

KARAKTERISASI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (PIPER CROCATUM, RUIZ&PAV) SEBAGAI OBAT ANTIDIABETES MENUJU OBAT HERBAL TERSTANDAR

Eka Wisnu Kusuma¹⁾, Disa Andriani²⁾

^{1,2}Prodi S-I Farmasi STIKes Nasional

kusuma.3ka@gmail.com

ABSTRAK

Daun sirih merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) merupakan salah satu tanaman obat potensial yang digunakan masyarakat untuk pengobatan diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas daun sirih merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) menjadi raw material yang memenuhi standar ekstrak tumbuhan obat dalam pemenuhan mutu ekstrak menjadi obat herbal terstandar (OHT) antidiabetes. Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Karakterisasi mengacu pada standarisasi dan analisa data berdasarkan Parameter Ekstrak Tumbuhan Obat (Kepmenkes RI No: 55/Menkes/SK/I/2000) dan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Ekstrak daun sirih merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) memenuhi standar raw material sediaan OHT dengan organoleptis berbentuk serbuk kering, warna coklat tua, bau aromatis, dan memiliki rasa asam sepat pahit. Kadar air(%) $6,795 \pm 0,0017 (\leq 10\%)$. Uji angka lempeng total $0,9 \times 10^2$ koloni/g. Uji kapang khamir 1×10^2 koloni/g. dan pada pengujian cemaran mikroba didalam ekstrak hasilnya negatif. aflatoxin B1 $< 0,23 (\leq 5 \mu\text{g/kg})$, B2 $< 0,19 \mu\text{g/kg}$, G1 $< 0,23 \mu\text{g/kg}$, G2 $< 0,84 \mu\text{g/kg}$ dan aflatoxin total $< 0,84 (\leq 20 \mu\text{g/kg})$. Pada pengujian logam berat didapatkan logam Pb $< 0,165\text{ppm}$, Cd $< 0,159 \text{ppm}$, As $< 0,0217\text{ppm}$ dan Hg $< 0,018\text{ppm}$

Kata kunci: daun sirih merah, standarisasi, diabetes melitus

ABSTRACT

Piper crocatum Ruiz & Pav known as "Daun sirih merah" is one of the potential medicinal plants that used for the treatment of diabetes mellitus. This study aims to improve the quality of red betel leaves (Piper crocatum Ruiz & Pav) into raw materials that meet the standards of medicinal plant extracts in fulfilling the quality of the extract into antidiabetic standardized herbal medicine (OHT). Making extract with maceration method with 96% ethanol as much as 10 L for 3 days. Characterization refers to the standardization and analysis of data based on Parameter of Medicinal Plant Extracts (Kepmenkes RI No: 55 / Menkes / SK / I / 2000) and the Regulation of the Head of BPOM RI Number 12 of 2014 concerning Quality Requirements for Traditional Medicines. Red betel leaf extract (Piper crocatum Ruiz & Pav) meets the standard raw material for OHT preparations with organoleptis in the form of dry powder, dark brown color, aromatic odor, and has a bitter acid taste. Moisture content (%) $6,795 \pm 0,0017 (\leq 10\%)$. Test the total plate number 0.9×10^2 colonies / g. Test of yeasts contamination 1×10^2 colonies / g. The total bacteria test in the extract was negative. The aflatoxin content B1 $< 0,23 (\leq 5 \mu\text{g/kg})$, B2 $< 0,19 \mu\text{g/kg}$, G1 $< 0,23 \mu\text{g/kg}$, G2 $< 0,84 \mu\text{g/kg}$ and total aflatoxin content $< 0,84 (\leq 20 \mu\text{g/kg})$. The heavy metal tests resulted Pb metal of $< 0,165\text{ppm}$, Cd $< 0,159 \text{ppm}$, As $< 0,0217\text{ppm}$ and Hg $< 0,018\text{ppm}$

Keywords: piper crocatum Ruiz & Pav, Standardization, diabetes mellitus

1. PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai kekayaan alam yang luas terutama keanekaragaman hayatinya. Potensi kekayaan ini belum dimanfaatkan secara luas untuk mengembangkan bahan baku obat. Peningkatan mutu obat tradisional memerlukan proses standarisasi. Proses standarisasi adalah proses penting dalam memperoleh senyawa aktif.

Bahan baku obat diperoleh dengan cara dikembangkan melalui fitofarmaka sehingga keamanan dan khasiatnya secara medik dapat dipertanggungjawabkan. Persyaratan mutu obat tradisional merupakan hal yang wajib dipenuhi setiap bahan baku dengan dibuktikan melalui pengujian laboratorium (BPOM RI, 2014).

Tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) merupakan keanekaragaman hayati tanaman yang sering dimanfaatkan masyarakat secara turun temurun untuk berbagai pengobatan seperti diabetes, hepatitis, hipertensi, ambeien, obat sakit gigi dll (Prapti & Puspaningtyas, 2013). Sirih merah melalui mekanisme enzimatik dapat menurunkan glukosa darah (Agustanti, L. 2008). Ekstrak daun sirih merah menunjukkan penurunan kadar glukosa pada tikus putih yang diinduksi aloksan (Dewi, Y, F., Anthara, S, M, Dharmayudha, A, G, O. 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi ilmiah yang berkaitan dengan standarisasi obat herbal khususnya untuk pengobatan diabetes serta memberikan efikasi yang terukur secara farmakologis dan menjamin keamanan konsumen.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas, corong Buchner, vortex, mikropipet, *rotary evaporator*, alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) merk Shimadzu 6650 F, timbangan analitik merk Acis, furnace, oven, inkubator, autoklaf, HPLC Shimadzu LC-10AD No. C20293309457 J2

Daun sirih merah dari Desa Samirono Yogyakarta, air, media *Lactose Broth Single Strength* (LBS), media *Lactose Broth Double Strength* (LBD), media *Brilliant Green Lactosa*

Bile Broth (BGLB), media BPW (*Buffer Pepton Water*), media MC (*Mac Conkey*) dan media BAP (*Blood Agar Plate*), media *Manitol Salt Agar* (MSA), media *Brain Heart Infussion* (BHI) dan Kaldu Pepton Darah (KPD), media *Klinger Iron Agar* (KIA), PAD, SIM, UREA, CITRAT, MR/VP, media gula-gula, Media Uji IMVIC, KOH, Barlic, Kovac, FeCl₃, Metil red, Media NA miring, Cat Gram A, B, C dan D. larutan standar Cd²⁺ 1000 ppm, larutan standar Pb²⁺ 1000 ppm, larutan standar As²⁺ 1000 ppm, larutan standar Hg²⁺ 1000 ppm larutan HNO₃ pekat, larutan HClO₄, aquabidest, larutan HCl, 2N, larutan Na₂S, larutan HNO₃ 2N, larutan KI, larutan ditizon 0,005% b/v, larutan NH₄OH 1N, kristal KCN, larutan HNO₃ 0,5M

Cara Kerja

a. Preparasi Sampel

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian adalah daun sirih merah berasal dari Samirono, Yogyakarta. Pada tahap persiapan sampel, daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dicuci kemudian dikeringkan. Setelah tahap sortasi kering simplisia digiling dengan mesin penggiling dan diayak dengan ayakan mesh 40, kemudian disimpan dalam tempat kering dan tertutup rapat. Ekstraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebanyak 2000 gram dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L selama 3 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental dan kemudian dipanaskan diatas waterbath untuk mendapatkan ekstrak kering.

b. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, rasa, bau dan warna ekstrak etanol daun sirih merah

c. Uji Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri, sampel ditimbang sebanyak 2 gram ekstrak kering daun sirih merah kemudian dilakukan *moisture balance*.

d. Uji Cemaran mikroba

- 1) Uji Angka Lempeng Total
Sebanyak 1 ml dipipet dari tiap pengenceran ke dalam cawan petri. Tiap cawan petri dituangkan 15 mL media NA cair. Setelah dituangi media NA segera cawan petri digoyang dan diputar membentuk angka delapan atau sedemikian hingga suspensi tersebut merata. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu 35-37° C selama 24-48 jam dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.
- 2) Uji Kapang Khamir
Dipipet masing-masing pengenceran dipipet 1,0 ml, dituangkan pada media PDA segera digoyangkan sambil diputar agar suspensi tersebar merata, setelah memadat seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 5-7 hari dan dicatat jumlah koloni jamur yang tumbuh.
- 3) Identifikasi Mikroba Patogen
Sedikit ekstrak ditambah NaCl 0,9% steril kemudian dihomogenkan. Ambil masing-masing 1 ohse dari biakan masukkan dalam media penyubur BHI, KPD dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian digoreskan pada media selektif(MC untuk *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* dan BAP untuk *Staphylococcus aureus*). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lihat pertumbuhan koloni bakteri bandingkan dengan kontrol.

e. Uji Aflatoksin

Analisis kuantitatif dilakukan dengan HPLC Kolom C18 Inertsil, (150 mm x 4,5 mm), 5 µm, panjang gelombang eksitasi 365 nm, panjang gelombang emisi 450 nm, fase gerak: Aquabidest:Asetonitril: Metanol 600:100:300. Nilai Rf (*Rate of flow*) dari fluoresensi bercak sampel dan standar dibandingkan.

f. Uji cemaran logam Pb, Cd, As dan Hg

Penetapan kadar Timbal (Pb), Kadmium (Cd), Arsen (As) dan Merkuri(Hg) dengan

menggunakan alat *Atomic Absorption Spectrophotometer*. Penetapan kadar keempat logam berat dilakukan dengan cara digesti basah berdasarkan cara kerja penetapan batas angka logam cemaran yang tercantum dalam aturan BPOM tentang persyaratan mutu obat tradisional.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, di gunakan sampel daun sirih merah yang telah dibuktikan kebenaran identitasnya. Determinasi dilakukan di Materia Medika Batu Malang. Kebenaran identitas sampel dibuktikan dengan hasil determinasi yang menyatakan bahwa sampel yang digunakan merupakan daun sirih merah



Gambar 1. Daun sirih merah



Gambar 2. Hasil ekstraksi daun sirih merah

Penetapan Organoleptik

Penetapan organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk fisik dari ekstrak daun sirih merah yang bertujuan sebagai pengenalan awal menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2000). Daun sirih merah tumbuhnya merambat dengan batang bulat hijau keunguan, tidak memiliki bunga, daunnya bertangkai membentuk jantung hati dan bagian atasnya meruncing serta permukaan daunnya keperakan dan mengkilap (sudewo, 2005). Ekstrak etanol daun sirih merah secara organoleptik adalah ekstrak kental,

berwarna hijau tua, bau khas daun, dengan rasa pahit pedas.

Penetapan kadar air

Prinsip dari penentuan kadar air yaitu menguapkan air dengan pembawa cairan kimia yang mempunyai titik didih lebih tinggi daripada air dan tidak dapat bercampur dengan air. Kadar air dalam sediaan obat tradisional termasuk ekstrak tidak boleh melebihi batas 10 % (Depkes RI, 1994). Lihat tabel 1

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar Air

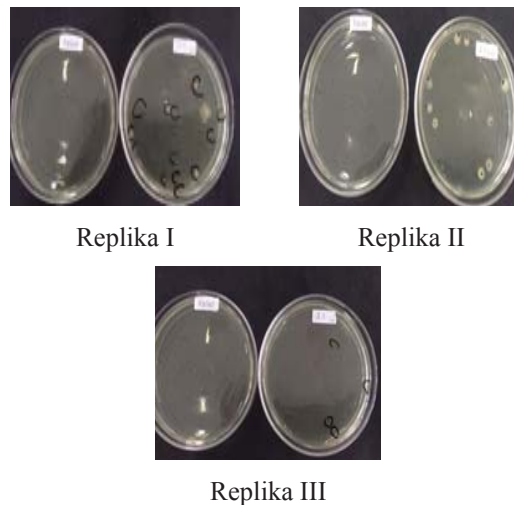
Replikasi	Persentase	Referensi MMI
I	6,793	
II	6,796	
III	6,796	
Rata-rata	6,795	Tidak lebih dari 10%

Penetapan Cemaran mikroba

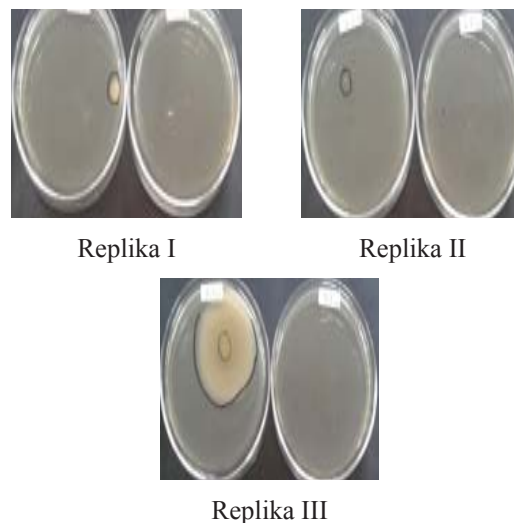
Pengujian cemaran bakteri ini termasuk pada salah satu pengujian kemurnian ekstrak. Uji ini mencakup penentuan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan dan untuk menunjukkan tidak adanya bakteri tertentu didalam ekstrak. Pada ekstrak cemaran bakteri tidak ditemukan, dimana didalam ekstrak mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri yang berfungsi sebagai antibakteri (Juliantina *et al.*, 2009). Pengujian angka lempeng total didapatkan hasil $0,9 \times 10^2$ koloni/g ($< 10^4$ koloni/g) dan Uji kapang khamir 1×10^2 koloni/g ($< 10^3$ koloni/g) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah yang dihasilkan memenuhi persyaratan angka lempeng total dan angka khamir yang ditetapkan oleh Kepmenkes RI No: 55/Menkes/SK/I/2000 dan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.

Tabel 2. Hasil rata-rata ALT dan kapang Khamir

Pengujian	$\bar{x} \pm SD$
Angka Lempeng total	$0,9 \times 10^2 \pm 5 \times 10^{-3}$ koloni/gram
Angka kapang khamir	$1,0 \times 10^1 \pm 1 \times 10^{-2}$ koloni/gram



Gambar 3. Angka lempeng total



Gambar 4. Angka kapang khamir

Penetapan kadar aflatoksin

Aflatoksin adalah mikotoksin yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* (IARC 2002). Kapang tersebut dapat mengontaminasi ekstrak dan akan menghasilkan toksin berupa aflatoksin B1, B2, G1, dan G2 (Syarif *et al.* 2003). Jenis yang paling berbahaya dari keempat jenis aflatoksin tersebut ialah aflatoksin B1. Kandungan aflatoksin yang lebih rendah bersifat kronis dan dapat menyebabkan kanker hati sedangkan kandungan yang tinggi bersifat akut dan berpengaruh terhadap kerusakan berbagai jaringan tubuh manusia dan hewan (Kuniholm, M. H., Lesi, O. A., Mendy, M., Akano, A.

O., Sam, O., Hall, A. J., ... & Kirk, G. D., 2008). Makanan yang terkontaminasi aflatoxin akan mengakibatkan kerusakan hati dan kanker hati apabila dikonsumsi secara terus menerus (Syarief, R., Ega, L., & Nurwitri, C. C. , 2003).

Uji aflatoxin dilakukan untuk menjamin ekstrak tidak mengandung cemaran aflatoxin yang dapat menyebabkan ketoksikan. Cemaran aflatoxin dapat menyebabkan mutagenik (mutasi gen), teratogenik (menghambat pertumbuhan janin) dan karsinogenik (menimbulkan kanker pada jaringan). Adanya cemaran aflatoxin pada ekstrak dapat membahayakan kesehatan (Khoirani, 2013). Hasil uji Aflatoksin total (aflatoksin B1, B2, G1 dan G2) menunjukkan < 0,84 µg/kg dan aflatoksin B1 menunjukkan hasil < 0,23 µg/kg, hasil uji tersebut memenuhi kadar aflatoksin total (aflatoksin B1, B2, G1 dan G2) ≤ 20 µg/kg dan aflatoksin B1 ≤ 5 µg/kg sehingga ekstrak etanol daun sirih memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Hasil Uji dapat dilihat pada tabel III.

Tabel 3. Hasil Uji Aflatoksin

No	Parameter Uji	Hasil	Persyaratan
1	Aflatoksin B1	< 0,23 µg/kg	≤ 5 µg/kg Memenuhi
2	Aflatoksin B2	< 0,19 µg/kg	-
3	Aflatoksin G1	< 0,23 µg/kg	-
4	Aflatoksin G2	< 0,19 µg/kg	-
5	Aflatoksin total	< 0,84 µg/kg	≤ 20 µg/kg Memenuhi

Penetapan cemaran logam berat

Penetapan kadar logam berat ini dilakukan menggunakan *Atomic Absorbtion Spectroscopy* (AAS). Standardisasi parameter non spesifik ekstrak etanol daun sirih merah dilakukan untuk menetapkan batas maksimal material berbahaya dan bersifat toksik bagi kesehatan seperti logam berat Pb, Cd, As, dan Hg yang diperbolehkan dalam ekstrak. Oleh karena itu pengujian logam berat sangat penting dilakukan dalam

standardisasi ekstrak tanaman obat (Menteri Kesehatan, R. I. 2009).

Timbal adalah logam yang bersifat toksik terhadap manusia. Logam ini berasal dari makanan dan minuman yang terkontaminasi Pb, debu yang tercemar Pb, kontak dengan kulit, mata, melalui parenteral atau melalui inhalasi dari udara (Widowati, W., Sastiono, A., & Jusuf, R. 2008). Kadmium adalah logam yang sangat toksik dengan waktu paruh yang cukup lama. Pada orang dewasa, kadmium dapat menyebabkan kanker payudara, kegagalan reproduksi, penyakit kardiovaskuler atau paru-paru, bahkan dapat menyebabkan kemandulan.(Istarani, F. F., & Pandebesie, E. S. 2014). Arsen adalah salah satu logam toksik yang sering diklasifikasikan sebagai logam, tetapi lebih bersifat nonlogam. Gejala keracunan arsenik ringan dimulai dengan sakit kepala, jika tidak diobati akan mengakibatkan kematian(Darmono, 2009). Merkuri adalah logam berat yang mempunyai efek toksik dimana dapat menyerang sistem saraf pusat dan dapat menyerang ginjal (Alfian, Z. 2006).

Berdasarkan paparan tentang bahaya logam-logam berat tersebut ekstrak harus memenuhi batas persyaratan cemaran yang telah ditetapkan. Hasil uji cemaran logam berat (Pb, Cd, As, dan Hg) ekstrak etanol daun sirih menggunakan metode *Atomic Absorbtion Spectroscopy* (AAS) dapat dilihat pada tabel IV.

Tabel 4. Hasil Uji Cemaran Logam Berat

No	Parameter Uji	Hasil	Persyaratan
1	Timbal (Pb)	< 0,165 mg/kg	≤ 10 mg/kg Memenuhi
2	Kadmium (Cd)	< 0,159 mg/kg	≤ 0,3 mg/kg Memenuhi
3	Arsen (As)	< 0,0217 mg/kg	≤ 5 mg/kg Memenuhi
4	Air raksa (Hg)	< 0,018 mg/kg	≤ 0,5 mg/kg Memenuhi

Hasil uji cemaran logam berat, ekstrak etanol daun sirih merah masih dibawah batas maksimal yang diperbolehkan oleh pemerintah yaitu untuk timbal ≤ 10 mg/kg, kadmium ≤ 0,3 mg/kg, arsen ≤ 5 mg/kg, air raksa ≤ 0,5 mg/kg.

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah aman digunakan karena cemaran logam beratnya termasuk kategori aman

5. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memenuhi persyaratan berdasarkan Parameter Ekstrak Tumbuhan Obat (Kepmenkes RI No: 55/Menkes/SK/I/2000) dan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustanti, L. 2008. *Potensi Daun Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai Aktivator Enzim Glukosa Oksidase*. Skripsi. IPB. Bogor, 33
- Alfian, Z. 2006. *Merkuri: Antara manfaat dan efek penggunaannya bagi kesehatan manusia dan lingkungan*. Available: <http://library.usu.ac.id/download/e-book/zul%20alfian.pdf>. 10Agustus2018.
- Bambang Sudewo. 2005. *Jenis-jenis Sirih Berkhasiat Obat*. *Trubus No. 278 Th. XXIV*
- BPOM RI. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Indonesia*, p. 1–25
- Darmono, 2009. *Farmasi Forensik Dan Toksikologi*. Jakarta: UI Press
- Depkes RI. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Cetakan Pertama*. Jakarta. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan
- Depkes RI. 1999. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dewi, Y. F., Anthara, S, M, Dharmayudha, A, G, O. 2014. Efektifitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi alloxan. *Bulletin veteriner udayana ISSN : 2085-2495: Vol. 6 No. 1*
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization, & International Agency for Research on Cancer. 2002. *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene (No. 82)*. World Health Organization
- Istarani, F. F., & Pandebesie, E. S. 2014. Studi dampak arsen (As) dan kadmium (Cd) terhadap penurunan kualitas lingkungan. *Jurnal Teknik ITS, 3(1)*, D53-D58. Januari 1993. Bandung
- Juliantina, F., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. 2009. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia, 1(1)*, 12-20.
- Khoirani N. 2013. *Karakterisasi Simplisia dan Standarisasi Ektrak Etanol Herba Kemangi (Ocimum americanumL)*. Skripsi. Program Studi Farmasi, Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, 45.
- Kuniholm, M. H., Lesi, O. A., Mendy, M., Akano, A. O., Sam, O., Hall, A. J., & Kirk, G. D. 2008. Aflatoxin exposure and viral hepatitis in the etiology of liver cirrhosis in the Gambia, West Africa. *Environmental health perspectives, 116(11)*, 1553.
- Menteri Kesehatan, R. I. 2009. *Kepmenkes RI No. 261 Tahun 2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia. ed I*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia. hal, 170-171.
- Prapti, U. dan Puspaningtyas, D.E. 2013. *The Miracles of Herbs*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Syarief, R., Ega, L., & Nurwitri, C. C. 2003. *Mikotoksin bahan pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Press
- Widowati, W., Sastiono, A., & Jusuf, R. 2008. *Efek Toksik Logam: Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran*. Yogyakarta: Penerbit Andi. hlm 2-206