

**STUDI KOMPARATIF KOMPONEN KIMIA PENYUSUN
MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz
& Pav.), SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.), LADA (*Piper nigrum* L.)
dan KEMUKUS (*Piper cubeba* L.)**



Disusun Oleh :

ELIZA NUR SETYOWATI

M0304037

SKRIPSI

**Ditulis dan diajukan untuk memenuhi sebagian
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

SURAKARTA

commit to user
2009

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini dibimbing oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Soerya Dewi Marliyana, M.Si.
NIP. 19690313 199702 2001

Saptono Hadi, MS.i, Apt.
NIP. 19760403 200501 1001

Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 18 Agustus 2009

Anggota tim Penguji :

1. Muh. Widyono Wartono, M.Si
NIP. 19760822 200501 1001

1.

2. IF Nurcahyo, M.Si
NIP. 19780617 200501 1001

2.

Disahkan oleh :

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret Surakarta

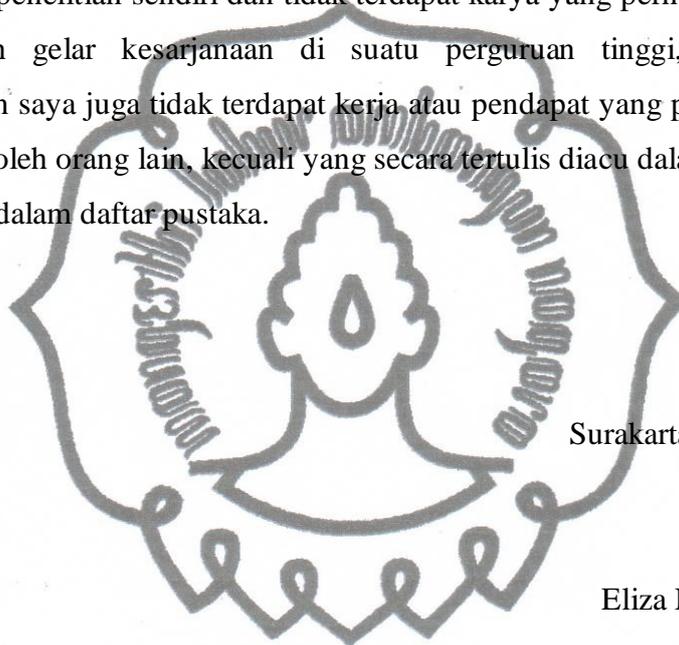
Ketua Jurusan Kimia

Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, PhD
NIP. 19560507 198601 1001

commit to user

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul “STUDI KOMPARATIF KOMPONEN KIMIA PENYUSUN MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.), LADA (*Piper nigrum* L.) dan KEMUKUS (*Piper cubeba* L.)” adalah benar – benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, Agustus 2009

Eliza Nur Setyowati

ABSTRAK

Eliza Nur Setyowati. 2009. Studi Komparatif Komponen Kimia Penyusun Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), Sirih Hijau (*Piper betle* L), Lada (*Piper nigrum* L) dan Kemukus (*Piper cubeba* L). Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret.

Spesies dari famili Piperaceae telah lama digunakan sebagai rempah-rempah, bumbu penyedap dan bahan obat-obatan. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi kimia komponen minyak atsiri dari daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav, dan dibandingkan dengan *Piper betle* L, *Piper nigrum* L dan *Piper cubeba* L yang bersumber dari literatur.

Isolasi minyak atsiri daun *Piper crocatum* dengan cara destilasi air menggunakan destilasi stahl diperoleh kadar minyak atsiri 0,27% (v/b), dan dianalisis dengan KLT dan GC-MS. Hasil analisis KLT menunjukkan adanya golongan senyawa monoterpena, terpena alkohol, dan hidrokarbon seskuiterpena dalam minyak atsiri tersebut. Hasil analisis GC-MS menunjukkan 29 senyawa penyusun minyak atsiri terdeteksi, dengan senyawa utamanya adalah sabinena (44,91%) dan β -mirsen (18,88%). Hasil studi komparatif menunjukkan adanya perbedaan jenis senyawa penyusun minyak atsiri secara kualitatif dan kuantitatif pada keempat spesies Piperaceae tersebut. Komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*), lada (*Piper nigrum*), dan kemukus (*Piper cubeba*) kaya akan senyawa turunan terpena yang terdiri dari golongan monoterpena dan seskuiterpena. Sedangkan pada daun sirih hijau (*Piper betle*) lebih didominasi oleh turunan senyawa fenilpropanoid. Hubungan kekerabatan ditandai oleh senyawa β -pinena dan limonen (monoterpena), serta senyawa kariofilen (seskuiterpena) yang terdapat dalam setiap spesies pada familia Piperaceae tersebut.

Kata kunci: Piperaceae, komparatif, minyak atsiri, *Piper crocatum* Ruiz & Pav, *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, *Piper cubeba* L.

ABSTRACT

Eliza Nur Setyowati. 2009. Comparative Study of Essential Oils Composition of The Leaves from *Piper crocatum* Ruiz & Pav, *Piper betle* L, *Piper nigrum* L and *Piper cubeba* L. Thesis. Department of Chemistry. Mathematics and Natural Sciences Faculty. Sebelas Maret University.

Species of Piperaceae family had been used long time ago as spices, flavoring agents, and medicinal substances. This study was conducted to find out the chemical composition of the essential oils of the leaves from *Piper crocatum* Ruiz & Pav, and compared with *Piper betle* L, *Piper nigrum* L and *Piper cubeba* L from the literature.

The essential oils of *Piper crocatum* were obtained by hydrodistillation with Stahl distillation method (yield 0.27% v/w) and analyzed by TLC and GC-MS. The TLC showed the presence of monoterpene, terpene alcohol and sesquiterpene hydrocarbons in the essential oils. The GC-MS analysis of the essential oils detected twenty nine components. The major components were sabinene (44.91%) and β -myrcene (18.88%). The result of comparative study showed the differences of qualitative and quantitative chemical profile between these essential oils compounds. The oil from the leaves of *Piper crocatum*, *Piper nigrum* and *Piper cubeba* contained mostly terpenoid compounds that consist of monoterpene and sesquiterpene, while *Piper betle* was largely composed by phenylpropanoid compounds. The relationships of these species marked by the presence of β -pinene, limonene (monoterpene), and caryophyllene (sesquiterpene) in all of them.

Key words: Piperaceae, comparative, essential oils, *Piper crocatum* Ruiz & Pav, *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, *Piper cubeba* L.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan
sungguh – sungguh urusan yang lain”

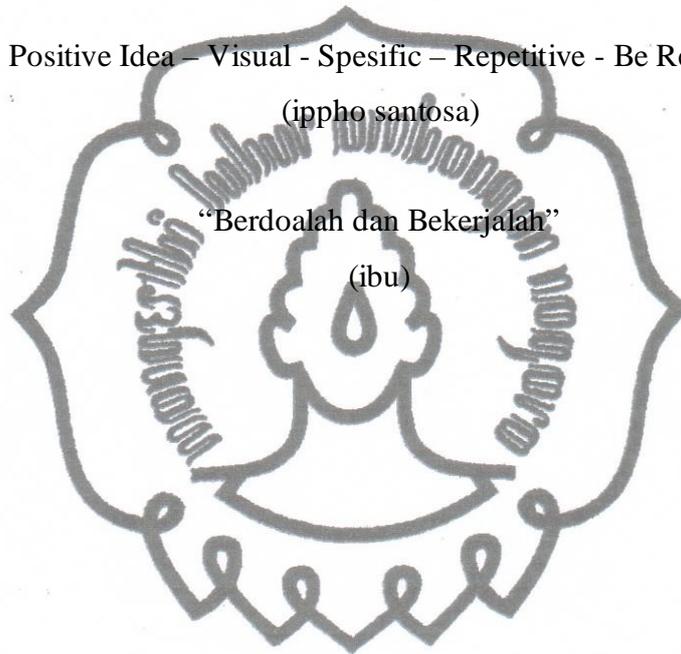
(Q.S. Al-Insyirah : 6-7)

Positive Idea – Visual - Spesific – Repetitive - Be Reality

(ippho santosa)

“Berdoalah dan Bekerjalah”

(ibu)



commit to user

PERSEMBAHAN



Kepada:

EygKung (Alm) & EygUti tercinta, maaf terlambat.

Bapak dan Ibu yang tiada lelah mencurahkan kasih sayangnya,

Kedua adikku Adrian & Fitriani, ayooo semangat!

Sahabat-sahabatku seperjuangan, everything is gonna be OK!

Pembaca skripsi ini.

commit to user

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunianNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Studi Komparatif Komponen Kimia Penyusun Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), Sirih Hijau (*Piper betle* L.), Lada (*Piper nigrum* L.) dan Kemukus (*Piper cubeba* L.)”. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Kimia Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Shalawat dan salam senantiasa penulis haturkan kepada Rasulullah SAW sebagai pembimbing seluruh umat manusia.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih setulus-tulusnya atas segala dukungan, bantuan, dan bimbingan dari beberapa pihak selama proses studi dan juga selama proses penyusunan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Drs. Sutarno. Msc. Phd. selaku Dekan FMIPA UNS.
2. Bapak Drs. Sentot Budi Rahardjo. Phd. selaku Ketua Jurusan Kimia.
3. Ibu Soerya Dewi Marliyana, M.Si dan Bapak Saptono Hadi, M.Si., Apt Selaku Dosen Pembimbing, yang selalu sabar, memberikan arahan dan motivasi dalam membimbing menyelesaikan skripsi.
4. Bapak Achmad Ainurofiq, M.Si., Apt. selaku Pembimbing Akademik.
5. Bapak, Ibu Dosen F MIPA UNS atas semua ilmu yang berguna dalam penyusunan skripsi ini dan para laboran di Laboratorium Kimia FMIPA UNS dan Laboratodium Kimia Organik FMIPA UGM atas bantuan dan kerjasama dengan baik
6. Ayah dan Ibu tercinta, adik-adikku, terima kasih atas semua kasih sayang, dorongan, doa dan *support*-nya.
7. Aji yang telah memberikan tempat bertukar pikiran, semangat, segala bantuan, dan dukungan selama ini.
8. Pak.Edi, NH, Isah, mbak Shelly, Camelia, Maratus, Indah, Wiwit, Tita, Dwi, ADE, Ijal, Anto, Lanjar, pkD, ce 9+, dan teman-teman kimia semua.

9. Semua Pihak yang telah membantu penulisan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu, terima kasih. Semoga Allah SWT berkenan memberikan balasan yang lebih baik atas pengorbanan yang diberikan.Amin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi yang membacanya.



Surakarta, Agustus 2009

Eliza Nur Setyowati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang masalah	1
B. Perumusan masalah	3
1. Identifikasi masalah	3
2. Batasan masalah	5
3. Rumusan masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan pustaka	6
1. Tanaman Sirih Merah.....	6
2. Piperaceae.....	7
a. <i>Piper betle</i> L.....	8
b. <i>Piper nigrum</i> L.....	9
c. <i>Piper cubeba</i> L.....	11
3. Minyak atsiri <i>commit to user</i>	13

a. Biosintesis jalur asam mevalonat	14
b. Biosintesis jalur asam sikimat	17
4. Isolasi Minyak Atsiri	18
5. Kromatografi Lapis Tipis.....	19
6. Kromatografi Gas- Spektrometer Massa	21
B. Kerangka Pemikiran	24
C. Hipotesis	25
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	26
A. Metode Penelitian	26
B. Waktu dan tempat penelitian	26
C. Alat dan bahan	26
1. Alat	26
2. Bahan	27
D. Prosedur penelitian	27
1. Identifikasi dan determinasi awal	27
2. Persiapan sampel.....	27
3. Isolasi minyak atsiri	27
4. Analisis KLT.....	28
5. Analisis GC-MS.....	28
6. Data Perbandingan.....	28
E. Teknik pengumpulan dan Analisis Data	29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Determinasi bahan awal	30
B. Persiapan sampel	30
C. Isolasi minyak atsiri	30
D. Hasil Analisis KLT.....	31
E. Hasil Analisis GC-MS.....	34
F. Biosintesis Senyawa Minyak Atsiri Daun Sirih Merah.....	39
1. Biosintesis Senyawa Monoterpena.....	40
2. Biosintesis Senyawa Golongan Sesquiterpena.....	41
G. Perbandingan Komposisi Kimia Minyak Atsiri.....	42

BAB V. PENUTUP 47
 A. Kesimpulan47
 B. Saran 48
DAFTAR PUSTAKA49
LAMPIRAN51



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Minyak Atsiri Daun <i>Piper betle</i>	9
Tabel 2. Komposisi Minyak Atsiri Daun <i>Piper nigrum</i> L.....	10
Tabel 3. Komposisi Minyak Atsiri Daun <i>Piper Cubeba</i> L.....	12
Tabel 4. Hasil analisis KLT minyak atsiri daun sirih merah.....	33
Tabel 5. Data 16 komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah.....	36
Tabel 6. Perbandingan komposisi senyawa kimia penyusun minyak atsiri dari daun <i>Piper crocatum</i> , <i>Piper betel</i> , <i>Piper nigrum</i> , dan <i>Piper cubeba</i>	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. (a) Tanaman sirih merah.....	6
(b) Permukaan daun bagian atas dan bawah.....	6
Gambar 2. Daun <i>Piper betle</i> L.....	8
Gambar 3. Daun <i>Piper ningrum</i> L.....	9
Gambar 4. Daun <i>Piper cubeba</i> L.....	11
Gambar 5. Mekanisme biosintesis senyawa terpen melalui jalur mevalonat.....	14
Gambar 6. Mekanisme perubahan GPP menjadi kation α -terpinil dan turunannya.....	15
Gambar 7. Perubahan kation farnesil menjadi turunannya.....	16
Gambar 8. Jalur biosintesis senyawa fenilpropanoid.....	17
Gambar 9. Skema alat GC-MS.....	23
Gambar 10. Kromatogram KLT sampel minyak atsiri daun sirih merah.....	32
Gambar 11. Kromatogram GC-MS minyak atsiri daun sirih merah.....	35
Gambar 12. Struktur senyawa monoterpena minyak atsiri daun sirih merah.....	37
Gambar 13. Struktur senyawa seskuiterpena minyak atsiri daun sirih merah.....	38
Gambar 14. a. Spektrum Massa Senyawa IV.....	38
b. Spektrum Massa Senyawa Sabinena.....	39
Gambar 15. Biosintesis Senyawa Golongan Monoterpena.....	40
Gambar 16. Biosintesis Senyawa Golongan Seskuiterpena.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman sirih merah.....	51
Lampiran 2. Perhitungan kadar minyak atsiri hasil destilasi.....	52
Lampiran 3. Bagan alir penelitian.....	53
Lampiran 3. Perhitungan kadar minyak atsiri hasil destilasi.....	54
Lampiran 4. Data Kromatogram dan Spektra GC-MS	55



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia dikenal dengan keanekaragaman floranya yang berkhasiat dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat. Sejak zaman dahulu, masyarakat sudah mengenal dan memakai tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya penanggulangan kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman obat perlu dikembangkan, yakni informasi ilmiah melalui penelitian untuk dioptimalkan pemanfaatannya.

Salah satu tanaman obat yang telah banyak dikenal adalah dari familia Piperaceae. Spesies dari Piperaceae, seperti *Piper betle* L (sirih hijau), *Piper nigrum* L (lada), dan *Piper cubeba* L (kemukus), telah dimanfaatkan sejak lama dalam bahan ramuan obat tradisional dan rempah-rempah. Karakter kimia spesies *Piper* yang cukup menonjol adalah adanya senyawa minyak atsiri yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat, rempah-rempah, dan bumbu dapur. Minyak atsiri disebut juga minyak esensial karena memiliki bau spesifik yang khas dari setiap tanaman asalnya. Komposisi atau kandungan masing-masing komponen kimia penyusun minyak atsiri adalah hal yang paling mendasar dalam menentukan aroma maupun kegunaannya (Agusta, 2000).

Piper betle L dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. Daunnya direbus dan dimanfaatkan dalam berbagai ramuan obat tradisional, antara lain dipergunakan untuk berkumur, membersihkan saluran pernafasan, menghentikan pendarahan, obat cacing, dan antiseptik pada luka. Rebusan daun sirih yang ditambah gula dapat dimanfaatkan sebagai obat batuk (Hariana, 2006). Telah dilaporkan bahwa minyak atsirinya mempunyai aktifitas yang kuat sebagai antibakteri dan antioksidan (Masniari, 2006; Oka *et.al.*, 2009). Senyawa kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper betle* antara lain kavibetol, kavibetol asetat, kariofilena, alipirokatekol diasetat, kamfena, metil eugenol, eugenol, pinena, limonen, dan safrol (Agnes *et.al.*, 1986).

commit to user

Piper nigrum L atau lebih dikenal dengan *black pepper*, adalah rempah-rempah yang paling populer diperdagangkan dan dimanfaatkan secara luas dalam bumbu masakan berbagai negara, memberikan efek yang dapat menghangatkan badan, menambah semangat, serta memiliki banyak khasiat diantaranya adalah untuk melancarkan menstruasi, meredakan serangan asma, meringankan gejala rematik, mengatasi perut kembung, serta menyembuhkan rasa sakit kepala (Heyne, 1987). Minyak atsiri dari daun *Piper nigrum* memiliki efek insektisida yang kuat, kaya akan senyawa limonena, elemen, kariofilen, α -farnesen, dan epi α -bisabolol (Tchoumboungang *et.al.*, 2009).

Piper cubeba L atau tanaman kemukus adalah tanaman yang dibudidayakan untuk diambil buah dan minyak atsirinya. Buah kemukus kering digunakan sebagai bumbu rempah dalam masakan Indonesia, selain itu juga digunakan sebagai penguat rasa pada rokok. Secara tradisional, buah kemukus digunakan sebagai peluruh air seni, peluruh angin perut, pencegah mual, dan mengobati asma (Heyne, 1897). *Cubeba oil* memiliki aktivitas antitumor, antileukemia dan antibiotik. Minyak atsiri daun *Piper cubeba*, terdiri dari senyawa utama α -pinena, sabinena, β -pinena, limonena, kariofilen, epi-kubebol, γ -kadinen, dan kubebol (Elfahmi *et.al.*, 2006).

Salah satu tanaman obat Indonesia yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). Sirih merah yang dikenal sebagai tanaman hias yang eksotis, ternyata bermanfaat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Sirih merah dapat dipakai untuk mengobati diabetes, hipertensi, kanker, peradangan, hepatitis, ambeien, asam urat, maag, dan lain-lain. Pemanfaatan sirih merah dilakukan dengan cara mengkonsumsi daunnya, atau diekstrak terlebih dahulu untuk mengambil bahan aktif (Sudewo, 2005).

Skrining fitokimia terhadap daun sirih merah menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri (Hariana, 2006). Minyak atsiri daun sirih merah diperkirakan mengandung bermacam-macam senyawa kimia yang berguna bagi kesehatan. Penelusuran literatur yang dilakukan menunjukkan bahwa belum ditemukan penelitian yang menyatakan tentang kandungan kimia minyak atsiri daun sirih merah, sehingga penelitian ini dilakukan untuk melakukan identifikasi

komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), dan membandingkannya dengan komposisi kimia minyak atsiri dari daun sirih hijau (*Piper betle* L.), lada (*Piper nigrum* L.) dan kemukus (*Piper cubeba* L.) yang bersumber dari literatur, untuk melihat profile komponen penyusun minyak atsiri berdasarkan hubungan kekerabatan familia Piperaceae.

B. Perumusan Masalah

1. Identifikasi Masalah

Komposisi kimia minyak atsiri dari daun *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L telah diteliti dan dituliskan pada beberapa jurnal penelitian, akan tetapi berdasarkan penelusuran literatur, laporan penelitian komposisi kimia minyak atsiri dari daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav belum ditemukan.

Kandungan dan komposisi kimia minyak atsiri pada umumnya bervariasi, yang antara lain disebabkan oleh perbedaan spesies, tempat hidup, serta bagian jaringan tanaman yang diisolasi. Fisiologi tanaman sirih merah terdiri dari akar, batang dan daun yang masing-masing mempunyai konsentrasi kandungan kimia yang berbeda pada tiap bagiannya.

Isolasi minyak atsiri dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan metode ekstraksi dan destilasi. Metode destilasi dapat dilakukan dengan destilasi air, destilasi uap, dan destilasi uap dan air. Pemilihan metode isolasi minyak atsiri harus tepat dan disesuaikan dengan sampel bahan yang digunakan untuk memperoleh hasil minyak atsiri yang maksimal.

Minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal, tetapi tersusun dari berbagai macam komponen. Oleh karena itu diperlukan pemilihan metode yang tepat dalam mengidentifikasi komponen minyak atsiri. Identifikasi komponen minyak atsiri dapat dilakukan dengan analisis data dari Spektrometer Infra Merah (*Infra Red*, IR), Resonansi Magnet Inti (*Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, NMR), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan Kromatografi Gas - Spektrometer Massa (*Gas Chromatography – Mass Spectrometry*, GC-MS).

2. Batasan Masalah

Pada isolasi dan identifikasi komponen kimia minyak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), masalah dibatasi pada:

- a. Data komponen kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L bersumber dari literatur.
- b. Daun sirih merah diperoleh dari Kecamatan Karanganyar, Kabupaten Karanganyar.
- c. Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan cara Destilasi Stahl.
- d. Identifikasi komponen kimia penyusun minyak atsiri dilakukan dengan analisis data dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Gas dan Spektrometer Massa (GC-MS)

3. Rumusan Masalah

Masalah utama yang diambil dalam penelitian ini adalah :

- a. Berapakah kadar minyak atsiri yang dihasilkan dari isolasi daun sirih merah.
- b. Komponen kimia apa saja yang teridentifikasi dalam minyak atsiri daun sirih merah secara KLT dan GC-MS.
- c. Bagaimanakah komposisi komponen kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav dengan dibandingkan dengan minyak atsiri daun *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L.

C. **Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui kadar minyak atsiri daun sirih merah.
- b. Mengidentifikasi komponen kimia minyak atsiri sirih merah dengan uji KLT dan menentukan struktur dengan analisis data dari GC-MS.
- c. Membandingkan komponen kimia penyusun minyak atsiri antara daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav dengan daun *Piper betle* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan, khususnya minyak atsiri daun sirih merah sebagai salah satu tanaman obat, dan dibandingkan dengan komponen kimia penyusun minyak atsiri daun *P. betle* L, *P. nigrum* L, dan *P. cubeba* L sehingga dapat mengetahui profile komponen penyusun minyak atsiri berdasarkan hubungan kekerabatan familia Piperaceae.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)

Tanaman sirih merah termasuk dalam famili Piperaceae. Tanaman sirih merah tumbuh menjalar. Batangnya bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, memiliki rasa yang sangat pahit. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Di setiap buku tumbuh bakal akar. Tanaman ini tumbuh subur dan bagus di daerah pegunungan. Bila tumbuh di daerah panas, sinar matahari langsung, batang akan cepat mengering dan warna merah daunnya akan memudar (Sudewo, 2005). Tanaman sirih merah dapat dilihat pada Gambar 1 berikut:



(a)



(b)

Keterangan: Gambar 1. (a.) Tanaman sirih merah,
(b.) Permukaan daun bagian atas dan bawah

commit to user

a) Klasifikasi Tanaman

Kedudukan tanaman sirih merah dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Magnolidae</i>
Ordo	: <i>Piperales</i>
Familia	: <i>Piperaceae</i>
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav

(<http://plantamor.com> diakses 25 Desember 2008)

b) Kandungan dan Manfaat Tanaman

Sirih merah mengandung saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Hariana, 2006). Efek zat aktif yang terkandung dalam daun sirih merah dapat merangsang saraf pusat dan daya pikir, juga memiliki efek anti kejang, antiseptik, analgetik, antiketombe, antidiabetes, hepatoprotektor, antidiare, meeningkatkan kekebalan tubuh, dan penghilang bengkak. Ekstrak daun sirih merah berkhasiat mengobati keputihan akut, dan gatal-gatal pada alat kelamin sekaligus pembersih luka. Secara empiris ekstrak daun sirih merah dalam pemakaian secara tunggal atau diformulasikan dengan tanaman obat lainnya mampu mengobati penyakit seperti diabetes melitus, kanker, leukemia, TBC, radang pada lever, ambeien, jantung koroner, darah tinggi, dan asam urat (Sudewo, 2005).

2. Piperaceae

Piperaceae adalah suku sirih-sirihan, salah satu suku anggota tumbuhan berbunga dan dikenal sebagai tanaman obat. Marga yang paling populer adalah Piper. Bunganya majemuk, tersusun dalam untaian. Buahnya kecil, kering, dan keras, tergolong buah batu. Minyak atsiri spesies Piper banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat, aromaterapi, rempah-rempah, dan bumbu dapur. Anggota Piper yang banyak dimanfaatkan di Indonesia antara lain sebagai berikut

a. Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sirih hijau hidup pada daerah tropika, ditemukan dibagian timur pantai Afrika, daerah sekitar sungai Indus ke timur menelusuri sungai Yang Tse Kiang, kepulauan Bonin, kepulauan Fiji dan kepulauan Indonesia. Sirih hijau juga tumbuh liar di hutan jati atau hutan hujan sampai ketinggian 300 m diatas permukaan laut. Bagian yang digunakan adalah daunnya. Daun sirih hijau sejak lama telah dikenal oleh nenek moyang kita sebagai daun multi khasiat (Heyne, 1987). Daun sirih hijau ditampilkan pada Gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Daun *Piper betle* L.

Daun sirih hijau dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, antara lain: batuk, demam, disentri, keputihan, sariawan, sakit gigi, sakit tenggorokan, wasir, borok (obat luar), gatal (obat luar), mimisan (obat luar), bau badan, bau mulut (obat kumur), reumatik (obat luar), radang mulut, sakit mata, eksim, menghilangkan jerawat, pendarahan gusi, hingga bronkhitis. Zat antiseptik di dalam sirih dapat digunakan sebagai obat kumur dan menjaga kesehatan alat kelamin wanita Selain untuk ramuan tradisional, daun sirih hijau di Pulau Jawa banyak dikonsumsi untuk nyirih atau ngingang (Hariana, 2006).

Komponen kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper betle* dari Filipina memiliki senyawa utama kavibetol dan kavibetol asetat (Agnes, et.al., 1986), dengan komposisi minyak atsiri dapat ditampilkan pada Tabel 1, sebagai berikut:

commit to user

Tabel 1. Komposisi Minyak Atsiri Daun *Piper betle*

Komponen	% Komposisi
Monoterpen	
α -Pinena	0,21
Kamfena	0,48
β -Pinena	0,21
d-Limonena	0,13
1,8-Sineol	0,03
p-Simen	0,08
Seskuiterpena	
Kariofilen	3,79
Aromatik	
Safrol	0,11
Metil-Kavibetol	0,72
Eugenol	0,42
Kavibetol	53,10
Kavibetol asetat	15,50
Alilpirokatekol diasetat	0,61

(Agnes, et.al., 1986)**b. Lada Hitam (*Piper nigrum*)**

Piper nigrum adalah jenis rempah-rempah yang paling populer yang berperan sangat penting dalam komponen masakan internasional. Memiliki banyak khasiat, diantaranya adalah untuk melancarkan menstruasi, meredakan serangan asma, meringankan gejala rematik, mengatasi perut kembung, serta menyembuhkan rasa sakit kepala (Heyne, 1987). Yang biasa dimanfaatkan adalah buahnya. Gambar daun *Piper nigrum* ditampilkan pada Gambar 3 sebagai berikut:

Gambar 3. Daun *Piper nigrum* L

Komposisi kimia minyak atsiri daun *Piper nigrum* dari Kamerun, memiliki senyawa utama limonen dan germakren B (Tchoumboungang *et.al.*, 2009), yang ditampilkan pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun *Piper nigrum*.

Komponen	% Komposisi
Monoterpena	
α -Tuyan	0,2
Sabinen	0,3
β -Pinen	1,1
Mirsen	0,2
α -Felandren	0,6
α -Terpinen	0,7
p-Simen	0,1
Limonen	10,3
β -Felandren	0,3
(E)- β -Osimen	0,5
γ -Terpinen	0,5
Linalool	5,3
Seskuiterpena	
δ -Elemen	8,8
α -Kubeben	3,0
α -Kopaen	0,7
β -Elemen	0,3
α -Gurujen	0,8
β -Kariofilen	4,1
β -Gurjunen	1,4
α -Bergamoten	0,1
α -Humulen	3,7
Aromadendren	0,5
Germakren D	2,7
α -Selinen	0,9
α -Kurkumen	1,4
(Z,E)- α -Farnesen	3,9
β -Bisabolen	1,0
δ -Kadinen	2,0
(E,E)- α -Farnesen	2,0
Germakren B	25,1
Elemol	0,1
(E)-Nerolidol	0,1
Spatulenol	2,0
Kariofilena oksida	2,2

Epi α -Bisabolol	4,5
Toreyol	0,4
γ -Eudesmol	0,5
α -Kadinol	2,7
Aromatik	
Miristisin	2,3

(Tchoumboungang *et.al.*, 2009)

Dari tabel di atas diketahui bahwa 98,4% dari total minyak atsiri daun *Piper nigrum* telah teridentifikasi dengan komponen utama penyusun minyak atsirinya adalah monoterpena dan seskuioterpena hidrokarbon. Dilaporkan bahwa, minyak atsiri daun *Piper nigrum* aktif sebagai insektisida yang kuat (Ravi Kant, 2007; Tchoumboungang, 2009)

c. Kemukus (*Piper cubeba* L.)

Kemukus (*Piper cubeba* L.) merupakan salah satu tanaman *Piper* potensial penghasil minyak atsiri. Tanaman ini tumbuh di Pulau Jawa, Sumatra, Kalimantan Selatan, dan di pulau kecil di Lautan India. Buah kemukus kering digunakan sebagai bumbu rempah dalam masakan, terutama masakan Indonesia. Kegunaan penting kemukus adalah sebagai bahan dan sumber minyak atsiri (*oleum cubebae*). Kegunaan lain adalah sebagai penguat rasa pada rokok (Gunawan, 2004). Daun *Piper cubeba* L dapat dilihat pada Gambar 4, berikut:



Gambar 4. Daun *Piper cubeba* L.

Epi-Kubebol	4,2	Guaiol	0,1
α -Murolen	1,2	Epi-Kubenol	0,7
β -Himakalen	0,1	τ -Kadinol	2,7
Z- α -Bisabolen	0,1	α -Epi-Muurolol	0,5
γ -Kadinen	16,6	δ -Kadinol	0,2
Kubebol	4,8	α -Kadinol	1,9
β -Salacoren	0,4	α -Bisabolol	0,2

(Elfahmi, *et.al.*, 2006)

3. Minyak atsiri

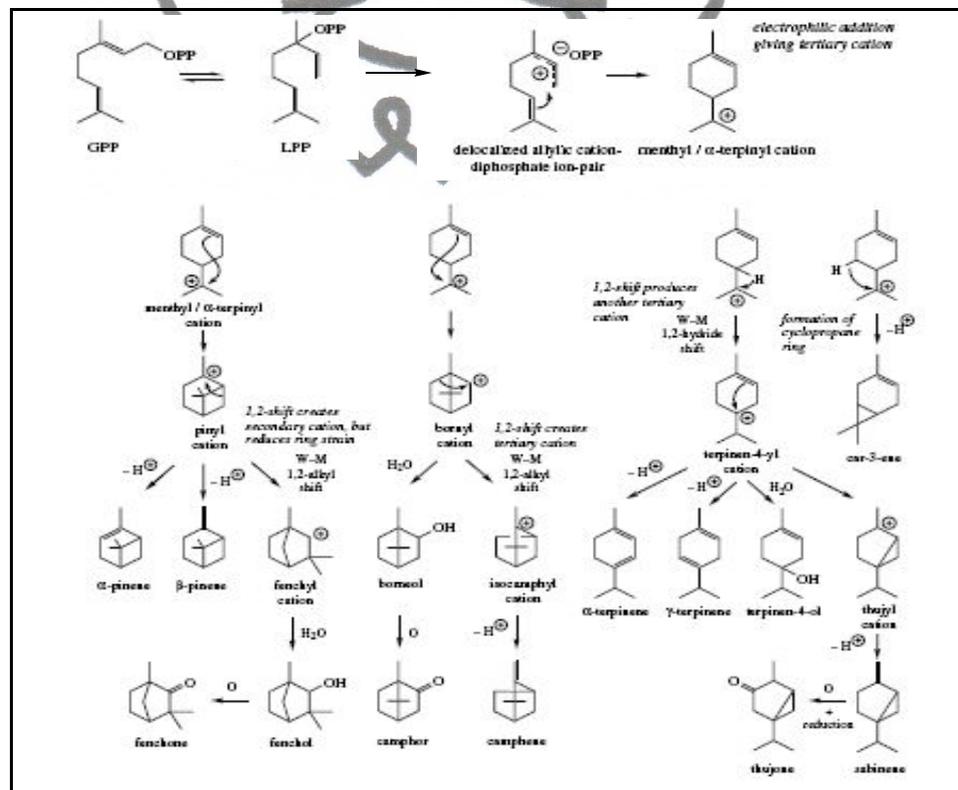
Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak atsiri disebut juga minyak menguap, karena pada suhu kamar mudah menguap di udara terbuka. Kegunaan minyak atsiri bagi tanaman sendiri adalah untuk menarik serangga yang membantu proses penyerbukan, sebagai cadangan makanan, dan mempengaruhi proses transpirasi (Gunawan, 2004).

Minyak atsiri banyak digunakan sebagai aromaterapi atau pengobatan dengan menggunakan wewangian dari sari tumbuhan untuk memulihkan keluhan fisik, mental maupun emosi. Dalam industri parfum dan kosmetik, minyak atsiri digunakan sebagai bahan pewangi, biasanya minyak tersebut diambil isolat maupun turunannya, sehingga aroma yang dihasilkan jauh lebih halus dibandingkan dengan langsung minyak mentahnya. Pada industri farmasi, minyak atsiri dimanfaatkan karena berkhasiat seperti karminatif, anestesi lokal, analgesik, dan lain-lain. Sedangkan dalam industri makanan dan minuman digunakan untuk memberikan rasa dan aroma yang khas (Yuliani, 2006).

Secara kimia, minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal, tetapi tersusun dari berbagai macam komponen yang secara garis besar terdiri dari kelompok terpenoid dan fenil propanoid. Penyusun minyak atsiri dari kelompok terpenoid terdiri dari monoterpena dan seskuiterpena, berupa isoprenid C₁₀ dan C₁₅ yang titik didihnya berbeda. Titik didih monoterpena 140-180 °C, titik didih seskuiterpena > 200 °C (Padmawinata, 1987). Golongan terpenoid dapat berupa terpen-terpen siklik maupun asiklik, masing-masing dapat memiliki percabangan, seperti: gugus ester, oksida, alkohol, aldehida, dan keton (Gunawan, 2004).

Biosintesis terpenoid dimulai dari asetil koenzim A yang berfungsi sebagai prekursor biogenetik pada terpena. Asetil koenzim A mengalami reaksi kondensasi Klaisen, yakni dua ekivalen pasangan asetil-koA bereaksi dengan asetil-koA ekivalen lain yang berperan sebagai nukleofil karbon akan membentuk β -hidroksi β - γ metil glutaril-KoA, selanjutnya melalui reaksi enzim dengan NADPH + H⁺, akan dihasilkan asam mevalonat, fosforilasi asam mevalonat dengan ATP akan membentuk asam mevalonat difosfat, dilanjutkan dengan dekarboksilasi dan dehidrasi membentuk isopentenilpirofosfat (IPP), kemudian isomerisasi akhir membentuk γ - γ dimetilalilpirofosfat. Kelompok gabungan elektrofilik alil γ - γ dimetilalilpirofosfat serta nukleofil dari kelompok metilen IPP akan menghasilkan geranylpirofosfat (GPP) yang merupakan senyawa prekursor pembentukan monoterpena. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama, menghasilkan farnesilpirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa prekursor bagi seskuiterpena (Dewick, 2002).

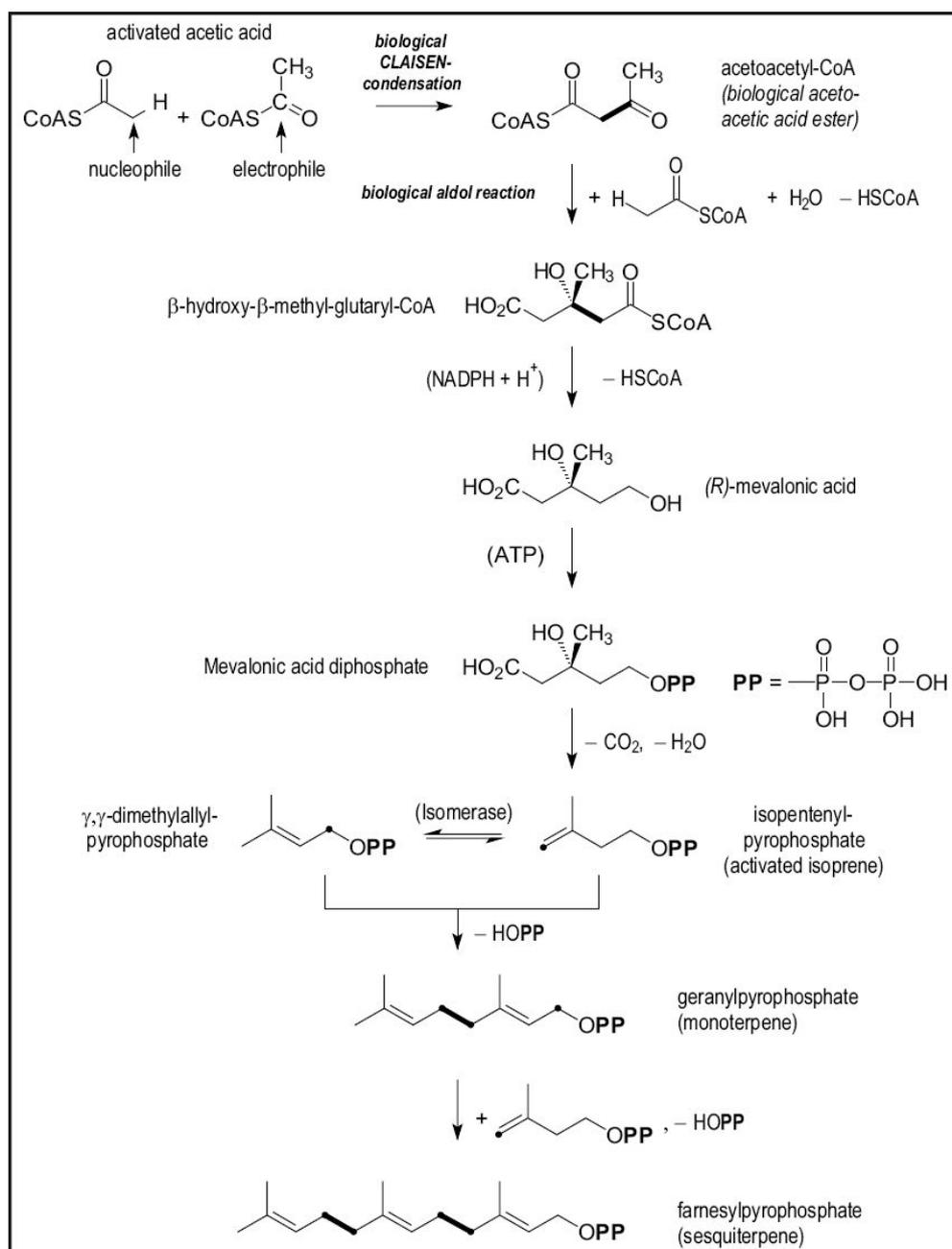
a. Biosintesis Monoterpena.



Gambar 6. Mekanisme perubahan GPP menjadi kation α -terpinil dan turunannya (Dewick, 2002)

Berdasarkan proses biosintesis, senyawa turunan terpena terbentuk dari asam asetat melalui jalur biosintesis asam-mevalonat, sedangkan senyawa aromatik fenil propanoid yang terbentuk dari asam amino aromatik melalui jalur biosintesis asam sikimat (Gunawan, 2004).

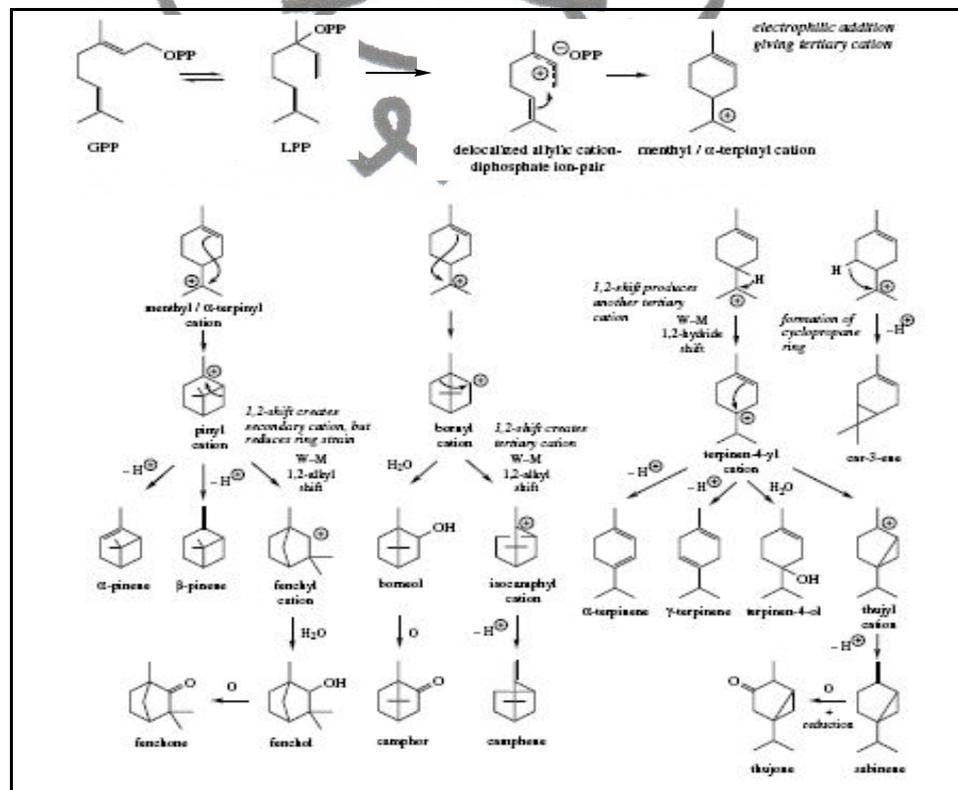
1. Mekanisme biosintesis senyawa terpena melalui jalur mevalonat, ditunjukkan pada Gambar 5, sebagai berikut:



Gambar 5. Mekanisme biosintesis senyawa terpen melalui jalur mevalonat (Breitmaier, 2006).

Biosintesis terpenoid dimulai dari asetil koA yang berfungsi sebagai prekursor biogenetik pada terpena. Asetil koenzim A mengalami reaksi kondensasi Klaisen, yakni dua ekivalen pasangan asetil-koA bereaksi dengan asetil-koA ekivalen lain yang berperan sebagai nukleofil karbon akan membentuk β -hidroksi β - γ metil glutaril-KoA, selanjutnya melalui reaksi enzim dengan NADPH + H⁺, akan dihasilkan asam mevalonat, fosforilasi asam mevalonat dengan ATP akan membentuk asam mevalonat difosfat, dilanjutkan dengan dekarboksilasi dan dehidrasi membentuk isopentilpirofosfat (IPP), isomerisasi akhir membentuk γ - γ dimetilalilpirofosfat. Kelompok gabungan elektrofilik alil γ - γ dimetilalilpirofosfat serta nukleofil dari kelompok metilen IPP akan menghasilkan geranylpirofosfat (GPP) yang merupakan senyawa prekursor pembentukan monoterpena. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama, menghasilkan farnesil pirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa prekursor bagi seskuiterpena (Dewick, 2002).

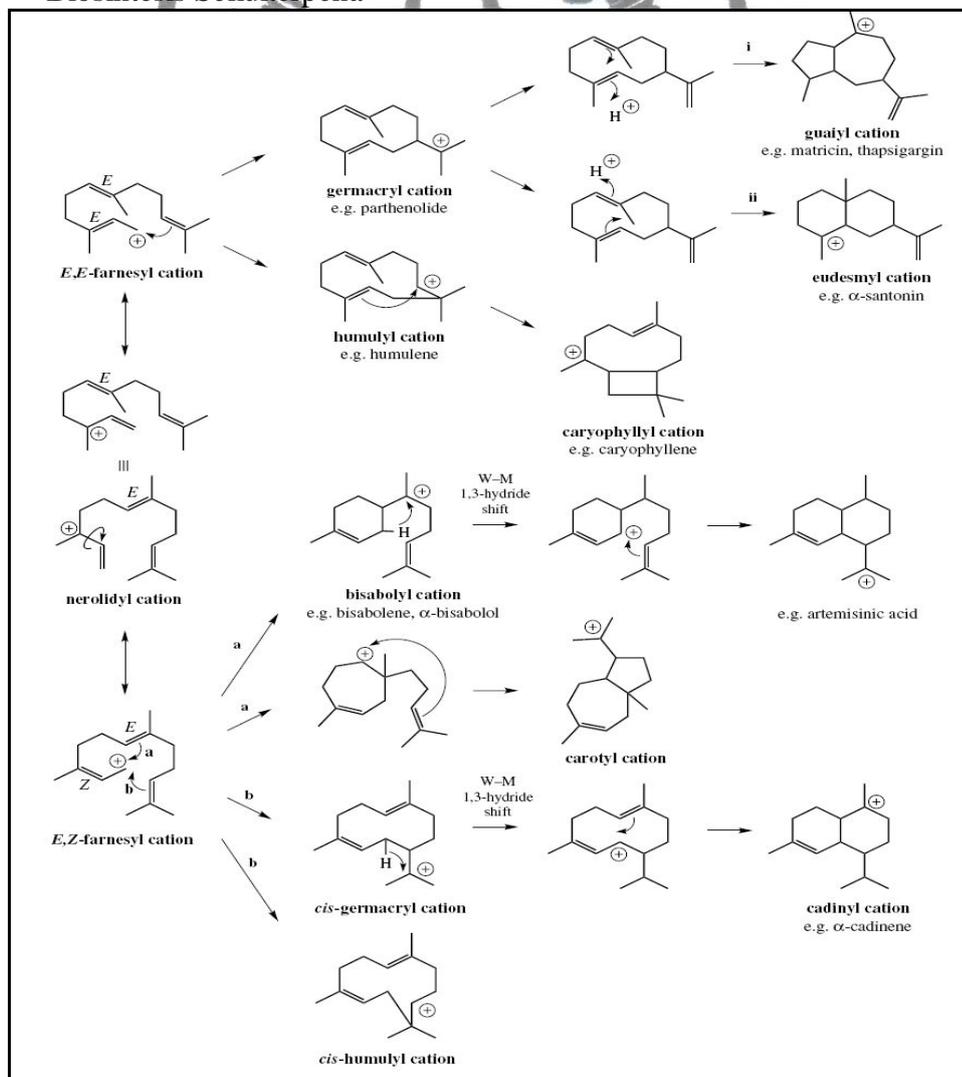
b. Biosintesis Monoterpena.



Gambar 6. Mekanisme perubahan GPP menjadi kation α -terpiil dan turunnnya (Dewick, 2002)

Monoterpena merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari dua satuan isoprena dan dengan rumus empiris $C_{10}H_{16}$. Monoterpena berasal dari GPP yang mengalami reaksi hidrolisis, isomerisasi, reduksi, oksidasi dan dehidrasi. Dari reaksi-reaksi tersebut tidak merubah jumlah atom karbonnya (Manitto, 1981). Kombinasi DMAPP dan IPP dengan enzim prenil transferasi menghasilkan GPP. Linalil PP (LPP) dan Neril PP (NPP) merupakan isomer dari GPP. LPP merupakan substrat terbaik, karena memiliki kemampuan berisomerisasi (Dewick, 2002). Dari LPP akan menghasilkan senyawa kation α -terpinyl, dan selanjutnya senyawa tersebut akan mengalami siklisasi menjadi turunan-turunannya, seperti pada Gambar 6 di atas.

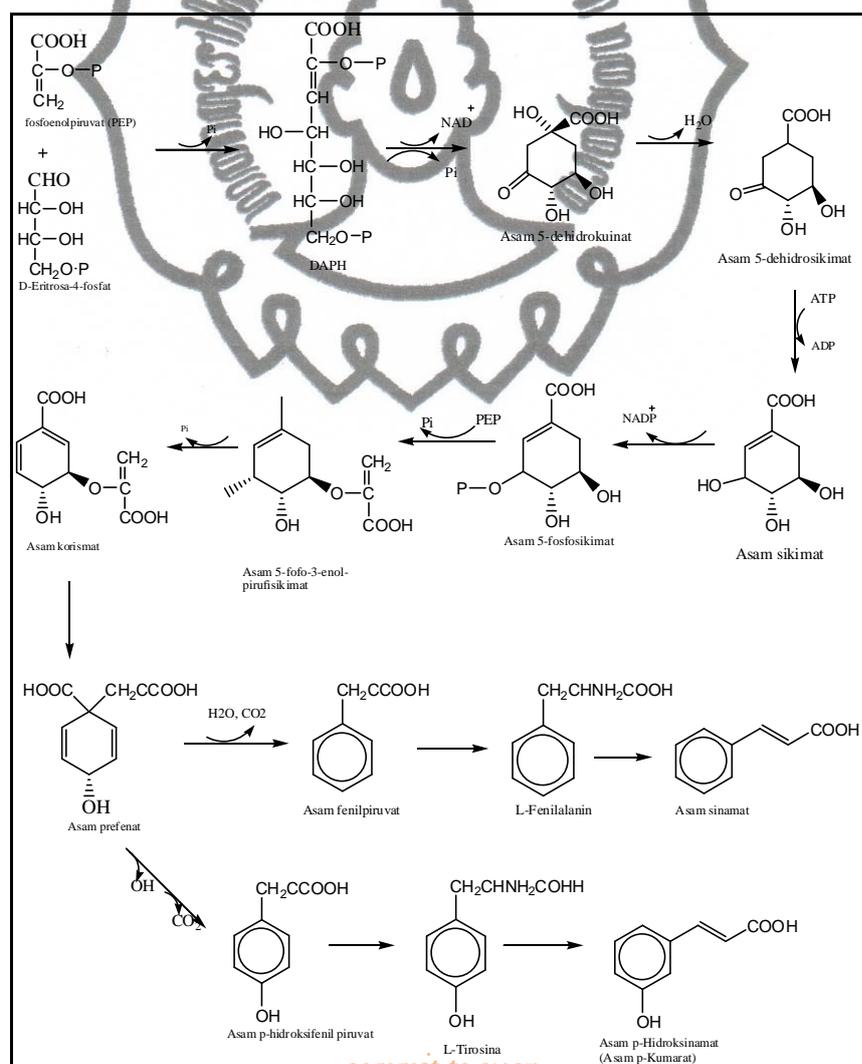
c. Biosintesis Sekuiterpena



Gambar 7. Perubahan farnesil kation menjadi turunannya (Dewick, 2002).

Seskuiterpen merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari tiga satuan isoprena dengan rumus $C_{15}H_{24}$. Senyawa seskuiterpena dapat dihasilkan melalui berbagai reaksi kimia, termasuk kation nonklasik, pengaturan kembali molekul, pergeseran ion hidrida atau gugus metil, adisi markov-nikov dan siklisasi. Gambar 4 di atas menunjukkan bahwa kerangka karbon dari seskuiterpena berasal dari trans-farnesilpirofosfat yang melalui mekanisme reversibel (Manito, 1981) dan cis-farnesilpirofosfat yang mengalami siklisasi serta penataan ulang (Dewick, 2002).

2. Senyawa golongan fenilpropanoid terbentuk dari asam amino melalui jalur biosintesis asam sikimat, ditunjukkan pada Gambar 8 berikut:



Gambar 8. Jalur biosintesis senyawa fenilpropanoid (Agusta, 2000).

Senyawa tipe fenil propanoid berasal dari asam amino aromatik fenilalanina dan tirosin, yang disintesis melalui jalur biosintesis asam sikimat, yang ditunjukkan pada Gambar 8. Pada jalur biosintesis tersebut, dua metabolit glukosa, eritrosa 4-fosfat dan fosfoenolpiruvat bereaksi dengan NADPH. Senyawa ini membentuk siklis asam 5-dehidrokuininat yang selanjutnya mengalami perubahan menjadi asam sikimat, fosforilasi oleh asam sikimat akan menghasilkan asam korismat, yang berperan penting sebagai titik pusat zat antara. Zat antara ini akan diubah menjadi asam prefeanat yang merupakan bagian non-aromatik

4. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan cara ekstraksi dengan pelarut organik dan destilasi. Umumnya dilakukan metode destilasi. Herba sebelum didestilasi perlu diperlakukan dengan cara tertentu, seperti perajangan, pelayuan atau pengeringan, dan penyimpanan. Perajangan bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri dalam herba saat destilasi berlangsung, karena minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, dan kantung minyak. Apabila dibiarkan utuh, minyak atsiri hanya dapat diekstrak bila uap air berhasil melalui jaringan tumbuhan dan mendesak ke permukaan dengan perlahan. Apabila bahan harus disimpan sebelum destilasi, maka penyimpanan dilakukan pada udara kering yang bersuhu rendah, dan udara tidak disirkulasikan sehingga dapat mengurangi penguapan minyak dari bahan (Ketaren^a, 1987).

Metode destilasi dapat dilakukan dengan menggunakan destilasi dengan air, destilasi dengan uap dan destilasi dengan uap dan air (Ketaren^a, 1987).

a). Destilasi air dan uap (*Water and Steam Distillation*)

Bahan diletakkan merata di atas saringan berlubang, ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air tidak berada jauh di bawah saringan. Penyulingan cara ini menghasilkan uap dalam keadaan jenuh dan basah, bahan yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap, tidak dengan air panas secara langsung.

b). Destilasi uap (*Steam Distillation*)

Metode ini pada prinsipnya sama dengan air dan uap kecuali air tidak diisikan dalam labu. Uap yang digunakan uap jenuh pada tekanan lebih dari 1 atmosfer. Uap dipisahkan melalui pipa uap bertingkat yang berpori yang terletak di bawah bahan dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan.

c). Destilasi air (*Water Distillation*)

Metode *hydrodistillation* ini, bahan yang akan didestilasi dikontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung atau terendam secara sempurna, tergantung dari berat jenis dan bahan yang didestilasi. Beberapa jenis bahan (misalnya bubuk buah badam dan bunga mawar) harus disuling dengan metode ini, karena bahan harus tercelup dan dapat bergerak bebas dalam air mendidih. Jika disuling dengan metode uap langsung, bahan akan merekat dan membentuk gumpalan besar sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan (Ketaren, 1987).

Peralatan metode destilasi air pada umumnya terdiri dari tiga bagian utama, yaitu: alat penyulingan, pendingin, dan penampung kondensat. Alat penyulingan berfungsi sebagai wadah bahan yang akan diproses, air berhubungan langsung dengan bahan tanaman dan menguapkan minyak atsiri yang dikandungnya. Pendingin berfungsi mengubah uap air yang mengandung uap minyak atsiri menjadi cairan. Penampung kondensat berfungsi untuk memisahkan minyak atsiri dari air yang terkondensasi secara sempurna. Kondensat mengalir dari pendingin ke penampung kondensat dan akan terlihat minyak atsiri yang dihasilkan terpisah dari air dengan sendirinya (Sastrohamidjojo, 2004).

5. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah salah satu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel yang didistribusikan di antara dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak adalah fasa yang membawa cuplikan, sedangkan fasa diam adalah fasa yang menahan cuplikan secara efektif. Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode pemisahan yang berupa bahan berbutir (fasa diam) yang ditempatkan

pada penyangga yang berupa pelat. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita, kemudian ditempatkan dalam bejana tertutup yang berisi larutan pengembang yang sesuai (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan untuk keperluan deteksi (Stahl, 1985).

Penyerap atau fase diam yang umum digunakan adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa dan turunannya, poliamida, dan lain-lain. Silika gel menghasilkan perbedaan yang nyata terhadap hasil pemisahan, sehingga silika gel G Merck menurut spesifikasi Stahl diterima sebagai standar. Pemilihan adsorben harus diperhatikan karena adsorben yang mengandung air dapat berpengaruh nyata terhadap daya pemisahan (Stahl, 1985).

Pelarut sebagai fasa gerak atau eluen merupakan faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam campuran. Pemilihan pelarut tergantung pada sifat kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Trappe dalam Sastrohamidjojo, 1991 mengatakan bahwa kekuatan dari elusi deret-deret pelarut untuk senyawa-senyawa dalam KLT dengan menggunakan silika gel akan turun dengan urutan sebagai berikut : air murni > metanol > etanol > propanol > aseton > etil asetat > kloroform > metil klorida > benzen > toluen > trikloroetilen > tetraklorida > sikloheksan > heksan. Fase gerak yang bersifat lebih polar digunakan untuk mengelusi senyawa-senyawa yang adsorbsinya kuat, sedangkan fasa gerak yang kurang polar digunakan untuk mengelusi senyawa yang adsorbsinya lemah (Sastrohamidjojo, 1991).

Deteksi dapat dilakukan berupa deteksi visual, yaitu senyawa yang tidak berwarna dibuat tampak dengan prosedur identifikasi yang sesuai. Yang sering digunakan adalah prosedur fisika yaitu eksitasi fluoresensi. Sedangkan prosedur identifikasi kimia dilakukan dengan menempatkan kromatogram dalam atmosfer gas yang sesuai atau disemprot dengan larutan yang sesuai (Stahl, 1985).

Analisis suatu senyawa dalam KLT biasanya dilakukan yaitu, membandingkan dengan senyawa standarnya. Pengamatan yang lazim berdasarkan pada kedudukan dari noda relatif terhadap batas pelarut yang dikenal sebagai harga R_f yang didefinisikan pada persamaan berikut:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Faktor-faktor yang mempengaruhi harga R_f adalah sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 1991) :

1. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
2. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya. Yang dapat dicapai dengan pemanasan dalam oven. Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga R_f meskipun menggunakan pelarut yang sama.
3. Tebal dan kerataan lapisan penyerap. Ketidakrataan akan menyebabkan aliran pelarut menjadi tidak rata dalam daerah yang kecil dari plat.
4. Pelarut dan derajat kemurnian fase gerak.
5. Derajat kejenuhan dari uap dalam pengembang.
6. Jumlah cuplikan yang digunakan. Penetasan cuplikan dalam jumlah yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuk ekor.
7. Pemisahan sebaiknya dilakukan pada suhu tetap untuk mencegah perubahan-perubahan komposisi pelarut yang disebabkan penguapan dan perubahan fasa.
8. Kesetimbangan dalam lapisan tipis dimana bejana harus jenuh dengan uap pelarut.

6. Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS)

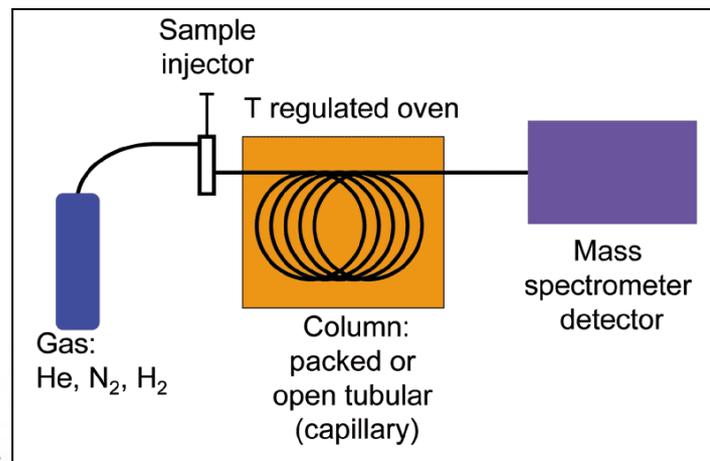
Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat GC-MS yang merupakan gabungan dari dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektrofotometri massa (GC-MS). Kedua alat ini dihubungkan dengan satu interfase. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). *commit to user*

Penggunaan instrumen memerlukan pengkondisian tertentu untuk memberikan hasil analisis yang akurat. Pengkondisian alat merupakan salah satu faktor utama yang menentukan hasil analisis GC-MS. Kolom dipanasi pada suhu tertentu, demikian juga tempat injeksi dan detektor. Cuplikan yang berupa cairan, cara memasukkan cuplikan sampel dengan sistem injeksi ke dalam kamar pemanas melalui sekat karet silikon dengan *syringe*. Pada beberapa kasus, cuplikan diinjeksikan langsung ke dalam kolom pada masukan. Cara ini lebih cocok untuk cuplikan volatil. Dari kamar pemanas, gas pembawa membawa cuplikan melalui kolom untuk pemisahan (Sudjadi, 1991).

Pemilihan kolom merupakan penentu utama dalam keberhasilan suatu proses pemisahan. Berdasarkan pengalaman di laboratorium, untuk menganalisis komponen minyak atsiri disarankan penggunaan kolom kapiler dengan tipe *middle bore* sampai *semi-wide bore*, sehingga diharapkan diperoleh hasil analisis yang memiliki daya pisah tinggi dan sensitivitas yang tinggi (Agusta, 2000).

Faktor yang menyebabkan suatu senyawa bergerak melalui kolom ini adalah keatsiriannya, aliran gas dari tangki bertekanan, mengalir melalui pengatur tekanan yang mengatur kecepatan aliran gas dalam alat itu. Gas pembawa yang biasa digunakan adalah helium, nitrogen, hidrogen, argon. Gas pembawa haruslah inert, cocok dengan detektor yang digunakan, murni dan mudah didapat. Karena gas tersebut inert, maka interaksi antara model cuplikan dan molekul gas dapat diabaikan kecuali pada tekanan tinggi (Sudjadi, 1991).

Gas pembawa membawa cuplikan melalui kolom dimana mereka terpisahkan dan kemudian melalui detektor yang mengirim isyarat ke pencatat. Syarat detektor yang digunakan harus stabil dan tidak merusak senyawa yang dideteksi. Detektor yang digunakan pada sistem GC-MS adalah spektrometer massa itu sendiri yang terdiri atas sistem ionisasi dan sistem analisis (Agusta, 2000). Skema alat GC-MS dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Skema Alat GC-MS

Ada beberapa sistem ionisasi untuk analisis spektrometer massa. *Electron Impact ionization (EI)* adalah metode ionisasi yang umum digunakan. Sistem ionisasi yang terjadi adalah suatu molekul berbentuk gas dalam sistem hampa pada tekanan 10^{-4} sampai 10^{-6} pada suhu tertentu, dibombardir dengan arus elektron berenergi tinggi sekitar 70 eV sehingga terbentuk ion molekul. Ion yang terbentuk dalam ruang pengion akan dipercepat oleh suatu lempeng pemercepat ke dalam suatu medan magnet. Di dalam medan magnet, ion tersebut dibelokkan sesuai dengan besarnya ion (berdasarkan perbandingan massa/muatan). Masing-masing komponen ion akan melewati celah pengumpul dan akan menumbuk lempengan pengumpul. Arus yang timbul pada sistem pengumpul atau pendeteksi akan diperkuat dan akan terekam. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan (Agusta, 2000).

Sistem analisis yang umum digunakan adalah sistem kuadropol yang terletak antara sumber ion dan detektor. Sistem pengolahan data dan identifikasi senyawa dilakukan secara komputerisasi. Hasil analisis ini diperoleh dua jenis data, yakni kromatogram dan spektra.

Kromatogram memberikan informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel merupakan campuran). Spektra massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari masing-masing puncak pada kromatogram. Pola pemecahan atau fragmentasi molekul yang terbentuk untuk setiap komponen

kimia sangat spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai patokan untuk menentukan struktur molekul suatu komponen kimia yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat dalam suatu bank data (Agusta, 2000).

B. Kerangka Pemikiran

Tanaman sirih merah merupakan tanaman obat yang berkhasiat untuk pengobatan tradisional. Daun sirih merah mengandung golongan senyawa flavonoid, alkohol, senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri. Penelusuran literatur yang dilakukan menunjukkan belum banyak ditemukan laporan penelitian yang menyatakan tentang kandungan kimia minyak atsiri daun sirih merah. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi komponen utama minyak atsiri daun sirih merah.

Metode isolasi yang digunakan adalah metode destilasi stahl. Proses isolasi minyak atsiri ini terjadi dengan hidrodifusi atau penembusan air pada jaringan-jaringan tanaman. Minyak atsiri yang sudah dibebaskan dari jaringan tanaman terbawa uap air menuju kondensor, kemudian mengalami pendinginan dan mengalir ke penampung kondensat. Kondensat membentuk dua lapisan, yakni air dan minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh dari hasil isolasi ditentukan kadarnya dalam % (v/b). Minyak atsiri yang telah dipisahkan kemudian ditambahkan dengan Na_2SO_4 anhidrat untuk menghilangkan air yang masih tersisa dari emulsi minyak.

Identifikasi komponen minyak atsiri dilakukan dengan KLT dan analisis data dari GC-MS. Hasil uji KLT dapat diperoleh informasi golongan senyawa tertentu dan dibandingkan dengan data sekunder dari literatur. Data kromatogram GC-MS akan memberikan informasi jumlah senyawa yang terdeteksi, sedangkan dari data spektra GC-MS akan dianalisa data dapat diperoleh informasi struktur senyawa yang terdeteksi dengan cara membandingkannya dengan data sekunder dari literatur.

C. Hipotesis

- a. Minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dapat diisolasi dan diketahui kadarnya dengan alat destilasi stahl.
- b. Golongan senyawa monoterpena, seskuioterpena, dan aromatik terdeteksi pada uji KLT minyak atsiri daun sirih merah. Komposisi senyawa kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah dapat diketahui dari analisis data GC-MS.
- c. Studi komparatif menunjukkan adanya persamaan serta perbedaan kualitatif dan kuantitatif senyawa penyusun minyak atsiri. Hubungan kekerabatan memperlihatkan kemiripan profil komponen penyusun minyak atsiri pada familia Piperaceae.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Isolasi minyak atsiri daun sirih merah dilakukan dengan metode destilasi stahl. Identifikasi komponen kimia minyak atsiri dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dan pendekatan struktur dilakukan dengan metode spektrometri. Spektrometer yang digunakan merupakan gabungan dari kromatografi gas dan spektrometer massa (GC-MS).

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni sampai dengan Agustus 2008 di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS Surakarta dan Laboratorium Kimia Organik FMIPA UGM Yogyakarta.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah sebagai berikut :

- a) Satu set alat destilasi stahl
- b) Labu alas bulat (Pyrex 750 mL)
- c) Statif
- d) Klem
- e) Selang air
- f) Pompa air
- g) Timbangan elektrik (AND GF 300)
- h) Mantel pemanas (J.P.SELETA)
- i) Plat KLT GF 254 (E Merck)
- j) Pipet kapiler
- k) Bejana KLT
- l) Alat penyemprot KLT
- m) Oven (Lab-Line)

commit to user

- n) Termometer 110 °C
- o) GC-MS (Shimadshu QP-2010S)

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan adalah sebagai berikut:

- a) Daun sirih merah dari Desa Jengglong Kabupaten Karanganyar
- b) Akuades (dari Laboratorium Biologi FMIPA UNS)
- c) Na₂SO₄ anhidrat pa (E Merck)
- d) Etil asetat pa (E Merck)
- e) Toluena pa (E Merck)
- f) Vanilin (E Merck)
- g) Etanol pa (E Merck)
- h) H₂SO₄ pekat pa (E Merck)

D. Prosedur kerja

1. Identifikasi dan Determinasi Bahan Awal

Proses awal pada penelitian ini dilakukan proses identifikasi dan determinasi pada tanaman yang akan digunakan dengan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tanaman di laboratorium taksonomi tumbuhan.

2. Persiapan Sampel Daun Sirih Merah

Daun sirih merah yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Kecamatan Karanganyar. Sampel daun yang digunakan berasal dari tanaman berusia 6 bulan dan posisi daun berada pada bagian tengah dari badan tanaman. Daun yang digunakan sebagai sampel adalah daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Daun sirih merah dicuci bersih dan diangin-anginkan pada suhu kamar selama 2 hari, kemudian dipotong-potong dan ditimbang.

3. Isolasi Minyak Atsiri

Sebanyak 50 gram daun sirih merah didestilasi stahl dengan akuades 2/3 volume labu, selama kurang lebih 3 jam. Selanjutnya minyak atsiri dipisahkan.

Minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air dihilangkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat sampai jenuh kemudian dipisahkan. Minyak atsiri yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk proses selanjutnya.

4. Analisis dengan KLT

Plat KLT GF 254 dengan ukuran 2,5 x 7,5 cm disiapkan, minyak atsiri ditotolkan dari ujung plat KLT dengan menggunakan pipet kapiler yang telah diruncingkan. Plat KLT dibiarkan sesaat, kemudian dimasukkan ke dalam bejana KLT yang sudah jenuh dengan uap pelarut. Pelarut yang digunakan adalah toluen : etil asetat (93:7 v/v) (Wagner, H, 1984). Plat KLT kemudian disemprot dengan vanilin asam sulfat dan diamati noda-noda yang timbul setelah dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 3 menit. Dihitung harga R_f yang diperoleh. Harga R_f dan warna noda dibandingkan dengan data sekunder dari literatur.

5. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS)

Kondisi operasi GC-MS saat analisis sampel minyak atsiri sirih merah sebagai berikut:

Jenis pengion	: EI (<i>Electron Impact</i>)
Gas pembawa	: Helium 14,0 Kpa
Jenis kolom	: Rtx-5MS
Panjang kolom	: 30 meter
Diameter kolom	: 0,25 mm
Suhu kolom	: 70 – 270°C
Suhu injektor	: 290°C
Suhu detektor	: 250°C
Kecepatan kenaikan suhu	: 5°C / menit

6. Data Pembanding Komponen Minyak Atsiri.

Data komposisi komponen kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper betel* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L, bersumber dari literatur.

commit to user

E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Penelitian ini akan menghasilkan beberapa macam data. Dari isolasi minyak atsiri menggunakan metode destilasi stahl akan diperoleh minyak atsiri lalu dihitung kadarnya. Kadar minyak atsiri dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{Kadar minyak atsiri} = \frac{\text{volume minyak atsiri daun sirih merah}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Data dari Kromatografi Lapis Tipis berupa harga Rf dan warna noda yang menegaskan terdapatnya golongan senyawa tertentu yang terdapat dalam hasil isolasi minyak atsiri daun sirih merah. Dari kromatogram GC-MS diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi dan dari spektra GC-MS kemudian dilakukan analisis data untuk mendapatkan struktur senyawa dengan membandingkan dengan data sekunder dari literatur. Teknik analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode perbandingan dan studi literatur data sekunder.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi bahan awal

Hasil identifikasi sampel tanaman yang dilakukan oleh Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Piper crocatum* Ruiz & Pav atau sirih merah (terlampir pada Lampiran 1).

B. Persiapan sampel

Pengeringan daun sirih merah yang telah dicuci bersih dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar, selama 48 jam, hal ini dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam daun sirih merah. Dalam pengeringan tidak boleh terkena sinar matahari langsung karena hal ini dapat mengakibatkan kehilangan minyak atsiri.

C. Isolasi Minyak Atsiri

Isolasi minyak atsiri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat destilasi Stahl. Prinsip destilasi adalah pemisahan campuran berdasarkan perbedaan titik didihnya. Alat yang digunakan adalah destilasi stahl karena sampel bahan yang digunakan yaitu daun sirih merah jumlahnya sedikit, sehingga untuk memperoleh hasil minyak atsiri yang optimal digunakan alat yang efektif.

Prinsip kerja destilasi stahl sama dengan destilasi dengan air (hidrodestilasi). Namun destilasi stahl memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan penggunaan destilasi stahl antara lain: minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga tidak mudah menguap dan volume minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena alatnya dilengkapi dengan skala.

Daun sirih merah sebelum didestilasi perlu diperlakukan dengan cara perajangan. Perajangan bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri saat destilasi

berlangsung, karena minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, dan kantung minyak. Apabila dibiarkan utuh, minyak atsiri hanya dapat diekstrak bila uap air berhasil melalui jaringan tumbuhan dan mendesak ke permukaan dengan perlahan. Proses lepasnya minyak atsiri ini terjadi dengan hidrodifusi atau penembusan air pada jaringan-jaringan tanaman. Kelenjar yang terpecah oleh uap air menyebabkan minyak atsiri lepas atau pecah terbawa bersama-sama uap air. Uap air yang membawa minyak atsiri tersebut kemudian didinginkan. Hasil pendinginan akan diperoleh dua lapisan yaitu lapisan minyak atsiri yang terpisah oleh air.

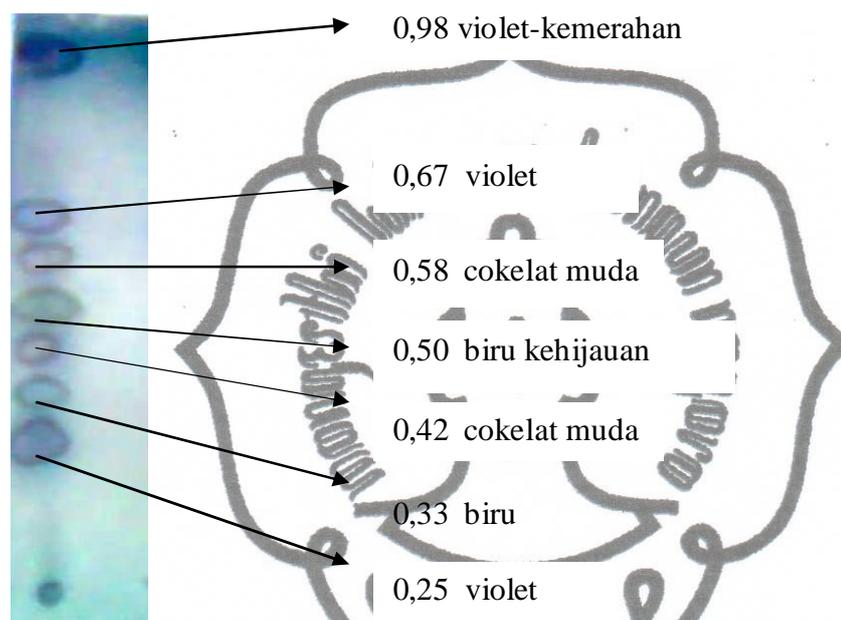
Minyak atsiri yang diperoleh dari hasil destilasi stahl berupa cairan berwarna kuning bening dan berbau khas sirih merah dengan rendemen sebesar 0,27 % v/b (terlampir pada Lampiran 3). Kandungan minyak atsiri dalam suatu bahan tergantung pada kondisi optimum ketuaan dari tanaman dan kandungan mineral tempat hidupnya. Selain itu juga karena adanya faktor fisika dan kimia yang menyebabkan kehilangan minyak atsiri dari simplisia.

Faktor fisika disebabkan oleh proses pengeringan dan penyimpanan. Sebagian minyak atsiri dalam bahan yang menguap selama proses pengeringan lebih besar dibanding pada saat penyimpanan, karena pada saat pengeringan daun masih mengandung sebagian besar air di dalam sel dan dengan proses difusi akan membawa minyak ke permukaan kemudian menguap. Faktor kimia disebabkan oleh komponen dalam minyak atsiri sebagian terdiri dari senyawa yang mengandung heteroatom oksigen seperti alkohol, aldehid, dan oksida, beberapa minyak atsiri bahkan mengandung senyawa-senyawa tersebut dalam jumlah besar. Adanya heteroatom oksigen menyebabkan senyawa-senyawa tersebut mudah terurai (Ketaren^b, 2000).

D. Hasil Analisis Kromatografi Lapis Titpis

Eluen yang digunakan untuk pemisahan minyak atsiri daun sirih merah secara KLT pada penelitian ini adalah toluena : etil-asetat (93 : 7) (Departemen Kesehatan, 1987; Wagner et. al, 1984). Toluena merupakan pelarut nonpolar, sedangkan etil asetat merupakan pelarut yang semipolar, sehingga diharapkan

dengan perbandingan eluen tersebut mampu membawa komponen minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari senyawa nonpolar atau semipolar, serta sebagian kecil senyawa polar. Pemisahan komponen minyak atsiri daun sirih merah secara KLT dengan eluen toluena : etil asetat (93 :7) dan identifikasi dilakukan dengan vanilin-asam sulfat diperoleh 7 noda seperti ditunjukkan Gambar 10.



Gambar 10. Kromatogram Sampel Minyak Atsiri Daun Sirih Merah dengan Eluen Toluena : etil-asetat (93 :7) dan identifikasi dengan Vanilin- H_2SO_4 serta dipanaskan dalam oven suhu $110\text{ }^{\circ}C$ selama 3 menit

Adapun noda-noda tersebut adalah Rf 0,25 berwarna violet; Rf 0,33 berwarna biru; Rf 0,42 berwarna cokelat muda; Rf 0,50 berwarna biru kehijauan; Rf 0,58 berwarna cokelat muda; Rf 0,67 berwarna violet; Rf 0,98 berwarna violet-kemerahan. Ketujuh noda tersebut kemudian dibandingkan dengan data sekunder yang diperoleh dari literatur dengan kondisi yang sama.

Hasil analisis KLT sampel minyak atsiri daun sirih merah dengan identifikasi pereaksi Vanilin- H_2SO_4 dan pemanasan pada suhu $110\text{ }^{\circ}C$ selama 3 menit memberikan 3 noda yang mempunyai harga Rf dan warna yang hampir sama dengan data sekunder yang diperoleh dari literatur disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis KLT

No	Minyak atsiri daun sirih merah		Data sekunder							
			Wagner, 1984 *				DepKes RI, 1987 **			
			Rf	Warna	Minyak atsiri	Rf	Warna	Senyawa	Minyak atsiri	Rf
1	0,25	Violet	Salvia (<i>Salvia officinalis</i> L)	0,2 s/d 0,35	Blue- violet	Terpen alkohol	Pala (<i>Myristica fragrant</i> H)	0,25 s/d 0,4	Violet	Terpen alkohol
2	0,33	Biru	Lavender (<i>Lavandula angustifolia</i>)	0,35	Biru	L-linalool	Selasih (<i>Ocimum basilicum</i> L)	0,3	Biru	Linalool
3	0,42	Cokelat muda	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,50	Biru kehijauan	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0,58	Cokelat muda	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,67	Violet	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0,98	Violet kemerahan	Kayu Manis (<i>Cinnamomum zcylanicum</i>)	Batas pelarut	Strong-violet	Pinen, Kariofilen	Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)	Batas pelarut	Violet-kemerahan	Kariofilen
			Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)	Batas pelarut	Red-violet	Hidrokarbon seskuiterpen				

Keterangan : Hasil analisis KLT sampel minyak atsiri daun sirih merah dengan eluen toluena : etil asetat (93 : 7) identifikasi pereaksi reagen semprot Vanilin-H₂SO₄ , pemanasan pada suhu 110 °C, dibandingkan dengan data sekunder literatur pada kondisi yang sama.

* Wagner, H., 1984, *Plant Drug Analysis A Thin Chromatography Atlas*. Springer. Verlag Berlin Heidelberg New York

**Anonim, 1987, *Analisis Obat Tradisional*. DepKes RI Jilid I, Jakarta.

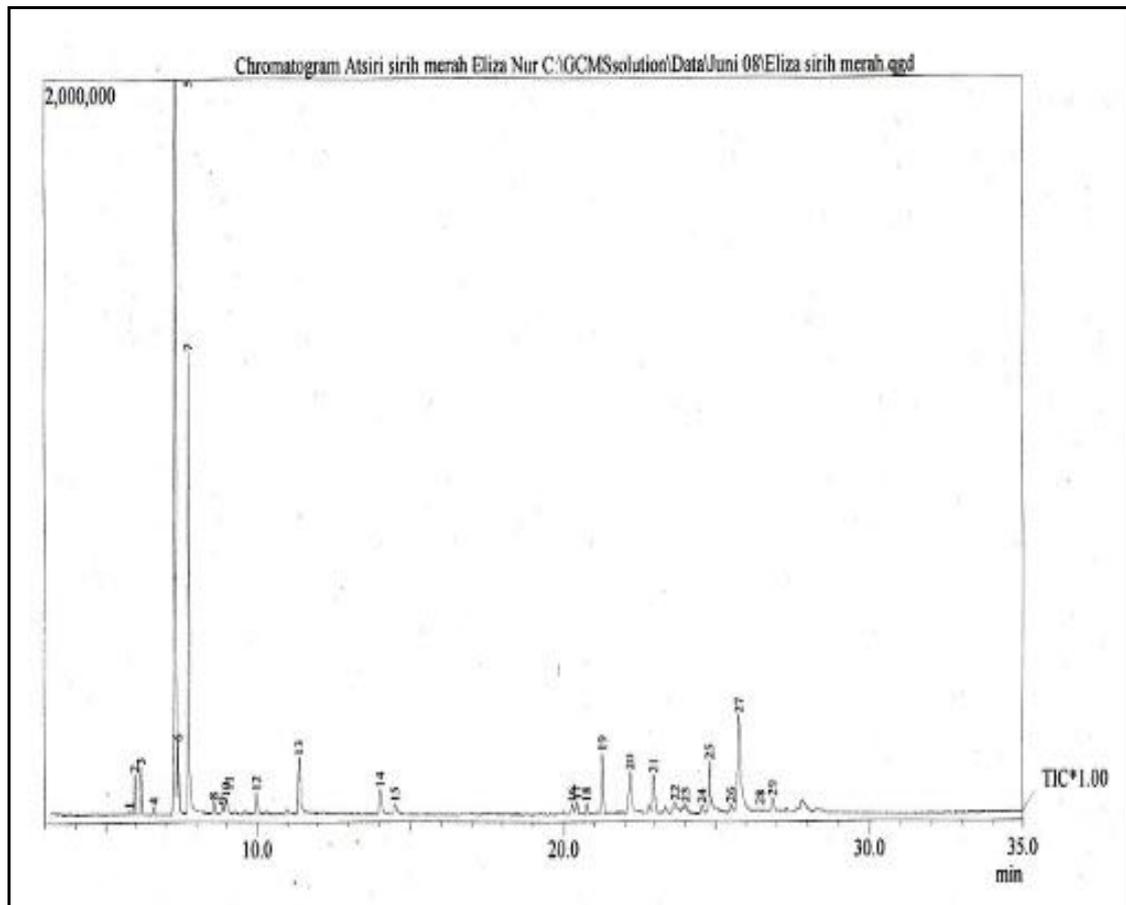
Hasil analisis KLT sampel minyak atsiri daun sirih merah pada Rf 0,25 (violet) hampir sama dengan data KLT minyak pala menunjukkan bahwa noda Rf 0,25-0,40 dengan warna violet menunjukkan senyawa terpena-alkohol. Hal ini juga didukung pada *Salvia officinalis* L menunjukkan Rf 0,20-0,35 dengan warna blue-violet merupakan senyawa terpena-alkohol.

Hasil identifikasi KLT pada Rf 0,33 (biru) mempunyai harga Rf dan warna yang hampir sama dengan minyak atsiri *Lavandula angustifolia* menunjukkan Rf 0,35 dengan warna biru adalah senyawa L-linalool. Hal ini juga didukung pada minyak selasih, bahwa pada noda Rf 0,30 dengan warna biru menunjukkan senyawa linalool.

Hasil identifikasi KLT pada Rf 0,98 (violet-kemerahan) mempunyai harga Rf dan warna yang hampir sama dengan data sekunder dari DepKes RI, menyatakan bahwa pada minyak cengkeh dengan Rf pada batas pelarut dan warna noda violet-kemerahan merupakan senyawa kariofilen. Didukung oleh Wagner, menyatakan bahwa komponen minyak atsiri *Cinnamomum zylanicum* pada batas pelarut memberikan warna violet kuat merupakan senyawa kariofilen. Kariofilen dengan rumus molekul $C_{15}H_{24}$ merupakan golongan seskuiterpena. Hal ini didukung pada minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* pada batas pelarut dengan warna red-violet menunjukkan golongan hidrokarbon seskuiterpena. Empat noda lainnya tidak ditemukan pada minyak atsiri dari literatur. Hasil analisis KLT ini didukung dengan analisis lebih lanjut melalui pendekatan identifikasi struktur dengan analisis data dari kromatografi gas dan spektrometer massa.

E. Hasil Analisis Kromatografi Gas-Spektrometer Massa

Hasil kromatogram dari data GC-MS pada minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan terdapat 29 komponen (29 puncak) yang terdeteksi. Kromatogram GC-MS minyak atsiri daun sirih merah ditunjukkan oleh Gambar 11.



Gambar 11. Kromatogram Hasil Pemisahan Kromatografi Gas Sampel Minyak Atsiri Daun Sirih Merah menunjukkan terdapat 29 puncak yang terdeteksi

Analisis kandungan minyak atsiri pada penelitian ini tidak dilakukan dengan cara perbandingan waktu retensi dengan senyawa pembanding, akan tetapi dengan cara melakukan analisis spektra massanya. Kromatografi gas berfungsi memisahkan campuran senyawa dalam cuplikan, sedangkan spektrometri massa mengidentifikasi komponen-komponen tersebut berdasarkan pola fragmentasi dari masing-masing senyawa tersebut.

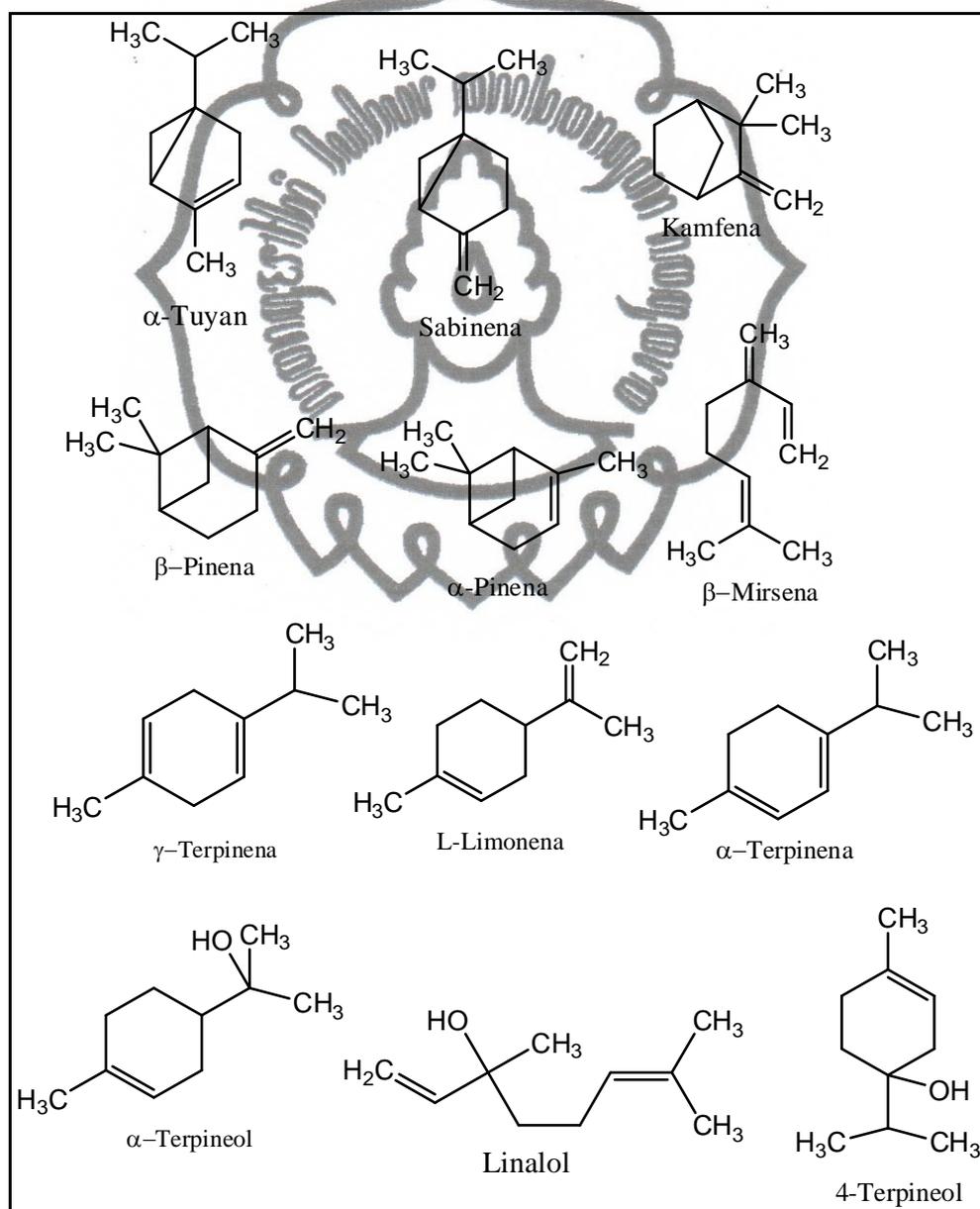
Analisis spektrometer massa mengidentifikasi 16 senyawa yang memiliki puncak dasar yang sama dengan senyawa standar dari *library* alat dan memiliki pola fragmentasi yang mirip, dan $SI \geq 91$. Data spektra massa GC-MS dari 16 puncak komponen minyak atsiri sirih merah disajikan pada Tabel 5.

Puncak No	Waktu Retensi (Menit)	% Area	SI	Rumus Molekul	BM	Perkiraan Senyawa
2	5,958	1,54	94	C ₁₀ H ₁₆	136	α-Tuyan
3	6,167	1,86	95	C ₁₀ H ₁₆	136	α-Pinena
4	6,592	0,30	92	C ₁₀ H ₁₆	136	Kamfena
5	7,300	44,91	96	C ₁₀ H ₁₆	136	Sabinena
6	7,400	2,72	97	C ₁₀ H ₁₆	136	β-Pinena
7	7,750	18,88	96	C ₁₀ H ₁₆	136	β-Mirsena
8	8,592	0,44	92	C ₁₀ H ₁₆	136	α-Terpinena
10	8,992	0,83	92	C ₁₀ H ₁₆	136	l-Limonen
12	9,983	1,05	96	C ₁₀ H ₁₆	136	γ-Terpinena
13	11,383	3,19	96	C ₁₀ H ₁₈ O	154	l-Linalol
14	14,025	1,33	94	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4-Terpineol
15	14,508	0,35	93	C ₁₀ H ₁₈ O	154	α-Terpineol
18	20,767	0,51	91	C ₁₅ H ₂₄	204	Zingiberen
19	21,275	3,04	97	C ₁₅ H ₂₄	204	Trans-Kariofilen
20	22,192	3,13	91	C ₁₅ H ₂₄	204	β-Farnesen
21	22,967	1,86	91	C ₁₅ H ₂₄	204	Germakren D
Total komponen tidak teridentifikasi (%)			14,06			
Total komponen teridentifikasi (%)			85,94			
Kelompok senyawa (%)						
Monoterpena hidrokarbon			72,53			
Monoterpena teroksigenasi			4,87			
Seskuiterpena			8,54			

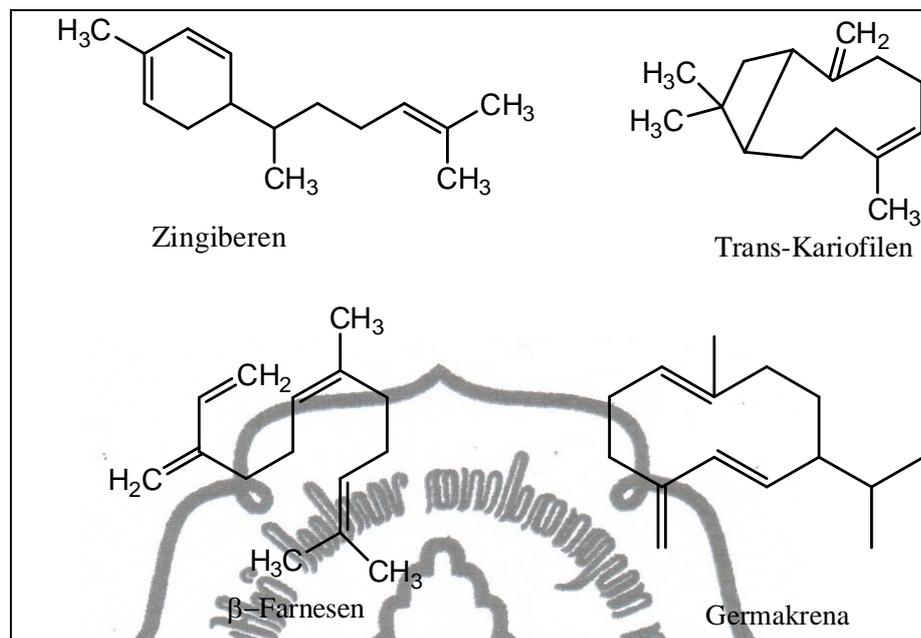
Hasil analisis GC-MS minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa penyusun utama minyak atsirinya adalah golongan monoterpena dan seskuiterpena. Monoterpena dan seskuiterpena berupa isoprena C₁₀ dan C₁₅ dengan titik didih yang berbeda (titik didih monoterpena 140-180 °C, titik didih seskuiterpena >200 °C (Padmawinata, 1987).

Senyawa yang tergolong monoterpena antara lain: α -Tuyan, α -Pinena, Kamfena, Sabinena, β -Pinena, β -Mirsena, α -Terpinena, l-Limonen, γ -Terpinena, l-Linalol, 4-Terpineol, dan α -Terpineol, sedangkan yang termasuk golongan seskuiterpena antara lain: Zingiberen, Trans-kariofilen, β -farnesen, dan Germakren..

Struktur 16 senyawa yang tergolong monoterpen dan seskuiterpen tersebut digambarkan pada Gambar 12 dan Gambar 13, sebagai berikut:



Gambar 12. Struktur Senyawa Monoterpena Daun Sirih Merah

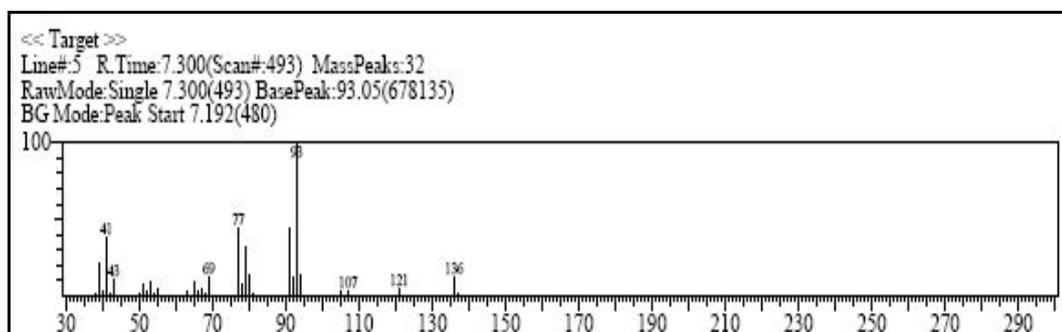


Gambar 13. Struktur Senyawa Seskuiterpena Daun Sirih Merah

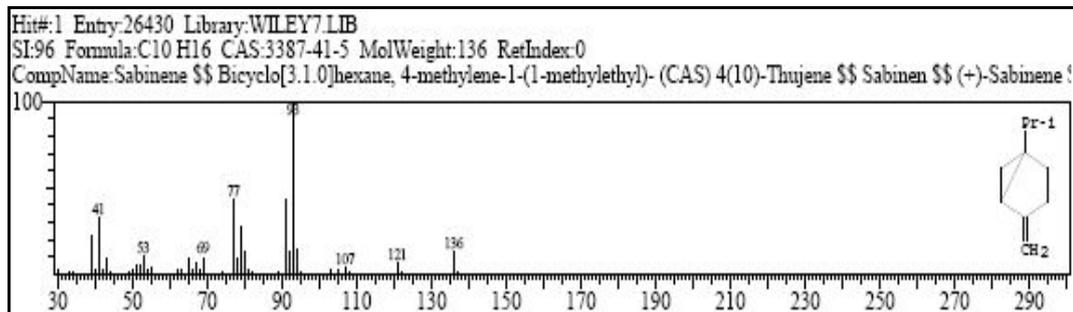
Berikut ini ditampilkan contoh analisis spektra massa senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun sirih merah:

Senyawa Sabinena

Senyawa pada puncak no 4 dengan waktu retensi 7,300 menit dan SI = 96 memiliki fragmen-fragmen yang mirip dengan senyawa monoterpen Sabinena dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan m/e 136. Sabinena merupakan senyawa komponen utama minyak atsiri daun sirih merah, hal ini didasarkan dari kromatogram ditunjukkan dengan puncak area yang paling tinggi, yakni 44,91%. Spektra massa senyawa IV dapat dilihat pada gambar 14.a, dan spektra massa sabinena dapat dilihat pada gambar 14.b.



Gambar 14.a. Spektrum Massa Senyawa IV



Gambar 14.b. Spektrum Massa Senyawa Sabinena

Spektra tersebut diatas dapat dibuat tabel fragmentasi sebagai berikut:

Tabel 6. Fragmentasi senyawa IV dibandingkan standar Sabinena (WILEY-7.LIB) dengan SI = 96

No	Senyawa	Puncak Fragmentasi							
		41	43	69	77	93*	107	121	136
1	Senyawa IV	41	43	69	77	93*	107	121	136
2	Standar Sabinena	41	43	69	77	93*	107	121	136

* = Base peak Spektrum Massa

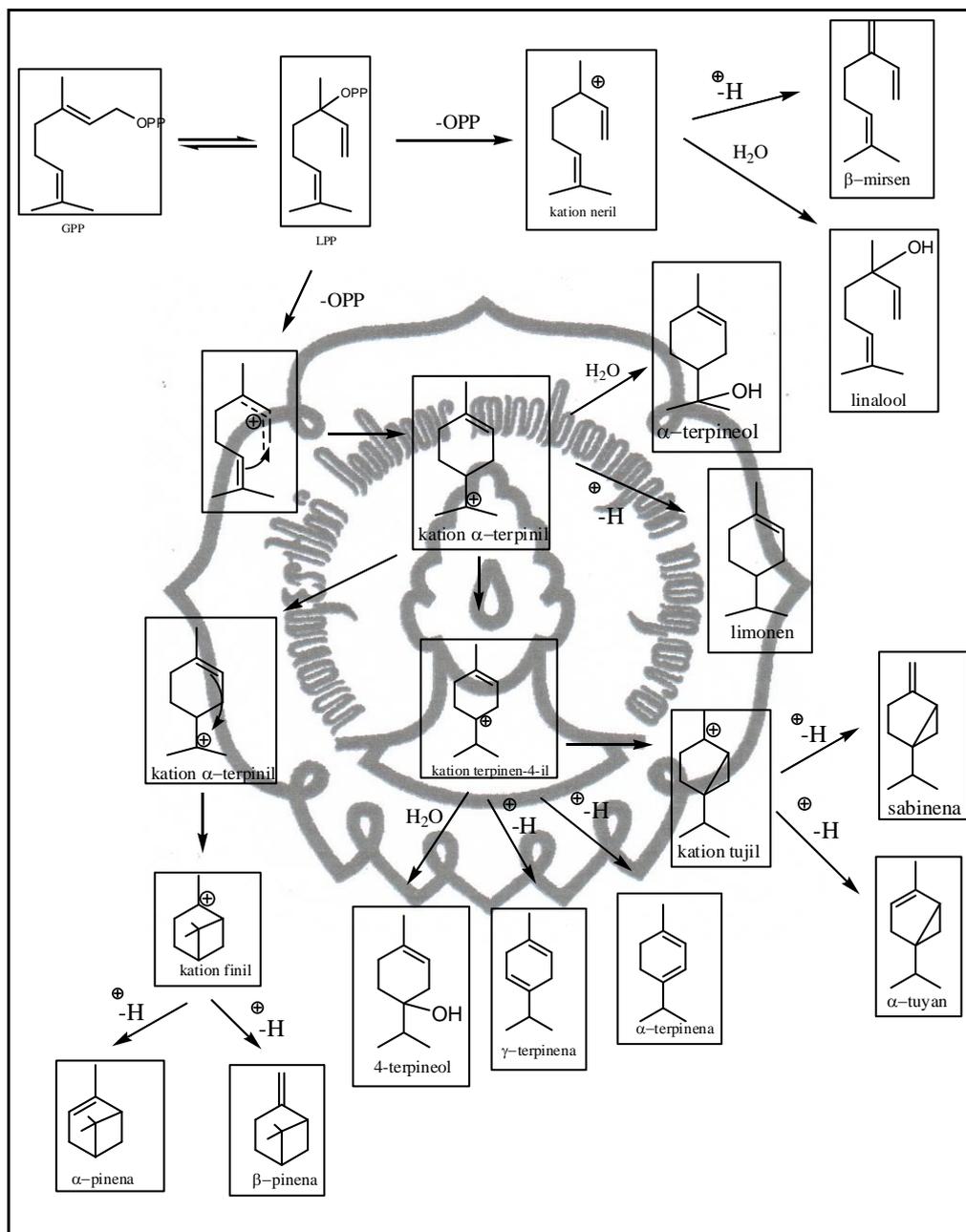
Analisis spektra massa GC-MS untuk 15 senyawa lainnya dilakukan dengan cara yang sama, dan identifikasi senyawa dengan memperhatikan bahwa senyawa tersebut bila dibandingkan dengan senyawa pembanding dari *library* alat, yakni memiliki puncak dasar yang sama, pola fragmentasi yang sama atau mirip, dengan tingkat kemiripan (*similarity indeks*, $SI \geq 91$).

F. Biosintesis Senyawa Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Berdasarkan hasil analisis GC-MS minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa penyusun utama minyak atsirinya adalah senyawa turunan terpena, yakni golongan monoterpena dan seskuiterpena. Senyawa turunan terpena terbentuk dari asam asetat melalui jalur biosintesis asam-mevalonat.

Geranyl pirofosfat (GPP) merupakan senyawa prekursor pembentukan monoterpena. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP akan menghasilkan farnesil pirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa prekursor bagi seskuiterpena. Biosintesis senyawa monoterpena dan seskuiterpena penyusun kimia minyak atsiri daun sirih merah ditunjukkan pada Gambar 15 dan 16.

1. Biosintesis Senyawa Golongan Monoterpena

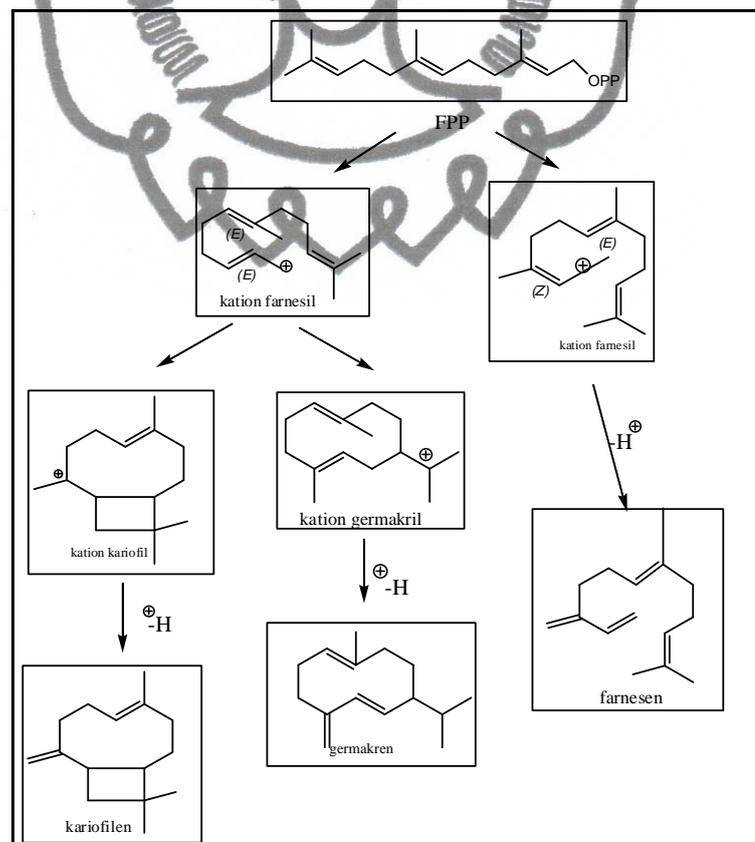


Gambar 15. Biosintesis Senyawa Golongan Monoterpena (Dewick, 2002)

Proses biosintesis senyawa golongan monoterpena diawali dari geranylpirofosfat (GPP) yang berperan sebagai prekursor. GPP berisomerisasi menjadi linalilpirofosfat (LPP), yang selanjutnya mengalami siklisasi sehingga akan diperoleh kation α -terpinil, kation ini merupakan kation zantara pembentuk senyawa-senyawa monoterpena. *commit to user*

Kation α -terpenil dengan melepaskan proton akan menghasilkan senyawa limonen. Sedangkan reaksi antara kation α -terpinil dengan air akan membentuk senyawa α -terpineol. Pembentukan senyawa α -terpinena dan γ -terpinena dapat dibentuk dari kation α -terpinil yang mengalami pergeseran 1,2 hirida menjadi kation terpinen-4-il kemudian dilanjutkan deprotonasi. Penataan ulang kation terpinen-4-il menjadi kation tujuh dan dilanjutkan deprotonasi bisa menghasilkan senyawa sabinena dan tujan. Pembentukan senyawa α -pinena dan β -pinena dibentuk dari kation α -terpenil dengan melakukan penataan ulang menjadi kation finil, kemudian dilanjutkan dengan pelepasan proton. Kation neril merupakan kation isomer dari kation α -terpinil, pelepasan proton dari kation neril dapat menghasilkan senyawa β -mirsen, sedangkan reaksi antara kation neril dengan air akan menghasilkan senyawa linalol.

2. Biosintesis Senyawa Golongan Seskuiterpena.



Gambar 16. Biosintesis Senyawa Golongan Seskuiterpena (Dewick, 2002).

Proses biosintesis senyawa golongan seskuiterpena dimulai dari farnesilpirofosfat (FPP) yang merupakan prekursor, kemudian menghasilkan kation farnesil kation zantara pembentuk senyawa-senyawa seskuiterpena.

(Z,E) kation farnesil dengan melepaskan proton dapat membentuk senyawa farnesen. (E,E) kation farnesil membentuk siklis dapat menghasilkan kation germakril maupun kation kariofil, dilanjutkan dengan deprotonasi maka akan membentuk senyawa germakren dan kariofilen.

G. Perbandingan Komposisi Kimia Minyak Atsiri

Komposisi senyawa kimia penyusun minyak atsiri antara daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dibandingkan dengan famili Piperaceae lainnya, yakni daun *Piper betel* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L, dapat ditampilkan pada Tabel 7, sebagai berikut:

Tabel 7. Perbandingan komposisi senyawa kimia penyusun minyak atsiri daun *Piper crocatum*, *Piper betel*, *Piper nigrum*, dan *Piper cubeba*.

Komponen	% Komposisi Minyak Atsiri Daun			
	¹ <i>Piper crocatum</i>	² <i>Piper betle</i>	³ <i>Piper nigrum</i>	⁴ <i>Piper cubeba</i>
Monoterpen	77,40%	1,14%	20,10%	28,40%
α -Tuyan	1,54	-	0,20	0,70
α -Pinen	1,86	0,21	-	3,20
Kamfen	0,30	0,48	-	0,30
Sabinen	44,91	-	0,30	3,80
β -Pinen	2,72	0,21	1,10	3,80
β -Mirsen	18,88	-	0,20	0,50
α -Felandren	-	-	0,60	0,20
α -Terpinen	0,44	-	0,70	0,10
p-Simen	-	0,08	0,10	0,40
β -Felandren	-	-	0,30	0,10
Limonen	0,83	0,13	10,30	3,40
1,8-Sineol	-	0,03	-	-
E- β -Osimen	-	-	0,50	0,30
γ -Terpinen	1,05	-	0,50	0,20
Cis-Sabinena hidrat	<i>commit to user</i>	-	-	0,30

Trans-Sabinena hidrat	-	-	-	8,20
Linalol	3,19	-	5,30	1,20
Trans- β -Terpineol	-	-	-	0,20
4-Terpineol	1,33	-	-	-
α -Terpineol	0,35	-	-	0,70
2-Undekanona	-	-	-	0,70
2-Metil-Undekanal	-	-	-	0,10
Seskuiterpena	19,16%	3,79%	74,29%	49,60%
δ -Elemen	-	-	8,80	-
α -Kubeben	-	-	3,00	0,80
α -Kopaen	-	-	0,70	0,90
β -Elemen	-	-	0,30	1,40
α -Gurujen	-	-	0,80	-
β -Kubeben	-	-	-	0,20
Zingiberen	0,51	-	-	-
Kariofilen	3,04	3,79	4,10	5,00
β -Gurjunen	-	-	1,40	-
α -Bergamoten	-	-	0,10	-
β -Farnesen	3,13	-	-	0,10
α -Humulen	-	-	3,70	1,50
Aromadendren	-	-	0,50	0,20
γ -Murelen	-	-	-	0,30
Germakren D	1,86	-	2,70	0,10
α -Selinen	-	-	0,90	-
α -Kurkumen	-	-	1,40	-
(Z,E)- α -Farnesen	-	-	2,00	-
β -Bisabolen	-	-	1,00	-
Cis-Muurola-4(14)-5-diena	-	-	-	0,30
Epi-Kubebol	-	-	-	4,20
α -Murolen	-	-	-	1,20
β -Himakalen	-	-	-	0,10
Z- α -Bisabolen	-	-	-	0,10
γ -Kadinen	-	-	-	16,60
Kalamenen	-	-	2,00	0,30
δ -Kadinen	-	-	2,00	0,30
(E,E)- α -Farnesen	-	-	2,00	-
E- γ -Bisabolen	-	-	-	0,50

Kadina-1,4-diena	-	-	-	0,40
α -Kalakoren	-	-	-	0,10
Germakren B	-	-	25,10	-
Kubebol	-	-	-	4,80
Epi α -Bisabolol	-	-	4,50	-
Cis-Murol-5-en-4-ol	-	-	-	0,10
Elemol	-	-	0,10	-
Nerolidol	-	-	0,10	1,50
β -Kalakoren	-	-	-	0,40
Spatulenol	-	-	2,00	0,10
1-Hidroksi-1,7-dimetil-4-isopropil-2,7 siklodiena	-	-	-	1,0
Kariofilena oksida	-	-	2,20	-
Toreyol	-	-	0,40	-
Epi-Globulol	-	-	-	0,40
Viridiflorol	-	-	-	0,10
Guaiol	-	-	-	0,10
Epi-Kubenol	-	-	-	0,70
γ -Eudesmol	-	-	0,50	-
τ -Kadinol	-	-	-	2,70
α -epi-Murolol	-	-	-	0,50
δ -Kadinol	-	-	-	0,20
α -Kadinol	-	-	2,70	1,90
Selin-11-en-4-ol	-	-	-	0,10
α -Bisabolol	-	-	-	0,20
Aromatik	-	70,46%	2,30%	-
Safrol	-	0,11	-	-
Metil-Kavibetol	-	0,72	-	-
Eugenol	-	0,42	-	-
Kavibetol	-	53,10	-	-
Kavibetol asetat	-	15,50	-	-
Alilpirokatekol diasetat	-	0,61	-	-
Miristisin	-	-	2,30	-
Total %	85,94%	75,39%	96,69%	78%

(¹Tabel 5; ²Agnes, *et.al.*, 1986; ³Tchoumboungang, *et.al.*, 2009; ⁴Elfahmi, *et.al.*, 2006)

Berdasarkan perbandingan komposisi senyawa kimia penyusun minyak atsiri antara daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan daun *Piper betel* L, *Piper nigrum* L, dan *Piper cubeba* L pada tabel 7 diatas, dapat dijelaskan sebagai berikut:

Komposisi minyak atsiri keempat species *Piper* secara keseluruhan menunjukkan 82 senyawa penyusun minyak atsiri yang terdeteksi. *Piper crocatum* memiliki 18 senyawa, diikuti *P. betle* 13, *P. nigrum* 40 dan *P. cubeba* 57 senyawa. Senyawa β -pinen, limonen dan kariofilen terdapat dalam setiap species *Piper* tersebut, hal ini dikarenakan ke-empat sampel tersebut masih dalam satu genus. Secara keseluruhan pada keempat species *Piper* tersebut ditemukan 8 senyawa utama (>10%), yakni sabinena, β -mirsen, nerolidol, kavibetol, kavibetol asetat, limonen, germakren B, dan γ -kadinen.

Piper crocatum memiliki tiga senyawa utama, yaitu Sabinena (44,91%), β -mirsen (18,88%). *Piper betle* dan *Piper nigrum* masing-masing memiliki dua senyawa utama, yakni pada *Piper betle* adalah senyawa kavibetol (53,10%) dan kavibetol asetat(15,50%), sedangkan pada *Piper nigrum* adalah senyawa limonen (10,3%) dan germakren B (25,1%). Adapun pada *Piper cubeba* hanya memiliki satu senyawa utama, yakni γ -kadinen (16,6%). Diketahuinya senyawa-senyawa utama memungkinkan isolasi lebih lanjut untuk tujuan-tujuan tertentu, khususnya pengobatan, meskipun daya kerja minyak atsiri seringkali merupakan sinergi keseluruhan komponen yang terkandung di dalamnya, bukan satu atau beberapa komponen saja.

Keempat species *Piper* tersebut, secara keseluruhan memiliki 50 senyawa khas, yakni senyawa yang hanya muncul pada satu species. *P. crocatum* memiliki 2 senyawa khas, yakni:4-terpineol, zingiberen. *P. betle* memiliki 7 senyawa khas, antara lain: 1,8-sineol, dan senyawa golongan fenilpropanoid (safrol, metil-kavibetol, eugenol, kavibetol, kavibetol asetat, alipirokatekol diasetat). *P. nigrum* memiliki 13 senyawa khas, terdiri dari: 6 senyawa golongan seskuiterpena hidrokarbon (gurujen, bergamoten, selinen, kurkumen, farnesen, germakren B), 6 senyawa golongan seskuiterpena teroksigenasi (epi- α -bisabolol, elemol, kariofilena oksida, toreyol, γ -eudesmol, α -kadinol) dan 1 senyawa

aromatik yaitu miristisin. Sedangkan minyak atsiri daun *P. cubeba* memiliki 27 senyawa khas, dengan 4 senyawa yang memiliki kadar > 1,0%, yakni senyawa epi-kubebol (4,2%), α -murolen (1,2%), kubebol (4,8%), dan τ -kadinol (2,7%).

Hasil studi komparatif tersebut, ditemukan 4 senyawa khas yang sekaligus sebagai senyawa utama, yaitu senyawa kavibetol dan kavibetol asetat pada *P. betle*, senyawa germakren B pada *P. nigrum*, dan senyawa γ -kadinen pada *P. cubeba*. Senyawa senyawa ini hanya ditemukan pada tumbuhan dimaksud dengan kadar sangat tinggi, sehingga sangat berguna sebagai penanda kimia taksonomi untuk membedakan satu spesies dengan spesies lain. Disamping itu berguna pula untuk mengetahui kemurnian suatu minyak atsiri, meskipun untuk mengetahui adanya pemalsuan produk minyak atsiri tetap perlu dilakukan pembacaan secara keseluruhan terhadap kromatogram.

Kadar komposisi dan jenis komponen dalam suatu minyak atsiri, dapat bervariasi, terutama disebabkan oleh perbedaan spesies, metode isolasi, tempat tumbuh serta waktu pemanenan (Setyawan, 2003), namun keberadaan senyawa utama setiap spesies selalu konsisten. Komposisi minyak atsiri dapat berubah-ubah karena dapat mengalami penyusunan kembali secara intramolekuler (Guenther, 1948).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kadar minyak atsiri daun sirih merah hasil isolasi dengan metode destilasi stahl sebesar 0,27% (v/b), berupa cairan berwarna kuning bening.
2. Identifikasi komponen kimia minyak atsiri daun sirih merah dari hasil analisis KLT diperoleh golongan terpen alkohol dan terpena hidrokarbon, senyawa linalol, pinena dan kariofilen. Hasil analisis data GC-MS menunjukkan terdapat 29 komponen yang terdeteksi dengan 16 komponen yang teridentifikasi, dikelompokkan menjadi golongan monoterpena dan seskuiterpena. Monoterpena meliputi: senyawa α -tuyan (1,54%), α -pinena (1,86%), kamfena (0,30%), sabinena (44,91%), β -pinen (2,72%), β -mirsen (18,88%), α -terpinena (0,44%), limonen (0,83%), γ -terpinena (1,05%), L-linalol (3,19%), 4-terpineol (1,33%), α -terpineol (0,35%). Sedangkan seskuiterpena, meliputi: zingiberen (0,51%), trans-kariofilen (3,04%), β -farnesen (3,13%), germakren D (1,86%).
3. Hasil studi komparatif menunjukkan perbedaan secara kuantitatif dan kualitatif senyawa penyusun minyak atsiri familia Piperaceae. Perbedaan kuantitatif disebabkan antara lain: perbedaan spesies, tempat tumbuh serta waktu pemanenan. Perbedaan kualitatif dapat ditinjau berdasarkan biosintesis minyak atsiri. Minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*), lada (*Piper nigrum*), dan kemukus (*Piper cubeba*) kaya akan senyawa turunan terpena, yakni: monoterpena dan seskuiterpena. Minyak atsiri daun sirih hijau (*Piper betle*) lebih didominasi turunan senyawa fenilpropanoid. Hubungan kekerabatan ditandai adanya senyawa β -pinena, limonen dan kariofilen pada setiap spesies pada familia Piperaceae tersebut.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan percobaan yang telah dilakukan, penulis memberikan saran bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan senyawa aktif minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang berpotensi sebagai obat dengan uji farmakologi.

