan kandungan golongan senyawa metabolit sekunder kulit buah pinang sirih dapat dilihat pada Tabel 1. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid dengan reagen mayer, uji fenolik, dan uji terpenoid.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Kulit Buah Pinang Sirih Muda dan Tua

Komponen	Berat (gram)	Uji Fitokimia						
		Flavonoid	Alkaloid Mayer Wagner		Dragen draff	Terpenoid	Steroid	Fenolik
Pinang Sirih Muda	3,53	-	++	-	++	++	+	++
Pinang Sirih Tua	3,25	-	+	-	+	+	++	+

Uji fitokimia pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendraff, pereaksi Mayer dan pereaksi wagner. Pereaksi Dragendraff dibuat dengan cara mencampurkan bismut subnitrat dengan asam asetat dan air, lalu dicampurkan dengan kalium iodida, pereaksi ini menghasilkan berwarna jingga. Pada uji menggunakan pereaksi Dragendraff menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid dimana pada sampel buah pinang muda memiliki endapan putih lebih banyak dibandingkan pinang tua. Pada saat sampel pinang muda direaksikan dengan Dragendraff warna yang ditunjukkan adalah warna kuning kecoklatan dengan sedikit endapan putih sedangkan sampel pinang tua memiliki warna kuning cerah dengan sedikit endapan, sehingga kedua sampel positif mengandung senyawa Alkaloid.

Uji alkaloid selanjutnya adalah dengan melakukan metode pereaksi mayer yang didasarkan pada reaksi pengendapan. Hasil positif pada kedua sampel yang ditunjukkan dengan adanya endapan putih. Pereaksi mayer dibuat dengan mencampurkan larutan merkuri (II) klorida dengan larutan kalium iodida, kedua larutan ini akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri (II) iodida. Jika kalium iodida ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Endapan yang terbentuk pada uji alkaloid ini adalah kompleks kalium-alkaloid, hasil reaksi antara ion logam K<sup>+</sup> dari kalium tetraiodomerkurat (II) (Setyowati, dkk.,2014). Mekanisme reaksinya adalah sebagai berikut:



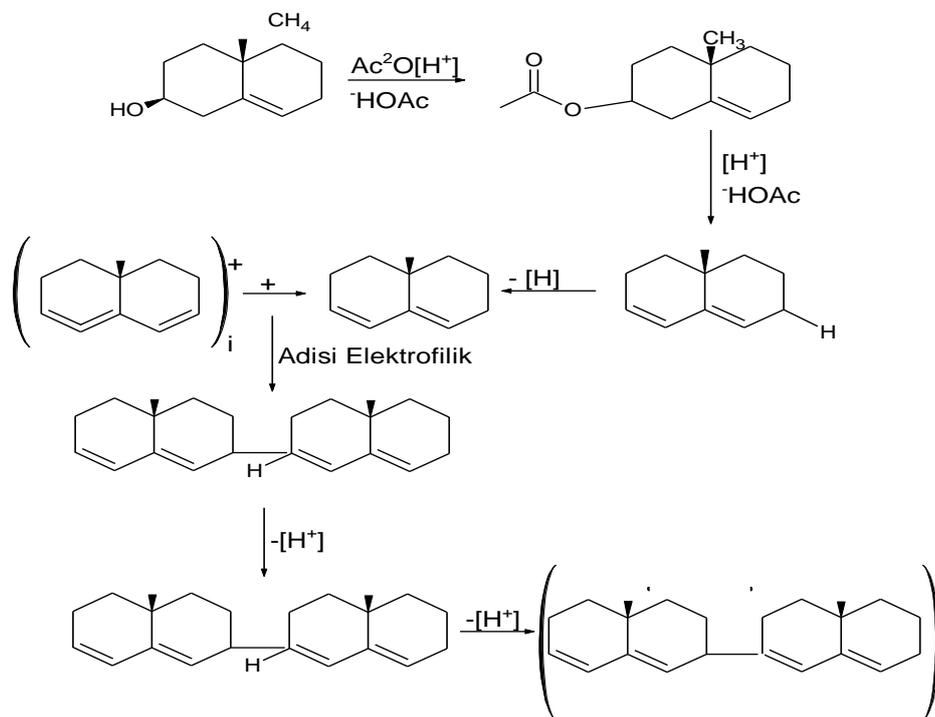
Gambar 1. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Mayer

Pada pembuatan pereaksi wagner, iodin bereaksi dengan ion I<sup>-</sup> dari kalium iodide menghasilkan ion I<sup>3-</sup> yang berwarna coklat. Ion logam K<sup>+</sup> akan membentuk ikatan kovalen dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Setyowati, dkk.,2014). Pada penelitian ini hasil negatif untuk kedua sampel yang dimana tidak menunjukkan perubahan warna.

Pada pembuatan pereaksi wagner, iodin bereaksi dengan ion I<sup>-</sup> dari kalium iodide menghasilkan ion I<sup>3-</sup> yang berwarna coklat. Ion logam K<sup>+</sup> akan membentuk ikatan kovalen dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Setyowati, dkk.,2014). Pada penelitian ini hasil negatif untuk kedua sampel yang dimana tidak menunjukkan perubahan warna.

Selanjutnya uji flavonoid dengan pereaksi Mg+Cl juga tidak mengalami perubahan pada kedua sampel. Senyawa flavonoid dengan pereaksi Mg dan Cl tidak teridentifikasi pada kedua sampel. Hal ini dikarenakan adanya gugus OH yang termetilasi atau terikat dengan glikosida sehingga ion Mg<sup>+</sup> dari MgCl<sub>2</sub> tidak dapat mengikat gugus OH dan tidak membentuk senyawa kompleks yang ditandai dengan larutan berwarna merah.

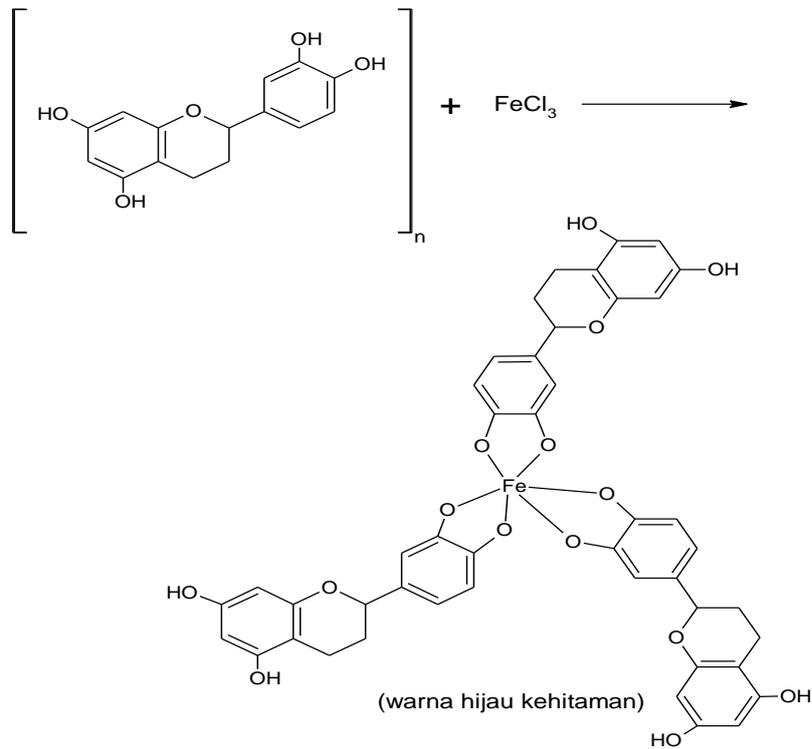
Uji terpenoid dan steroid menggunakan reagen Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Uji steroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan reaksi positif dimana terjadi perubahan warna hijau lebih tua untuk sampel pinang sirih muda dan sampel pinang sirih tua menunjukkan perubahan warna hijau lebih muda. Kemudian pada uji Terpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard pada sampel buah pinang sirih muda mengalami perubahan warna coklat kemerahan dengan lebih banyak endapan dibandingkan sampel pinang sirih tua dimana menunjukkan perubahan warna coklat dan sedikit endapan. Mekanisme reaksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi Terpenoid dengan Reaksi Liebermann-Burchard

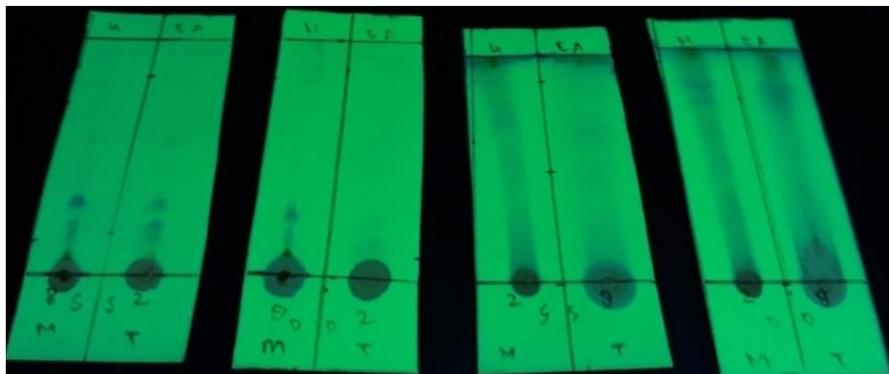
Uji fenolik menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman , reaksi dapat dilihat pada Gambar 3. Penambahan ekstrak dengan FeCl<sub>3</sub> menimbulkan warna hijau kehitaman. Warna ini terbentuk disebabkan oleh senyawa fenol bereaksi dengan ion Fe<sup>3+</sup> membentuk senyawa kompleks (Setyowati, dkk.,2014). Pada ekstrak pinang sirih muda menunjukkan adanya senyawa fenolik dimana mengalami perubahan warna hijau kehitaman sementara itu pada ekstrak pinang sirih tua juga menunjukkan warna hijau kehitaman.

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki sejumlah gugus hidroksil. Selain itu, fenol berperan sebagai antioksidan (Hart,2003). Aktivitas antioksidan sangat berpengaruh pada struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya.



Gambar 3. Reaksi Senyawa Fenolik dengan FeCl<sub>3</sub>

Pengujian dilakukan pada fraksi metanol menggunakan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) yang bertujuan untuk memastikan kandungan senyawa flavonoid dalam kedua sampel. Hasil dari analisis KLT ini diidentifikasi dengan menggunakan lampu Uv pada panjang gelombang 254 nm. Lampu Uv berfungsi untuk mengidentifikasi kerangka dasar pada suatu senyawa yaitu senyawa flavonoid. Gugus OH pada flavonoid yang terikat dengan glikosida yang tidak berpengaruh dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah plat TLC silika gel F<sub>254</sub> dan fase geraknya menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Gambar 3 plat KLT dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dengan perbandingan *n*-heksana : EA, 8:2 dan 2:8.



Gambar 4. Plat KLT dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dengan perbandingan *n*-heksana : EA, 8:2 dan 2:8.

Hasil uji tersebut adalah terdapat spot noda pada kedua sampel yang menunjukkan bahwa senyawa bersifat polar. Hal ini dikarenakan semakin banyak perbandingan pelarut *n*-heksana daripada etil asetat maka spot noda semakin turun yang menandakan bahwa senyawa bersifat polar. Hasil uji KLT pada perbandingan 8:2 menunjukkan adanya 3 spot noda menggunakan sinar penampak noda lampu UV pada panjang gelombang 245 nm

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki sejumlah gugus hidroksil. Selain itu, fenol berperan sebagai antioksidan (Hart,2003). Aktivitas antioksidan sangat berpengaruh pada struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan karena dapat mentransfer atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi yang menyebabkan flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, dan dapat menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas.

### Aktivitas Senyawa Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa penghambat reaksi radikal bebas didalam tubuh. Penelitian ini dilakukan dengan membuat larutan sampel dengan konsentrasi 4, 6, 8, dan 10 ppm. Kemudian dibuat larutan induk sebesar 1000 ppm dengan melarutkan 5 mg sampel kulit pinang tua dan muda pada 5 mL metanol. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menggunakan pelarut metanol dengan membuat variasi konsentrasi 4, 6, 8, dan 10 ppm. Kemudian dimasukkan 2 mL larutan DPPH dan dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 518 nm untuk mengetahui absorbansi setiap sampel dengan melakukan 3 kali pengulangan. Panjang gelombang yang digunakan merupakan  $\lambda$  maksimum dari hasil pengukuran. Semakin besar konsentrasi sampel maka makin kecil absorbansinya. Setelah itu dibuat kurva hubungan konsentrasi terhadap %antioksidan. Persamaan yang didapat kemudian digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi antioksidan yang mampu menghambat 50% radikal bebas.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian antioksidan metode DPPH yang dilakukan dengan melihat perubahan warna pada masing-masing sampel. Kemudian kedua sampel dilakukan pengukuran nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 518nm. Dari hasil yang telah dilakukan maka diperoleh data yang membandingkan konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah grafik regresi.

Tabel 2. Data Nilai Absorbansi dan % Antioksidan Sampel Ekstrak Kulit Pinang Muda dan Tua

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel		%Antioksidan	
	0,318	Muda	Tua	Muda	Tua
4	0	0,295	0,295	7,23	7,23
		0,295	0,295		
		0,294	0,294		
6	0	0,292	0,293	8,17	7,86
		0,291	0,293		
		0,292	0,292		
8	0	0,285	0,286	10,37	10,06
		0,284	0,286		
		0,285	0,285		
10	0	0,280	0,283	11,94	11,01
		0,283	0,282		
		0,282	0,283		

Perubahan warna DPPH dikarenakan oleh atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi  $n-\sigma^*$ . Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan keadaan tereksitasi. Perubahan intensitas warna ini memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, dimana semakin besar konsentrasi

sampel maka semakin kecil absorbansinya. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan instrument spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 518 nm. Nilai aktivitas antioksidan akan dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredam radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ditunjukkan pada tabel 3.

Kemampuan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil dalam suatu senyawa bioaktif. Senyawa yang mengandung gugus  $-OH$  yang dalam pemecahan heteroliknya akan menghasilkan  $O^-$  dan  $H^+$ . Gugus hidroksil ini melepaskan ion hidrogen yang akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH sehingga dapat meredam radikal bebas dari DPPH sehingga membentuk 1,1-difenil-2-dipikrilhidrazin (DPPH-H). Oleh karena itu, semakin banyak gugus OH dalam suatu senyawa bioaktif maka kemampuannya dalam meredam radikal bebas akan semakin tinggi. Adapun senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah fenolik, alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

Aktivitas antioksidan sangat berpengaruh pada struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan karena dapat mentransfer atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi yang menyebabkan flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, dan dapat menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas.

Data yang diperoleh dilakukan regresi dengan variasi konsentrasi sebagai nilai x dan % antioksidan sebagai nilai y. Dari persamaan tersebut digunakan untuk mencari konsentrasi efektif ekstrak yang dapat meredam radikal bebas menggunakan DPPH atau nilai  $IC_{50}$ . Berikut Tabel 3 yang menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sampel ekstrak kulit pinang muda dan tua.

Tabel 3. Nilai  $IC_{50}$  Sampel Ekstrak Kulit Pinang Muda dan Tua

Sampel	Persamaan Garis	Nilai y	Nilai x atau $IC_{50}$
Pinang Muda	$y = 0,8165x + 3,712$	50	56,6
Pinang Tua	$y = 0,677x + 4,301$	50	67,50

Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y. Lalu setelah mensubstitusikan nilai  $y=50$  maka akan diperoleh nilai x sebagai  $IC_{50}$ .

Berdasarkan data hasil yang diperoleh dari kedua sampel menunjukkan nilai  $IC_{50}$  lebih dari 50. Jika dilihat nilai  $IC_{50}$  pada kulit pinang sirih muda memiliki nilai 56,6 sementara itu nilai  $IC_{50}$  pada pinang tua sebesar 67,50. Perbedaan nilai  $IC_{50}$  disebabkan oleh faktor jumlah antioksidan yang terkandung didalam ekstrak sehingga terjadi kerusakan antioksidan didalam ekstrak. Menurut Nuranda (2016), aktivitas antioksidan dapat dikatakan sangat kuat jika nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, kuat jika  $IC_{50}$  50-100 ppm, sedang jika  $IC_{50}$  100-150 ppm, lemah jika  $IC_{50}$  200 ppm. Oleh karena itu sampel ekstrak kulit buah pinang sirih muda dan tua yang diperoleh tergolong dalam antioksidan kuat. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas antioksidannya semakin besar.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa secara fitokimia kandungan dalam ekstrak sampel kulit pinang sirih muda dan tua relatif sama akan tetapi aktivitas antioksidannya berbeda dimana nilai  $IC_{50}$  pada kulit pinang muda sebesar 56,6 ppm sedangkan nilai  $IC_{50}$  pada sampel kulit pinang tua sebesar 67,50 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel kulit pinang sirih muda dan tua tergolong kedalam sifat aktivitas antioksidan kuat dimana  $IC_{50}$  50-100 menunjukkan sifat aktivitas antioksidan yang kuat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ansel H.C, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi 4, Press UI, Jakarta, 1989.
- Awang, M.N. 1986. Estimation of *Areca* (Betel) Nuts and Its Relation to Oral Precancerous Lesions. *Singapura Medicane Journal*. 27 (4) 317-320.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York.
- Depkes RI. 1989. *Material Medika Indonesia*, Jilid V.p. Hal: 55-58.
- Ferry, Y. 1992. Bertaman Pinang (*Areca catechu*). Kebun Percobaan Paya Gajah. Aceh Timur.
- Harbone, J.B 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata K, dan Soediro, L, Edisi 4. ITB. Bandung.
- Hart, H. 1990. *Kimia Organik Erlangga*. Jakarta.
- Jaiswal, P., Kumar, P., Singh, V.K., Singh, D.K. 2011. *Areca catechu* L: A valuable herbal medicine againsts different health problems. *Res J Med Plant*. 5(2):145-52.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., Tanigucji, H., 2002. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *J. Agric. Food Chem*. 50, 2161-2168.
- Mamonto, I.S., M.R. Runtuwene., F. Wehantouw. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca Vestitaria Giseke*). *Jurnal Ilmiah Farmasi- UNSTRAT*. 3:263 – 272.
- Meiyanto, E. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu Linn*) Mampu Menghambat Poliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MFC – 7. *Majalah Farmasi Indonesia*. Hal: 19(1): 12-19.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stabel Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn. Journal Science Technology* 26(2),211-21.
- Nuranda, A, Saleh, C, Yusuf, B. 2016. Potensi Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulate Linn.*) sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Atomik*. Vol.1 No. 1:8.
- Pokomy, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. *Antioxidants in Food, Pratical Applications*. Wood Publishing Limited. Cambridge. England 1-123.
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemisahan*. Deepublish: Yogyakarta.
- Setyaningsih, A. 2003. Studi Pendahuluan bahan aktif dari bintang laut (*Astropecten sp.*) sebagai antioksidan [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Setyowati, W.A. Eko, Aiani, S.R. Sri, Ashadi, Mulyani, B, Rahmawati, C. 2014. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk*. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. ISBN : 979363174-0.
- Sies, H. 1997. Oxidative Stress : Oxidants and Antioxidants. *Journal of Experimenta* 182(2):291-299.
- Sunarni, T., Pramono, S., Asmah, R. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkapan Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl) Hook. F. & Th). *M.F.I* 18(3) ; 111- 116.
- Suyitno., Haryadi., Supriyanto., Budi, S., Haryanto, D., Adi, D.G., dan Wahyu, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Voight, R., *Buku Pelajaran Teknologi Ekstraksi*, Diahlibahasakan oleh Soeeandhi, S.N. Edisi 5, Gadj Mada University Press, Yogyakarta, 1995.
- Wang. C.K dan W.H. Lee. 1996. Separation, Characteristics, and Biological Activities Of phenolics In *Areca* Fruit. *Jurnal Agricultural Food Chemistry* 44 : 2014 – 2019.
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, Erowati, T. I. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1 –Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera L.*) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 1, 34-43.
- Xing, Z., Jiao, W., Zhuang, H., Wen-Li, M., Hao-Fu, D. 2010. Antioxidant and Cytotoxic Phenolic Compound of *Areca* Nut (*Areca catechu*). *Chem Res Chin Univ*. 26 (1):161-64.