

Isolasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*. Benth)Marsah Rahmawati Utami¹⁾, Irmanida Batubara²⁾, dan Latifah K. Darusman³⁾¹⁾ Staf Pengajar, Fakultas Kependidikan dan Ilmu Pendidikan UNSIKA, Karawang²⁾ Staf Pengajar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor³⁾ Staf Pengajar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor

Korespondensi author: marsah.r.utami@gmail.com

Diterima 23 Oktober 2016/Disetujui 30 Januari 2017

ABSTRACT

Piper cf. fragile (sirih merah) is one of herb plants that contained essential oils and had been used as medicinal substances traditionally in Indonesia. The purposes of this research were to isolate, fractionate and to find constituents sirih merah essential oil. The research was done in 2011 at Bogor Agricultural Institute and was done in four step, there were material collection, essential oil isolation by hydrodistillation, fractionation by column chromatography and GC-MS analysis. The result show that essential oil isolation was obtained 0,24% (v/b). The oil was fractionated by column chromatography (heksana-kloroform-metanol as mobile phase) and produced 4 fractions. The main constituents of crude essential oil by GC-MS analysis were alpha tuhyena, sabinena, beta mircena, alpha terpinena beta felandrena, gamma terpinena, alpha terpirolena, linalool, 4-terpineol, trans cariofilena, germakrena D, alpha copaena. The main constituen of fraction 1 are sabinena (38,67%) and beta mircena (22,94%). The main constituents of fraction 2 are linalool (20,36%) and 4-terpineol (31,67%). From the results can be concluded that main constituents of essential oil *Piper cf. fragile* (sirih merah) were monoterpene (such as sabinene, mircene, Alpha tuhyene, Alpha terpinene, Gamma terpinene) and sesquiterpene (such as trans caryophyllene and germacrene D)

Key word: isolation, fractionation, hydrodistillation, *Piper cf. fragile*, essential oil.

ABSTRAK

Piper cf. fragile (sirih merah) adalah salah satu tanaman herbal yang mengandung minyak atsiri dan telah digunakan sebagai bahan obat secara tradisional di Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, memfraksinasi dan mengidentifikasi komponen-komponen yang terkandung dalam minyak atsiri sirih merah. Penelitian dilakukan pada tahun 2011 di Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilakukan empat tahap, yaitu pengumpulan bahan, isolasi minyak atsiri daun sirih merah dengan destilasi air, fraksinasi minyak atsiri dengan kromatografi kolom dan analisis komponen dengan GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi minyak atsiri yang diperoleh sebanyak 0,24 % (v/b). Minyak atsidifraksinasi dengan kromatografi kolom (heksana-kloroform-metanol sebagai fasa gerak) menghasilkan 4 fraksi. Hasil analisis GC-MS dari ekstrak teridentifikasi mengandung komponen utama : Alpha tuhyena, sabinena, beta mirsen, alpha terpinena beta felandrena, gamma terpinena, alpha terpirolena, linalool, 4-terpineol, trans kariofilena, germakrena D, alpha kopaena. Komponen utama fraksi 1 adalah sabinena (38,27%) dan beta mircena (22,94%), pada fraksi 2 mengandung komponen utama linalool (20,36%) dan 4-terpineol (31,67%). Dari hasilnya dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri sirih merah mengandung komponen utama monoterpene (seperti sabinen, mircen, Alpha tuhyen, Alpha terpinen, Gamma terpinen) dan sesquiterpen (seperti trans cariofillen and germacrenD)

Kata kunci: isolasi, fraksinasi, destilasi air, *Piper cf. fragile*, minyak atsiri.

PENDAHULUAN

Sirih merah (*Piper cf. fragile*. Benth) merupakan salah satu tanaman obat potensial yang diketahui secara empiris memiliki khasiat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Tanaman ini termasuk pada famili piperaceae dan biasanya tumbuh merambat di pagar atau pohon. Ciri khas sirih merah adalah batangnya bulat, berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk

jantung hati dan bagian atasnya meruncing (Gambar 1). Sirih merah memiliki aroma yang lebih wangi dibandingkan dengan sirih hijau. Sirih merah merupakan tanaman herba yang secara empiris dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti diabetes mellitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi dan memperhalus kulit (Manoi 2007).

Berdasarkan beberapa penelitian kandungan fitokimia yang terdapat di dalam daun sirih merah adalah alkaloid, saponin, tannin dan flavonoid. Ngaisah (2007) melaporkan bahwa kadar minyak atsiri daun sirih merah dengan metode pemisahan destilasi *stahl* adalah sebesar 0.727% (v/b). Beberapa penelitian yang berkaitan dengan aktivitas ekstrak daun sirih merah telah dilakukan, diantaranya adalah Safithri dan Fahma (2008) menyimpulkan bahwa ekstrak air daun sirih merah mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus sebanyak 10-38%. Wicaksono *et al.* (2009) melaporkan bahwa ekstrak daun sirih merah mampu menghambat proliferasi sel kanker payudara (T47D).



Gambar 1. Daun sirih merah

Hasil penelitian Sulistiyani *et al.* (2007) menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah memiliki aktivitas antimikroba terhadap *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*. Juliantina *et al.* (2009) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218). Batubara *et al.* (2011) melaporkan bahwa monoterpena dan sesquiterpena minyak atsiri sirih merah mampu meningkatkan aktivitas monofenolase dan difenolase pada enzim tirosinase. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, memfraksinasi dan menentukan komponen-komponen yang terkandung dalam minyak atsiri sirih merah.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Departemen Kimia dan Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka Institut Pertanian Bogor sejak bulan Januari sampai dengan Juni tahun 2011.

Bahan utama yang digunakan adalah daun sirih merah (*Piper cf. fragile*) yang diperoleh dari BALITRO Bogor. Peralatan yang digunakan adalah neraca analitik, oven, distilator air, kromatografi kolom, dan instrument GC-MS (*Gas Chromatograph-Mass Spectrometer*) Agilent Technologies 6890.

Penelitian ini dilakukan empat tahap, yaitu pengumpulan bahan, isolasi minyak atsiri daun sirih merah dengan alat destilasi air dan fraksinasi minyak atsiri dengan kromatografi kolom dan analisis komponen dengan GC-MS.

Preparasi dan Identifikasi Bahan Tanaman (Muchtari *et al.* 2004)

Sampel daun sirih merah yang digunakan adalah sampel sirih merah segar dari BALITRO Bogor. Bahan tanaman yang akan diteliti diambil bagian ranting, daun, dan akar. Selanjutnya spesimen ini diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Bogoriense LIPI Cibinong Bogor. Sampel ditentukan kadar air dan kadar abunya. Setelah itu, bahan sampel basah didestilasi dengan distilator air.

Isolasi Minyak Atsiri dengan Destilasi Air (Anggraeni 2010)

Bahan daun segar yang telah diiris halus ditimbang sebanyak 250 g dan ditambahkan 1250 mL akuades (perbandingan sampel : akuades; 1 : 5) kemudian didestilasi selama 3 jam dengan distilator air, pada suhu berkisar antara 95-105°C. Distilat minyak atsiri yang diperoleh disimpan di dalam refrigerator, diuji KLT untuk mencari eluen terbaik dan diidentifikasi dengan GC-MS

Fraksinasi Minyak atsiri dengan Kromatografi Kolom

Fraksinasi dilakukan setelah penentuan eluen terbaik dengan menggunakan KLT. Setelah diperoleh eluen terbaik, selanjutnya dilakukan pemisahan minyak atsiri secara bertahap. Sebanyak 2.24 gram ekstrak minyak atsiri, difraksinasi dengan kromatografi kolom dengan menggunakan metode elusi gradien (heksana-kloroform-metanol). Setiap eluat ditampung dalam tabung reaksi dengan volume masing-masing 3 mL dan diuji dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen terbaik hasil penentuan dengan KLT yaitu heksana : kloroform, 7:3. Eluat dengan pola spot yang sama digabungkan menjadi satu fraksi. Fraksi 1 dan 2 diidentifikasi dengan GC-MS.

Analisis Komponen minyak atsiri dengan GC-MS

Identifikasi kandungan senyawa-senyawa yang terdapat dalam distilat kasar, fraksi 1 dan fraksi 2 dari minyak atsiri sirih merah dilakukan dengan instrumen GC-MS menggunakan kolom kapiler HP WAX dimensi 25 m x 0.25 mm, dengan kondisi laju alir 0.6 µl/menit, gas pembawa Helium, suhu injektor 250°C, suhu interface 280°C, program suhu 60°C selama 1 menit, kemudian suhu ditingkatkan 150°C selama 2 menit dan terakhir laju ditingkatkan 15°C/menit hingga 240°C selama 20 menit, kondisi spektrofotometer massanya adalah energi ionisasi 70 eV, metode ionisasinya adalah *Electron Impact*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, isolasi minyak atsiri dari daun segar sirih merah dilakukan dengan menggunakan destilasi air pada suhu 95-105°C. Pada metode destilasi ini, bahan yang akan disuling

berkontak langsung dengan air yang mendidih dan uap air akan membawa komponen minyak atsiri keluar melalui kondensor dan menetes dalam alat pemisah. Alat destilasi air ini bekerja dengan proses *hidrodifusi* sehingga agar lebih efektif bahan yang akan disuling harus dirajang terlebih dahulu.



Gambar 2 Minyak atsiri daun sirih merah

Minyak atsiri yang dihasilkan pada penelitian ini berwarna sedikit kuning hingga tidak berwarna (Gambar 2). Rendemen minyak atsiri yang diperoleh adalah 0.24% (v/b) berdasarkan bobot basah dengan bobot jenis 0.78 g/ml. Hasil penelitian ini tidak jauh

berbeda dengan penelitian yang dilaporkan Batubara *et al.* (2011) yang menyebutkan bahwa sirih merah mengandung 0.21% minyak atsiri berdasarkan bobot basah.

Fraksinasi minyak atsiri sirih merah pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Fase diamnya adalah silika G₆₀F₂₅₄ dan proses elusinya dilakukan secara gradien (peningkatan kepolaran) dengan eluen n-heksana, kloroform dan metanol. Eluen terbaik yang digunakan untuk pemisahan fraksi-fraksi pada penelitian ini adalah n-heksana:kloroform (7:3) karena menghasilkan jumlah noda terbanyak yaitu 7 noda dan terpisah. Pemilihan eluen terbaik berdasarkan pengembangan informasi dari Harborne (1987) bahwa eluen yang umum digunakan dalam pemisahan minyak atsiri adalah campuran n-heksana : kloroform (3:2), kloroform : metanol (99:1) atau dietileter : kloroform: etil asetat (2:2:1). Data hasil fraksinasi minyak atsiri sirih merah pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil fraksinasi minyak atsiri sirih merah dengan kromatografi kolom (elusi gradien)

Jenis eluen	Fraksi ke	Bobot (g)	Jumlah noda	Rendemen(%)
H	1	1.165	2	52.00
C:H	2	0.195	2	8.71
C	3	0.234	3	10.45
M	4	0.204	1	9.12

H = n-heksana; C:H = kloroform:n-heksana; C = kloroform; M = metanol

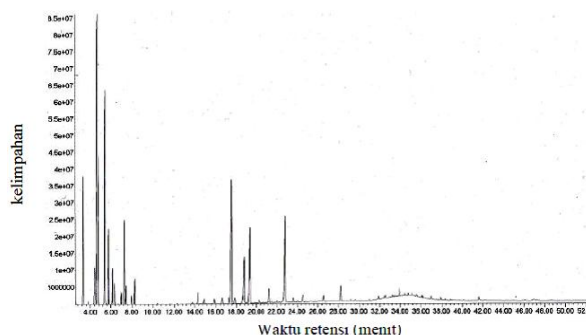
Fraksi dengan rendemen terbanyak (fraksi 1) dan fraksi dengan jumlah rendemen paling sedikit (fraksi 2) bersama distilat kasar dari minyak atsiri sirih merah kemudian diidentifikasi komponen senyawa kimianya dengan menggunakan GC-MS dan diuji aktivitasnya secara *in vivo*. Pemilihan fraksi 1 dan 2 didasarkan kepada rendemen dan aroma yang terbentuk. Fraksi 1 memiliki rendemen terbanyak dan aroma yang khas, sedangkan fraksi 2 meskipun memiliki rendemen yang paling sedikit tetapi aroma

yang dihasilkan lebih wangi dan tajam dibandingkan fraksi 3 dan fraksi 4.

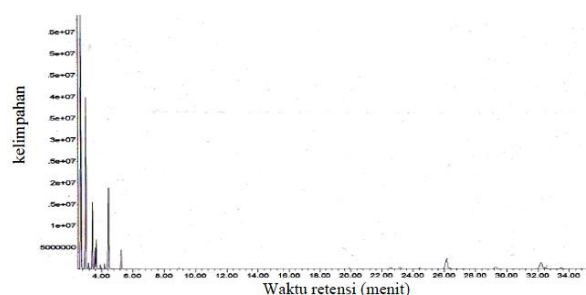
Identifikasi kandungan senyawa-senyawa yang terdapat dalam distilat kasar, fraksi 1 dan fraksi 2 dari minyak atsiri sirih merah dilakukan dengan instrumen GC-MS. Kromatogram ion total dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam distilat kasar, fraksi 1 dan fraksi 2 dapat dilihat pada Gambar 3,4,5. Perbedaan senyawa-senyawa yang terkandung dalam distilat kasar, fraksi 1 dan fraksi 2 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan kandungan senyawa dalam destilat kasar, fraksi 1, dan fraksi 2 minyak atsiri sirih merah berdasarkan hasil analisis GC-MS

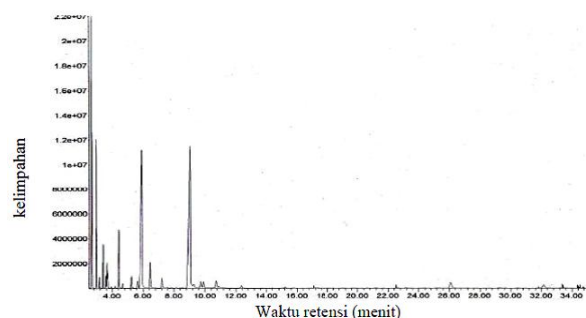
Golongan	Nama senyawa	Rendemen (%)		
		Distilat kasar	Fraksi 1	Fraksi 2
Monoterpena	Alpha tuhyena	2.83	-	-
	Beta pinena	2.13	-	-
	Sabinena	36.64	38.27	13.2
	Beta mirsena	11.22	22.94	7.46
	Alpha terpinena	2.45	6.38	2.51
	Beta felandrena	-	2.93	1.54
	Gamma terpinena	3.44	11.4	4.30
	Alpha terpinolena	0.90	2.83	1.10
Monoterpena alcohol	Linalool	8.27	-	20.36
	4-terpineol	4.67	-	31.67
Sesquiterpena	Trans kariofilena	2.91	4.48	1.48
	Germakrena D	5.6	3.18	-
	Alpha kopaena	0.22	0.42	-



Gambar 3. Kromatogram ion total hasil GC-MS destilat kasar



Gambar 4. Kromatogram ion total hasil GC-MS Fraksi 1

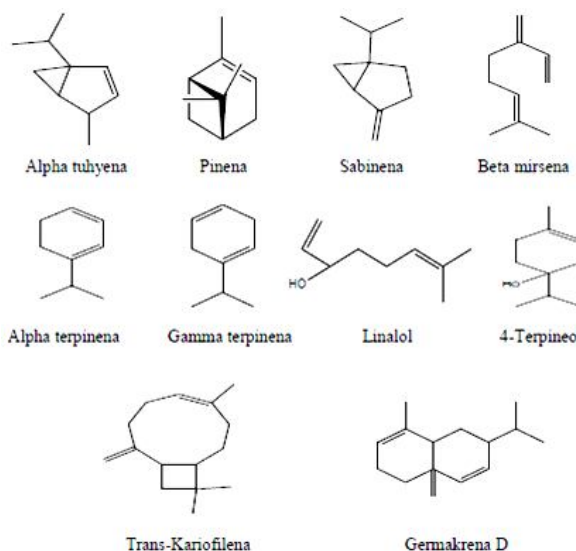


Gambar 5. Kromatogram ion total hasil GC-MS Fraksi 2

Berdasarkan komponen yang teridentifikasi, komponen minyak atsiri sirih merah terbagi menjadi 3 golongan terpena yaitu monoterpena, monoterpena alkohol dan sesquiterpena. Komponen yang termasuk golongan monoterpena adalah sabinena, beta mirsena, alpha tuhyena, beta pinena, alpha terpinena dan gamma terpinena. Sedangkan yang termasuk ke dalam golongan monoterpena alkohol adalah linalol dan 4-terpineol dan yang termasuk golongan sesquiterpena adalah trans-kariofilena, alpha kopaena dan germakrena D (Gambar 6).

Perbedaan komponen yang terdapat pada fraksi 1 dan fraksi 2 terletak pada adanya komponen monoterpena alkohol seperti linalool dan 4-terpineol pada fraksi 2, dan tidak adanya alpha kopaena dan germakrena D. Hasil analisis komponen ekstrak minyak atsiri ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Nurhidayati, *At all* (2012) pada analisis komponen ekstrak minyak atsiri sirih merah

menemukan adanya komponen eugenol (10,11%). Perbedaan ini bisa disebabkan karena adanya pengambilan sampel ditempat yg berbeda karena tempat tumbuhnya tanaman berpengaruh pada kandungan komponen pada tanaman.



Gambar 6. Struktur senyawa-senyawa utama dalam minyak atsiri sirih merah

KESIMPULAN

Isolasi minyak atsiri daun sirih merah dengan destilasi air menghasilkan rendemen 0.24% dengan bobot jenis 0.78 g/ml. Fraksinasi minyak atsiri daun sirih merah dilakukan dengan elusi gradien (n-heksana, kloroform, metanol) menggunakan kromatografi kolom silika dan pengelompokan fraksi dengan KLT menggunakan eluen terbaik n-heksana: kloroform (7:3) menghasilkan 4 fraksi. Minyak atsiri sirih merah mengandung senyawa golongan monoterpena, monoterpena alkohol dan sesquiterpena.

DAFTAR PUSTAKA

Anggraeni A. 2010. *Fraksinasi Senyawa Aktif Minyak Atsiri Temulawak sebagai Pelangsing Aromaterapi secara In vivo*. Skripsi: Bogor. Departemen Kimia. Institut Pertanian Bogor.

Batubara I, Rahminiwati M, Darusman LK, Mitsunaga T. 2011. Tyrosinase Activity of *Piper betle* and *Piper crocatum* Essential Oil. *Proceeding of International Conference on Basic Science*. Malang : Faculty of Science, University of Brawijaya. 50-53.

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-2. Padmawinata dan Sudiro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Terjemahan dari: *Phytochemical Method*. Hlm 137-139.
- Juliantina R F, Ayu Citra , Nirwani B, Nurmasitoh T, Tri Bowo E. 2009. Manfaat Sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal kedokteran dan Kesehatan Indonesia* 1(1).
- Ngaisah S. 2007. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (piper crocatum ruiz & pav.)* Asal Magelang. Abstract. Departemen Kimia. UNS.
- Manoi, F. 2007, *Sirih Merah Sebagai Tanaman Multi Fungsi*, Warta Puslitbangun Vol.13 (2).
- Nuhidayati L, Desmiati Y, Mariani S. 2012. Penetapan Kadar Eugenol dalam Minyak Atsiri dari Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile Benth.*) dan sirih hijau (*Piper Betle L.*) secara Kromatografi Gas. Seminar Nasional POKJANAS TOI XLII, 15-16 Mei 2012.
- Safithri M, Fahma F. 2008. Potency of *Piper crocatum* Decoction as an Antihyperglycemia in Rat Strain Sprague dawley. *Hay J Bio* 15(1): 45-48
- Sangat H, Roematyo. 1996. Aromatherapy Plants: A Etnopharmacology Study. *Proc Sim Nas I Tumbuhan Aromatik APINMAP*; 22-23 Oktober 1996.
- Sulistiyani N, Sasongko H, Hertanti M, Meilana L. 2007. Aktivitas Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia colid* dan *Candida albicans*serta Identifikasi Komponen Kimianya. *Med Far*. Vol 6 (2):33 – 39.
- Sumarni, Nunung BA, Solekan. 2010. Pengaruh Volume Air dan Berat Bahan pada Penyulingan Minyak Atsiri. *Institut Sains dan Teknologi AKPRIND*. Yogyakarta
- Wicaksono BD, Handoko YA, Arung ET, Kusuma IW, Yulia D, Pancaputra AN, Sandriansyah F. 2009. Antiproliferative Effect of the Methanol Extract of *Piper crocatum* Ruiz & Pav leaves on Human Breast (T47D) Cell In-vitro. *Trop J of Pharm Res* 8(4):345-352.