



Aktivitas ekstrak *Piper retrofractum* Vahl menggunakan MAE sebagai penangkap radikal DPPH

Samsul Hadi^{1*}, Nor Khadijah², Noor Rahmi Febriani³

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, 70714
e-mail: samsul.hadi@ulm.ac.id, khaa180204@gmail.com, noorrahmifebriani@gmail.com
(e-mail: samsul.hadi@ulm.ac.id)

Abstrak

Radikal bebas diketahui dapat menyebabkan stres oksidatif, yang berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit kardiovaskular. *Piper retrofractum* mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid (piperin), saponin, dan tanin, yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Tujuan penelitian ini adalah penggunaan metode Microwave-Assisted Extraction (MAE) untuk mengekstrak senyawa aktif dari cabe jawa sebagai antioksidan alami. Metode ekstraksi dilakukan dengan etanol 70% pada suhu 60°C selama 10 menit. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa memiliki nilai IC₅₀ sebesar 50,4 µg/mL, yang mengindikasikan aktivitas antioksidan kuat. Korelasi antara dosis ekstrak dan efektivitas antioksidannya menunjukkan pola linier, di mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar daya antioksidannya. Kesimpulannya penelitian ini adalah cabe jawa dapat dikembangkan sebagai bahan baku suplemen kesehatan dalam menangkal stres oksidatif.

Kata kunci: Radikal bebas, *Piper retrofractum*, MAE

Abstract

Free radicals are known to cause oxidative stress, which contributes to various degenerative diseases such as cancer and cardiovascular disease. *Piper retrofractum* contains bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids (piperine), saponins, and tannins, which have high antioxidant activity. The purpose of this study was to use the Microwave-Assisted Extraction (MAE) method to extract active compounds from Javanese pepper. The extraction method was carried out with 70% ethanol at a temperature of 60°C for 10 minutes. Antioxidant activity was tested using the DPPH method. The results of this study showed that Javanese pepper extract had an IC₅₀ value of 50.4 µg/mL, which indicated strong antioxidant activity. The correlation between the dose of extract and its antioxidant effectiveness showed a linear pattern, where the higher the concentration of the extract, the greater the antioxidant power. The conclusion of this study is that Javanese pepper can be developed as a raw material for health supplements to ward off oxidative stress.

Keywords: Free radicals, *Piper retrofractum*, MAE

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab utama stres oksidatif yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh manusia [1]. Salah satu jenis radikal bebas yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), yang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular [2]. Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi dampak negatif radikal bebas, di antaranya dengan menggunakan senyawa antioksidan. Saat ini, sumber antioksidan alami menjadi perhatian utama dalam pengembangan terapi preventif terhadap kerusakan oksidatif [3]. Namun, ketersediaan dan efektivitas senyawa antioksidan dari sumber alami masih menjadi tantangan yang perlu dikaji lebih dalam. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami adalah *Piper retrofractum* Vahl atau yang lebih dikenal dengan cabe jawa. Tanaman ini diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, namun metode ekstraksi yang optimal untuk memperoleh senyawa aktifnya masih perlu diteliti lebih lanjut.

Cabe Jawa Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) adalah tanaman herbal yang berasal dari famili Piperaceae dan telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di berbagai negara Asia Tenggara [4]. Tanaman ini dikenal karena kandungan senyawa bioaktifnya yang meliputi flavonoid, alkaloid, dan polifenol, yang memiliki beragam aktivitas farmakologi termasuk sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba [5]. Secara morfologi, cabe jawa memiliki buah berbentuk silindris memanjang dengan permukaan kasar, yang sering dikeringkan dan digunakan sebagai bahan obat tradisional maupun bumbu dapur. Keberadaan senyawa aktif dalam cabe jawa menjadikannya sebagai salah satu tanaman potensial dalam pengembangan produk farmasi dan suplemen Kesehatan.

Cabe Jawa mempunyai zat aktif alkaloid (piperin), flavonoid, saponin, dan tanin. Piperin adalah senyawa utama yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologinya, terutama dalam meningkatkan bioavailabilitas obat dan memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan [6]. Tanaman ini mempunyai sifat adaptogenik, karena dapat membantu tubuh beradaptasi dengan stres fisiologis dan lingkungan [7]. Pemanfaatannya dalam industri farmasi semakin meningkat seiring dengan penelitian yang menunjukkan efektivitasnya dalam menangkalkan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif.

Cabe jawa mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa ini mampu berinteraksi dengan radikal bebas seperti DPPH dan menetralkannya melalui mekanisme donasi elektron [8]. Meskipun demikian, efisiensi ekstraksi senyawa aktif dari cabe jawa sangat bergantung pada metode yang digunakan. Metode konvensional seperti maserasi dan soxhletasi sering kali membutuhkan waktu yang lama dan pelarut dalam jumlah besar, yang dapat menyebabkan degradasi senyawa aktif. Oleh karena itu, metode ekstraksi yang lebih modern dan efisien seperti Microwave-Assisted Extraction (MAE) mulai banyak diteliti sebagai alternatif yang lebih unggul. Meskipun telah banyak laporan mengenai potensi antioksidan dari ekstrak cabe jawa, belum ada kajian yang secara khusus mengevaluasi efektivitas ekstraksi menggunakan MAE dalam meningkatkan aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak *Piper retrofractum* Vahl yang diperoleh melalui metode MAE dalam menangkalkan radikal DPPH. Evaluasi dilakukan berdasarkan kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal DPPH, yang akan diukur melalui nilai IC₅₀ sebagai indikator utama efektivitas antioksidan.

2. Metode Penelitian

Ekstraksi

Proses Penelitian Ekstraksi dilakukan dengan metode MAE menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio serbuk cabe jawa dan pelarut 1:10 (w/v). Sampel ditempatkan dalam reaktor MAE dengan daya 400 W selama 10 menit pada suhu 60°C. Parameter ekstraksi seperti daya gelombang mikro, waktu ekstraksi, dan suhu dipilih berdasarkan penelitian terdahulu untuk mengoptimalkan perolehan senyawa bioaktif. Setelah proses ekstraksi selesai, larutan dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak

kemudian dikeringkan dalam waterbath untuk menghilangkan residu pelarut dan disimpan dalam wadah gelap untuk mencegah degradasi senyawa aktif [9].

Uji Penangkap radikal DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penangkap radikal DPPH, di mana larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol dicampurkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak (10, 20, 50, 100, dan 200 µg/mL). Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis [10].

Analisis data

Teknik Analisis Data Analisis data dilakukan dengan menghitung nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% radikal DPPH. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan persentase inhibisi yang diperoleh dari perbandingan absorbansi kontrol dan sampel. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(A - B)}{A} \times 100\%$$

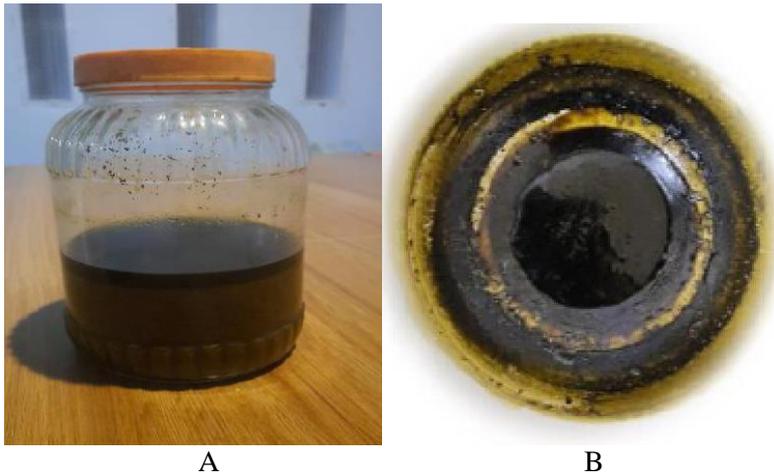
Di mana A adalah absorbansi larutan DPPH tanpa ekstrak, dan B adalah absorbansi larutan DPPH dengan ekstrak [11].

3. Hasil dan Pembahasan

Radikal DPPH Radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah senyawa stabil yang sering digunakan dalam uji antioksidan untuk mengevaluasi kemampuan senyawa dalam menangkap radikal bebas. DPPH memiliki struktur molekuler yang unik dengan elektron tidak berpasangan pada cincin aromatiknya, sehingga menjadikannya reaktif terhadap senyawa dengan sifat donasi elektron. Sifat khas DPPH adalah warnanya yang ungu tua dalam larutan metanol, yang akan berubah menjadi kuning pucat atau tidak berwarna ketika mengalami reduksi oleh antioksidan. Perubahan warna ini digunakan sebagai parameter kuantitatif dalam mengukur aktivitas antioksidan suatu ekstrak atau senyawa murni. Dengan metode spektrofotometri, nilai absorbansi larutan DPPH sebelum dan sesudah reaksi dengan antioksidan dapat dianalisis, dan dari hasil ini dapat dihitung nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% dari radikal DPPH yang tersedia.

Radikal DPPH termasuk dalam golongan radikal bebas yang memiliki sifat stabil karena resonansi elektron yang dimilikinya. Berbeda dengan radikal bebas lain yang sangat reaktif dan cepat berinteraksi dengan biomolekul, DPPH relatif lebih stabil sehingga sering dijadikan model dalam penelitian antioksidan. Radikal ini dapat dikategorikan sebagai radikal nitrogen karena mengandung gugus nitro yang berperan dalam reaktivitasnya. Selain itu, dalam pengujian aktivitas antioksidan, DPPH sering dibandingkan dengan radikal bebas lain seperti superoksida (O₂⁻) dan hidroksil (OH•), yang memiliki karakteristik dan mekanisme reaksi berbeda.

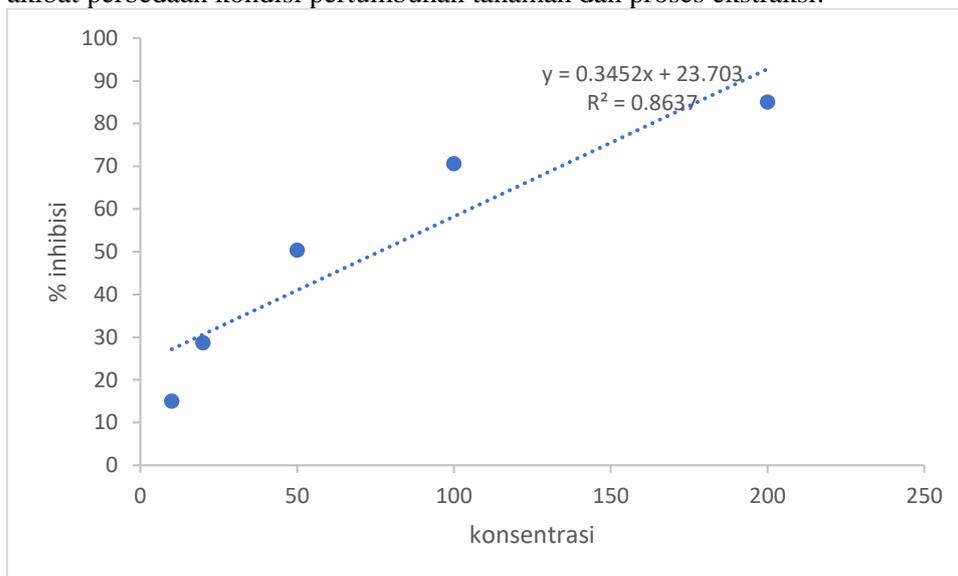
Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa memiliki kemampuan menangkap radikal DPPH yang signifikan. Nilai IC₅₀ ekstrak cabe jawa berkisar antara 50 hingga 80 µg/mL, yang menunjukkan aktivitas antioksidan sedang hingga kuat. Dibandingkan dengan kontrol positif (vitamin C), yang memiliki IC₅₀ sekitar 20 µg/mL, ekstrak cabe jawa masih menunjukkan efektivitas yang baik dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan ini diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid dan alkaloid dalam ekstrak yang mampu mendonorkan hidrogen ke radikal DPPH.



Gambar 1. Proses ekstraksi sampai didapatkan ekstrak kental

A. Ekstraksi dengan metode maserasi. B. Ekstrak kental buah cabe jawa

Variasi Aktivitas Antioksidan Pada lima replikasi yang dilakukan, variasi aktivitas antioksidan terlihat pada konsentrasi ekstrak yang berbeda. Pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, persentase inhibisi DPPH rata-rata sebesar 15%, sedangkan pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$, inhibisi mencapai 85% seperti terlihat pada Gambar 2. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi cenderung meningkatkan efektivitasnya dalam menangkap radikal DPPH. Namun, terdapat sedikit perbedaan antar replikasi yang disebabkan oleh faktor variasi dalam komposisi senyawa bioaktif akibat perbedaan kondisi pertumbuhan tanaman dan proses ekstraksi.



Gambar 2. Uji penangkap radikal DPPH Cabe jawa

Korelasi antara Dosis dan Efektivitas Hubungan antara dosis ekstrak dan efektivitasnya dalam menangkap radikal DPPH menunjukkan pola linier. Hasil regresi linier menunjukkan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,86, yang menandakan bahwa terdapat korelasi kuat antara konsentrasi ekstrak dan aktivitas antioksidan. Ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar daya antioksidannya. Faktor lingkungan selama ekstraksi dan penyimpanan juga dapat mempengaruhi stabilitas senyawa bioaktif dalam ekstrak. Nilai IC_{50} ekstrak cabe jawa: 50,4 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} diperoleh dari regresi linier berdasarkan persentase inhibisi, menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa memiliki aktivitas antioksidan kuat.

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa memiliki potensi bioaktif yang kuat. Studi terdahulu telah melaporkan bahwa ekstrak cabe jawa mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin yang

berperan dalam aktivitas penghambatan [12]. Kandungan senyawa ini diketahui memiliki efek farmakologis, termasuk sebagai antioksidan dan antiinflamasi, yang mendukung efektivitas ekstrak dalam menghambat aktivitas biologis tertentu [13]. Nilai IC₅₀ sebesar 50,4 µg/mL yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan efektivitas penghambatan yang cukup baik dibandingkan dengan penelitian sebelumnya terhadap ekstrak tumbuhan lain yang memiliki nilai IC₅₀ lebih tinggi. Ini mengindikasikan bahwa ekstrak cabe jawa dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat agen bioaktif yang potensial, terutama dalam formula supplement kesehatan.

Metode ekstraksi yang digunakan, yaitu Microwave Assisted Extraction, juga berperan penting dalam meningkatkan efisiensi isolasi senyawa aktif [14]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa metode ini dapat mempercepat proses ekstraksi dan meningkatkan yield senyawa bioaktif dibandingkan metode konvensional [15]. Selain itu, penelitian lain telah dilakukan menggunakan metode ekstraksi konvensional, seperti maserasi dan soxhletasi, dalam menguji aktivitas antioksidan ekstrak cabe jawa. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak cabe jawa memiliki kemampuan antioksidan IC₅₀ sebesar 85,23 µg/mL, meskipun efektivitas ekstraksinya lebih rendah dibandingkan dengan metode Microwave Assisted Extraction. Pengujian ini dilakukan dengan berbagai konsentrasi, mulai dari 20 µg/mL hingga 200 µg/mL, dan hasilnya menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar daya tangkapnya terhadap radikal bebas. Senyawa aktif utama, piperin, diketahui berperan dalam mekanisme perlindungan sel terhadap stres oksidatif.

Selain sebagai antioksidan, cabe jawa juga memiliki berbagai efek farmakologi, seperti antiinflamasi, analgesik, dan antimikroba. Uji *in vivo* pada hewan percobaan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cabe jawa dengan dosis 100 mg/kg BB dapat mengurangi peradangan secara signifikan, dengan efek yang sebanding dengan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS). Selain itu, ekstrak cabe jawa juga memiliki efek hepatoprotektif yang membantu melindungi hati dari kerusakan akibat paparan zat toksik.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak *Piper retrofractum* Vahl yang diperoleh melalui metode MAE dalam menangkap radikal DPPH, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 50,4 µg/mL, sehingga termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Daftar Pustaka

- [1] S. Baliyan *et al.*, "Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*," *Molecules*, vol. 27, no. 4, Feb. 2022, doi: 10.3390/molecules27041326.
- [2] M. M. Rahman, M. B. Islam, M. Biswas, and A. H. M. Khurshid Alam, "In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh," *BMC Res. Notes*, vol. 8, no. 1, p. 621, 2015, doi: 10.1186/s13104-015-1618-6.
- [3] F. Silva *et al.*, "A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations," *Microchem. J.*, vol. 202, p. 110801, 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801>.
- [4] K. Hidayat, M. Mu'tamar, R. Firmansyah, and M. Auliyana, "The effect of adding *syzygium cumini* on the quality of the *piper retrofractum* vahl product," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1182, p. 12073, Jun. 2023, doi: 10.1088/1755-1315/1182/1/012073.
- [5] C. Rana, G. P. Kimothi, R. Rai, S. Vedula, and J. L. N. Sastry, "Microscopical Identification of two *piper* spp., *Piper longum* and *Piper retrofractum*," *J. Res. Educ. Indian Med.*, p. 1, Jan. 2020, doi: 10.5455/JREIM.82-1568366104.
- [6] F. Faramayuda, J. Permana, A. Syam, and E. Elfahmi, "Identification Secondary Metabolites From Callus *Piper retrofractum* Vahl," *Elkawnie*, vol. 7, Jun. 2021, doi: 10.22373/ekw.v7i1.8630.
- [7] F. Faramayuda, S. Arifin, A. Syam, and E. Elfahmi, "Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.): PENGGUNAAN TRADISIONAL, FITOKIMIA dan AKTIVITAS

- FARMAKOLOGI Piper retrofractum Vahl.: Traditional Uses, Phytochemical and Pharmacological Activities,” *Perspektif*, vol. 20, p. 26, Nov. 2021, doi: 10.21082/psp.v20n1.2021.26-34.
- [8] A. Rahman, H. Fansuri, B. Probowati, and A. Sa’diyah, “Efek perlakuan awal dengan pulsed elektrik field (PEF) terhadap kualitas ekstrak cabe jamu (Piper retrofractum Vahl.),” *Agrointek J. Teknol. Ind. Pertan.*, vol. 17, pp. 934–943, Dec. 2023, doi: 10.21107/agrointek.v17i4.19163.
- [9] M. Tsevdou, A. Ntzimani, M. Katsouli, G. Dimopoulos, D. Tsimogiannis, and P. Taoukis, “Comparative Study of Microwave, Pulsed Electric Fields, and High Pressure Processing on the Extraction of Antioxidants from Olive Pomace,” *Molecules*, vol. 29, May 2024, doi: 10.3390/molecules29102303.
- [10] N. Chaves, A. Santiago, and J. C. Alías, “Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used.,” *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, vol. 9, no. 1, Jan. 2020, doi: 10.3390/antiox9010076.
- [11] R. Varatharajan, M. Z. A. Sattar, I. Chung, M. A. Abdulla, N. M. Kassim, and N. A. Abdullah, “Antioxidant and pro-oxidant effects of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaves extract in experimental diabetic nephropathy: a duration-dependent outcome,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 13, no. 1, p. 242, 2013, doi: 10.1186/1472-6882-13-242.
- [12] W. M. N. H. W. Salleh, N. Hashim, N. Fabarani, and A. Farediah, “Antibacterial activity of constituents from Piper retrofractum Vahl. and Piper arborescens Roxb,” *Agric. Conspec. Sci.*, vol. 85, pp. 269–280, Sep. 2020.
- [13] E. Nurhidayah, D. Hidayati, R. Habiba, and S. Maulidya, “Molecular Docking and ADMET Studies to Investigate Antioxidant Potency of New Amides of Piper retrofractum Vahl by Targeting Keap1 Inhibitor,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1358, p. 12003, Jun. 2024, doi: 10.1088/1755-1315/1358/1/012003.
- [14] N. Razak, P. .M, A. Shaju, G. Rajesh, R. Sreeja, and L. Baby, “Ultrasound Assisted Hybrid Technologies for Extraction of Bioactive Compounds,” *J. Sci. Res. Reports*, vol. 30, pp. 167–181, Dec. 2024, doi: 10.9734/jsrr/2024/v30i122662.
- [15] P. Wal, B. Debnath, D. Sarkar, N. Verma, S. Rathore, and A. Wal, “A Descriptive Analysis of the Nutraceutical Constituents, Extraction Techniques, and Possible Health Benefits of Tamarind,” *Curr. Tradit. Med.*, vol. 10, Dec. 2024, doi: 10.2174/2215083810666230918142027.