



Penetapan Kadar Beta Karoten pada Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Berdasarkan Ketinggian Tempat Tumbuh

Dedi Nofiandi^{1*}, Hazli Nurdin², Sulha Ananda Putri³

¹⁻³Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Indonesia

*Penulis Korespondensi: dedinofiandi@gmail.com

Abstract. Research has been conducted on determining beta carotene levels in green betel leaves (*Piper betle L.*) based on the altitude at which they grow. The purpose of this study was to determine the levels and differences in beta carotene levels in green betel leaves based on the altitude where it grows. This research consists of qualitative analysis and quantitative analysis. Qualitative analysis with thin layer chromatography and phytochemical screening tests on the extract, while quantitative analysis with UV-Visible spectrophotometry. The results of qualitative analysis with thin layer chromatography showed that green betel leaf extract contains beta carotene compounds obtained Rf value 0.48 and pure beta carotene Rf value 0.48. Other qualitative analysis with phytochemical screening tests on the three sample acetone extracts originating from the Alahan Panjang, Solok and Pasir Jambak areas contained terpenoid, phenolic, flavonoid compounds and did not contain saponin and alkaloid compounds. The results of quantitative analysis obtained the maximum absorption wavelength of beta carotene is 481 nm with the average beta carotene content in green betel leaves of Alahan Panjang, Paninggahan, Solok Regency, and Pasir Jambak respectively, namely 113.845 mg/100 g, 129.98 mg/100 g, and 7.530 mg/100 g. Data analysis using the One Way Anova test (SPSS 31.0) showed a significant effect of the height of the growing area on the beta carotene content of green betel leaves ($P < 0.05$).

Keywords: Altitude; Beta Carotene; Determination of Content; Green Betel Leaves; *Piper Betle L.*

Abstrak. Telah dilakukan penelitian tentang penetapan kadar beta karoten pada daun sirih hijau (*Piper betle L.*) berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar serta perbedaan kadar beta karoten pada daun sirih hijau berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya. Penelitian ini terdiri dari analisa kualitatif dan analisa kuantitatif. Analisa kualitatif dengan kromatografi lapis tipis dan uji skrining fitokimia pada ekstrak, sedangkan analisa kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Visibel. Hasil analisa kualitatif dengan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa beta karoten diperoleh nilai Rf 0,48 dan nilai Rf beta karoten murni 0,48. Analisa kualitatif lainnya dengan uji skrining fitokimia pada ketiga ekstrak aseton sampel yang berasal dari daerah Alahan Panjang, Solok dan Pasir Jambak mengandung senyawa terpenoid, fenolik, flavonoid dan tidak mengandung senyawa saponin dan alkaloid. Hasil analisa kuantitatif diperoleh panjang gelombang serapan maksimum beta karoten yaitu 481 nm dengan kadar rata-rata beta karoten pada daun sirih hijau Alahan Panjang, Paninggahan Kabupaten Solok, dan Pasir Jambak secara berturut-turut yaitu 113,845 mg/100 g, 129,98 mg/100 g, dan 7,530 mg/100 g. Analisis data menggunakan uji One Way Anova (SPSS 31,0) menunjukkan adanya pengaruh ketinggian tempat tumbuh yang signifikan terhadap kadar beta karoten daun sirih hijau ($P < 0,05$).

Kata kunci: Beta Karoten; Daun Sirih Hijau; *Piper Betle L.*; Ketinggian Tempat Tumbuh; Penetapan Kadar.

1. LATAR BELAKANG

Komponen fitokimia seperti beta karoten yang terkandung dalam tumbuhan dipengaruhi oleh berbagai faktor alam seperti iklim, intensitas cahaya, unsur hara tanah, suhu, kisaran pH tanah, kelembaban tanah, jenis tanah, dan curah hujan (Depkes, RI 2000). Menurut (Utomo *et al.* 2020) bahwa ketinggian tempat tumbuh merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi metabolisme suatu tumbuhan. Pada daerah pesisir dan daerah pegunungan mempunyai perbedaan faktor lingkungan. Perbedaan ini akan menyebabkan proses metabolisme pada suatu tanaman akan berbeda-beda.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Yulianto *et al.* (2023) tentang perbandingan kadar klorofil dan karotenoid daun sirih hijau menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis menyatakan bahwa daun sirih hijau memiliki kadar klorofil sebesar 11,40 mg/L. Sedangkan kadar karotenoid daun sirih hijau sebesar 1,957 mg/L.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian tentang penetapan kadar beta karoten pada daun sirih hijau berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya yang diambil di Alahan Panjang dengan ketinggian ± 1.303 mdpl, Paninggahan Kabupaten Solok dengan ketinggian ± 438 mdpl, dan Pasir Jambak dengan ketinggian ± 7 mdpl dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel.

2. KAJIAN TEORITIS

Tumbuhan merupakan bagian penting dalam kehidupan manusia, terutama sebagai sumber pangan dan obat-obatan. Tumbuhan memiliki efek antibakteri secara empiris dan secara tradisional yang telah banyak digunakan sebagai terapi. Indonesia merupakan negara tropis dengan beragam jenis flora yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional (Su *et al.* 2008). Salah satu tumbuhan tersebut adalah sirih hijau (*Piper betle L.*).

Sirih hijau banyak ditemukan di seluruh Indonesia dan sering terlihat di lingkungan sekitar. Tanaman ini banyak hidup di kawasan yang lembab dengan tanah yang subur. Tempat tumbuh sirih hijau yang cocok yaitu pada ketinggian sekitar 200-1.000 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan 2.250-4.750 mm (Dalimartha, 2008). Daun sirih hijau digunakan sebagai obat sariawan, sakit tenggorokan, obat batuk, obat cuci mata, keputihan, jerawat, mimisan, dan obat kumur (Nalina *et al.* 2007). Daun sirih hijau mengandung nutrisi dan zat bioaktif yang kuat, yaitu fenol, klorofil, beta karoten, vitamin C, riboflavin, dan fenolik (Dwivedi *et al.* 2010; Hossain *et al.* 2017; Pradhan *et al.* 2013). Daun sirih hijau juga mempunyai beberapa kandungan lainnya yaitu tanin, flavonoid, saponin, steroid, alkaloid, dan kumarin (Patil *et al.* 2015).

Beta karoten merupakan kelompok pigmen berwarna orange, merah, atau kuning. Beta karoten banyak ditemukan pada nabati seperti sayur-sayuran dan buah-buahan yang banyak manfaatnya jika dikonsumsi oleh tubuh (Subawati, 2009). Beta karoten larut dalam aseton, etanol, n-heksan, petroleum eter, dan kloroform. Beta karoten termasuk salah satu jenis karotenoid, selain sebagai provitamin A, beta karoten juga berfungsi sebagai antioksidan (Sinaga, 2010).

3. METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Daun Sirih Hijau

Sampel yang diambil adalah daun sirih hijau yang diperoleh dari 3 lokasi yang berbeda ketinggiannya yaitu di Alahan Panjang (Kecamatan Lembah Gumanti) dengan ketinggian ($\pm$ 1.303 mdpl), Solok (Kecamatan Junjung Sirih) dengan ketinggian ($\pm$ 438 mdpl), dan Pasir Jambak (Kecamatan Koto Tangah) dengan ketinggian ($\pm$ 7 mdpl).

Preparasi Sampel Daun Sirih Hijau

Timbang masing-masing daun sirih hijau dari berbagai daerah sebanyak 200 g dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian di rajang kecil-kecil.

Ekstraksi Sampel Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau masing-masing daerah ditimbang sebanyak 200 g. Dimasukkan ke wadah maserasi dan ditambahkan 2000 mL aseton. Dimaserasi selama 24 jam dengan diaduk pada 6 jam pertama setelah itu diamkan selama 18 jam, lalu disaring untuk memisahkan antara ampas dan maserat. Lakukan perendaman kembali sampai didapatkan maserat bening. Hasil dari maserat yang telah diperoleh diuapkan di rotary evaporator, setelah itu didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental aseton ada sebagian yang dilanjutkan dengan saponifikasi dan sebagian lagi dilakukan evaluasi pada ekstrak tersebut.

Saponifikasi Sampel Daun Sirih Hijau

Ekstrak kental aseton ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dilakukan saponifikasi dengan menambahkan KOH 15% dalam metanol (1:1) sebanyak 10 mL ke dalam labu gelap, dikocok, dan didiamkan selama 24 jam. Hasil saponifikasi tersebut ditambahkan petroleum eter sebanyak 3 x 25 mL ke dalam corong pisah lalu tambahkan aquadest 10 mL. Lakukan fraksi sampai terbentuk dua lapisan, lapisan atas di ambil dan lapisan bawah (air) dibuang dengan menggunakan corong pisah. Kemudian lapisan atas (petroleum eter) dicuci dengan air suling sampai bebas basa. Setelah itu keringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat di atas kertas saring untuk membuang air yang tertinggal, lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL dengan petroleum eter (Naid *et al.* 2012).

Evaluasi Ekstrak Aseton Daun Sirih Hijau

Pemeriksaan Organoleptis

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan panca indera yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa.

Penentuan Rendemen Daun Sirih Hijau

Rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan bobot sampel segar terhadap berat ekstrak yang diperoleh. Rendemen dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Departemen Kesehatan RI, 2000) :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Penentuan Susut Pengeringan Daun Sirih Hijau

Krus porselen dan tutupnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Dinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang beratnya. Lalu dimasukkan ekstrak kental sebanyak 1-2 g. Krus porselen yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu, krus dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam desikator selama 10-15 menit. Kemudian ditimbang. Lakukan sampai didapatkan berat yang konstan (Departemen Kesehatan RI, 2008). Susut pengeringan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dikeringkan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dikeringkan (g)

Penentuan Kadar Abu Daun Sirih Hijau

Ekstrak kental masing-masing daun sirih ditimbang 2-3 g dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditimbang. Masukkan ke dalam furnace pada suhu 600 °C selama 6 jam, hingga arang habis, yang ditandai dengan warna abu-abu. Lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu (Departemen Kesehatan RI, 2008). Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dikeringkan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dikeringkan (g)

Uji Skrining Fitokimia Daun Sirih Hijau (Harborne, 1987)

Ekstrak kental daun sirih hijau masing-masing ditimbang 0,5 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquadest dan 5 mL kloroform (1:1), dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform, kemudian dipisahkan.

a. Uji Flavonoid (Metode “*Sianidin Test*”)

Diambil lapisan air 1-2 tetes, ditetaskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl (p), terbentuk warna kuning, orange sampai merah menandakan adanya flavonoid.

b. Uji Saponin

Lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian kocok, apabila terbentuk busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Fenolik

Diambil 1-2 tetes lapisan air ditetaskan pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes FeCl_3 . Terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

d. Uji Terpenoid/Steroid (Metode “*Simes*”)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan di pipet 2 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering di tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard) jika terbentuk warna merah berarti positif terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

e. Uji Alkaloid (Metode “*Culvenore-Fitzgerald*”)

Diambil 2-3 tetes lapisan kloroform tambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan dalam tabung reaksi, tambahkan 1 tetes H_2SO_4 2 N kemudian dikocok kuat, dibiarkan memisah antara lapisan asam dengan kloroform. Lapisan asam (lapisan atas) dipipet dan dipindahkan ke tabung reaksi yang baru, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer. Reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

Analisa Kualitatif (KLT)

Identifikasi beta karoten dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Plat KLT diaktivasi terlebih dahulu di oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian *Chamber* yang berisi cairan pengelusi n-heksan : aseton (9:1) dijenuhkan terlebih dahulu dengan kertas saring. Kemudian larutan beta karoten murni sebagai pembanding dan hasil fraksi petroleum eter daun sirih hijau masing-masing daerah ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada lempeng KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng KLT dan jarak rambat, beri tanda pada jarak rambat. Setelah kering lempeng KLT dimasukkan ke chamber yang berisi cairan pengelusi n-heksan : aseton (9:1). Tutup bejana dan biarkan hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Selanjutnya lempeng dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan di udara, dan bercak diamati dengan menggunakan lampu UV 254 nm dan lampu UV 366 nm. Diukur dan dicatat bercak dari titik penotolan. Tentukan harga *Retention factor* (Rf) (Departemen Kesehatan RI, 2008). Nilai Rf dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

Analisa Kuantitatif

Pembuatan Larutan Induk Beta Karoten 500 ppm

Ditimbang dengan teliti 25 mg beta karoten murni, dilarutkan dengan petroleum eter hingga volume 50 mL pada labu ukur. Diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 500 ppm. Labu ditutup dengan aluminium foil karena beta karoten mudah teroksidasi dan tidak stabil apabila terkena cahaya. Dari konsentrasi 500 ppm, kemudian dipipet 5 mL di masukkan dalam labu ukur 25 mL, diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian labu ditutup dengan aluminium foil.

Pembuatan Deret Larutan Standar Beta Karoten

Larutan dengan konsentrasi 100 ppm dipipet 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL dan 0,5 mL dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan petroleum eter hingga 10 mL. Diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Beta Karoten

Untuk penentuan panjang gelombang serapan maksimum beta karoten dilakukan pada salah satu larutan deret beta karoten dengan konsentrasi 3 ppm. Kemudian diukur panjang gelombang serapan maksimum beta karoten dengan Spektrofotometer Visibel pada rentang 400-800 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Beta Karoten

Dari deret konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm diukur absorbannya dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang serapan maksimum 481 nm. Kemudian buat kurva kalibrasi dan tentukan persamaan regresi linearnya.

Penetapan Kadar Beta Karoten Pada daun Sirih Hijau

a) Penetapan Kadar Beta Karoten Pada Daun Sirih Hijau Alahan Panjang

Dipipet dengan teliti 2 mL hasil saponifikasi daun sirih hijau Alahan Panjang masukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas. Larutan 10 mL dipipet 1 mL masukkan ke labu ukur 10 mL dan tambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas dan diukur absorbannya pada panjang gelombang serapan maksimum 481 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

b) Penetapan Kadar Beta Karoten Pada Daun Sirih Hijau Solok

Dipipet dengan teliti 2 mL hasil saponifikasi daun sirih hijau Solok masukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas. Larutan 10

mL dipipet 1 mL masukkan ke labu ukur 10 mL dan tambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas dan diukur absorbannya pada panjang gelombang serapan maksimum 481 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

c) Penetapan Kadar Beta Karoten Pada Daun Sirih Hijau Pasir Jambak

Dipipet dengan teliti 2 mL hasil saponifikasi daun sirih hijau Pasir Jambak masukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan petroleum eter hingga tanda batas dan diukur absorbannya pada panjang gelombang serapan maksimum 481 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Analisis Data

Perhitungan Kadar Beta Karoten Pada Sampel

Beta karoten dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi.

$$y = a + bx$$

Sehingga konsentrasi dalam sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar} = \frac{C \times F_p \times V}{B_s}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi sampel

F_p = Faktor pengenceran baku (mL/mL)

V = Volume sampel (mL)

B_s = Berat sampel (g)

Uji Statistik

Data yang diperoleh di uji secara statistik dengan Uji *One-Way* Anova (SPSS 31,0). Uji *One-Way* Anova digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar beta karoten pada daun sirih hijau.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang didapatkan dari tiga daerah yang berbeda ketinggian tempat tumbuhnya, yaitu Alahan Panjang (Kecamatan Lembah Gumanti) dengan ketinggian ± 1.303 mdpl terletak diantara -1.067165 LS dan 100.821387 BT, Solok (Kecamatan Junjung Sirih) dengan ketinggian ± 438 mdpl terletak diantara -0.67596200 LS dan 100.54613950 BT, dan Pasir Jambak (Kecamatan Kota Tengah) dengan ketinggian ± 7 mdpl terletak diantara -0.82999460 LS dan 100.32070170 BT (Aplikasi Altimeter).

Penetapan kadar beta karoten untuk masing masing sampel diawali dengan cara mengekstraksi sampel secara maserasi selama 3x24 jam dengan pelarut aseton yang mana guna aseton ialah untuk mengekstraksi senyawa-senyawa organik yang terdapat di dalam sampel. Metode jenis ini digunakan karena dari segi pengerjaannya sederhana, tidak menggunakan alat khusus dan tanpa adanya proses pemanasan sehingga hal ini dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel tersebut salah satunya yaitu kandungan beta karoten, karena beta karoten tidak stabil dalam suhu tinggi.

Proses yang dilakukan selanjutnya yaitu proses saponifikasi atau penyabunan dengan penambahan KOH 15 % dalam metanol. Proses saponifikasi bertujuan untuk memisahkan klorofil yang terdapat dalam sampel dan juga melepaskan ikatan ester, asam-asam, dan lemak lainnya. Hal ini dilakukan agar asam-asam lemak yang ada pada ekstrak bereaksi dengan KOH 15% b/v dalam metanol. Selanjutnya sampel yang sudah disaponifikasi dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah dengan menambahkan petroleum eter dan aquadest sehingga terbentuk 2 fase. Fase lapisan atas merupakan petroleum eter yang mengandung beta karoten dan lapisan bawah adalah aseton dan air yang mengandung klorofil. Hal ini dikarenakan bobot jenis aseton dan air lebih besar dari pada petroleum eter, sehingga aseton dan air berada pada lapisan bawah.

Adapun tujuan diekstraksi kembali dengan petroleum eter yaitu agar beta karoten yang terdapat pada sampel ditarik oleh petroleum eter. Sedangkan tujuan ditamhakkannya air yaitu untuk membuang klorofil (Idris, 2011). Selanjutnya fase lapisan atas yang merupakan petroleum eter kemudian disaring dengan Na_2SO_4 anhidrat, hal ini bertujuan untuk menarik sisa air dalam ekstrak, sehingga diperoleh ekstrak cair petroleum eter. Kemudian ekstrak cair petroleum eter yang diperoleh dilakukan analisa kualitatif dan kuantitatif.

Setelah ekstrak daun sirih hijau diperoleh, kemudian dilakukakan evaluasi ekstrak. Evaluasi ekstrak ada dua yaitu evaluasi spesifik dan non spesifik. Evaluasi spesifik terdiri dari pemeriksaan organoleptis dan persentase rendemen ekstrak. Pemeriksaan organoleptis merupakan pemeriksaan yang dilakukan menggunakan panca indera. Di mana meliputi bentuk dari ekstrak yaitu kental, warna ekstrak berwarna hitam kekuningan, memiliki bau yang khas, dan memiliki rasa yang pahit.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Aseton Sampel.

Sampel	% Rendemen
Daun sirih hijau Alahan Panjang	23,26
Daun sirih hijau Solok	14,21
Daun sirih hijau Pasir Jambak	17,92

Masing-masing ekstrak dihitung persentase rendemen. Pada Tabel 1. menunjukkan daun sirih hijau Alahan Panjang diperoleh persentase rendemennya sebesar 23,26 %, pada daun sirih hijau Solok diperoleh persentase rendemennya sebesar 14,21 %, dan pada daun sirih hijau Pasir Jambak diperoleh persentase rendemennya sebesar 17,92 %. Rendemen merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dengan berat sampel. Nilai rendemen berkaitan juga dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung dalam sampel. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada sampel.

Tabel 2. Hasil Susut Pengerinan Ekstrak Aseton Sampel.

Sampel	% Susut Pengerinan
Daun sirih hijau Alahan Panjang	2,3
Daun sirih hijau Solok	3,9
Daun sirih hijau Pasir Jambak	3,8

Selain dihitung persentase rendemennya, masing-masing ekstrak yang sudah di uapkan dengan rotary evaporator dilakukan evaluasi non spesifik yaitu susut pengerinan dan kadar abu. Susut pengerinan adalah salah satu parameter non spesifik yang memiliki tujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan. Pada Tabel 2. untuk hasil persentase susut pengerinan diperoleh hasil yaitu pada daun sirih hijau Alahan Panjang sebesar 2,3 %, pada daun sirih hijau Solok sebesar 3,9 %, dan pada daun sirih hijau Pasir Jambak sebesar 3,8 %. Dengan demikian hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat dengan rentang yaitu kurang dari 11% (Depkes RI, 2008). Dari hasil tersebut adanya perbedaan persentase susut pengerinan daun sirih hijau pada masing-masing daerah yang disebabkan oleh faktor ketinggian tempat tumbuh yang mempengaruhi suhu, kelembaban tanah, serta ketersediaan air yang diterima oleh tanaman.

Tabel 3. Hasil Kadar Abu Ekstrak Aseton Sampel.

Sampel	% Kadar Abu
Daun sirih hijau Alahan Panjang	4,5
Daun sirih hijau Solok	3,2
Daun sirih hijau Pasir Jambak	4,9

Pada penentuan kadar abu dilakukan dengan cara pemanasan ekstrak dalam furnace dengan suhu 600°C. Hal ini memiliki tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal terbentuknya ekstrak. Pada Tabel 3. untuk hasil persentase kadar abu yang diperoleh yaitu pada daun sirih hijau Alahan Panjang sebesar 4,5 %, pada daun sirih hijau Solok sebesar 3,2 %, dan pada daun sirih hijau Pasir Jambak sebesar 4,9 %. Hasil tersebut telah memenuhi syarat karena kadar abu yang diperoleh tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008). Dari hasil diatas terdapat perbedaan persentase kadar abu daun sirih hijau pada masing-masing daerah yang disebabkan oleh kandungan mineral dalam tanah, jenis dan usia tanaman, perbedaan jenis tanah dan teknik budidaya pada tanaman.

Pada pemeriksaan skrining fitokimia pada ekstrak aseton daun sirih hijau masing-masing daerah diperoleh hasil positif yaitu mengandung senyawa terpenoid, fenolik, flavonoid, dan tidak mengandung senyawa saponin dan alkaloid,. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit apa saja yang terkandung pada sampel.

Tabel 4. Hasil Kadar Abu Ekstrak Aseton Sampel.

Sampel	Nilai Rf Sampel	Nilai Rf Pembanding
Daun sirih hijau Alahan Panjang	0,48	
Daun sirih hijau Solok	0,48	0,48
Daun sirih hijau Pasir Jambak	0,48	

Setelah melakukan evaluasi pada ekstrak, selanjutnya yaitu melakukan analisa kualitatif. Adapun analisa kualitatif yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan metode kromatografi lapis tipis yang merupakan pengujian untuk mengidentifikasi senyawa beta karoten pada masing-masing sampel dibandingkan dengan senyawa pembandingnya yaitu beta karoten murni. Hal ini dilakukan untuk membuktikan apakah sampel mengandung beta karoten atau tidak. Nilai Rf adalah perbandingan jarak tempuh eluen dan fase gerak pada plat KLT. Apabila identifikasi nilai Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip, jika nilai Rfnya berbeda senyawa tersebut dapat dinyatakan memiliki karakteristik yang berbeda (Depkes RI, 2008). Nilai Rf yang baik adalah 0,2-0,8.

Berdasarkan nilai Rf yang diperoleh pada Tabel 4. menyatakan bahwa sampel yang digunakan mempunyai nilai Rf yang sama dengan senyawa pembandingnya yaitu 0,48. Hal ini berarti bahwa sampel mengandung beta karoten.

Analisa kuantitatif beta karoten dengan menggunakan spektrofotometri UV Visibel. Pada pengujian ini digunakan beta karoten murni sebagai pembanding dan dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Untuk masing-masing seri konsentrasi diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang serapan maksimum beta karoten 481 nm, sehingga didapatkan persamaan regresi linear yaitu $y = 0,1088 + 0,0994x$ dengan nilai koefisien korelasi 0,9999. Menurut (Harmita, 2014) nilai koefisien korelasi yang baik yaitu hampir mendekati 1. Hal ini berarti bahwa perbandingan kadar dengan parameter yang diukur memiliki linearitas yang baik. Artinya, parameter yang diukur sesuai dengan deret konsentrasi yang dibuat.



Gambar 1. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan Absorban.

Tabel 5. Hasil Kadar Beta Karoten Daun Sirih Hijau Pada Masing-Masing daerah.

Sampel	Kadar Beta Karoten (mg/100 g)
Daun sirih hijau Alahan Panjang	113,845
Daun sirih hijau Solok	129,98
Daun sirih hijau Pasir Jambak	7,530

Pengukuran kadar beta karoten pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang serapan maksimum beta karoten 481 nm yang dilakukan 3 kali replikasi. Pada Tabel 5. didapatkan perbedaan kadar beta karoten pada masing-masing ketinggian tempat tumbuh yaitu pada daun sirih hijau Alahan Panjang dengan ketinggian ± 1.303 mdpl sebesar 113,845 mg/100 g, pada daun sirih hijau Solok dengan ketinggian ± 438 mdpl sebesar 129,98 mg/100 g, dan pada daun sirih hijau Pasir Jambak dengan ketinggian ± 7 mdpl sebesar 7,530 mg/100 g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar beta karoten pada daun sirih hijau Solok lebih tinggi dibandingkan dengan Alahan Panjang dan Pasir Jambak paling rendah.

Menurut (Laily *et al.* 2012) mengemukakan bahwa ketinggian tempat berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman sehingga diduga bahwa pada ketinggian tempat berbeda akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Semakin tinggi ketinggian tempat tumbuh suatu tanaman, maka semakin tinggi pula stres lingkungan seperti suhu semakin rendah, kelembapan semakin tinggi, curah hujan semakin tinggi, intensitas cahaya matahari semakin kecil, lama penyinaran semakin singkat sehingga kandungan metabolit sekunder suatu tanaman semakin meningkat pula (Umar *et al.* 2022).

Perbedaan kadar beta karoten yang diperoleh, kemungkinan disebabkan terganggunya produksi metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder terbentuk dari metabolit primer melalui berbagai jalur metabolisme yang dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan. Faktor tersebut seperti cahaya, suhu, pH tanah, kelembapan tanah, unsur hara tanah, ketinggian tempat tumbuh, dan temperature yang akan berpengaruh terhadap kandungan fitokimianya. Sehingga tentunya pada setiap ketinggian berbeda dimana ketinggian tempat juga berpengaruh terhadap suhu lingkungan akan mempengaruhi proses biokimia yang terdapat pada tanaman (Solekhah, 2017).

Ketinggian tempat tumbuh berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman, akibatnya serangkaian proses metabolisme pada tanaman tersebut juga akan terganggu sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat. Kandungan fitokimia hasil dari metabolit sekunder seperti B-karoten dari suatu tanaman tentunya juga akan berbeda pada setiap ketinggian tempat (Katuuk *et al.* 2019).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penetapan kadar beta karoten pada masing-masing sampel daun sirih hijau yaitu pada daun sirih hijau Alahan Panjang dengan ketinggian ± 1.303 mdpl ialah 113,845 mg/100 g, pada daun sirih hijau Solok dengan ketinggian ± 438 mdpl ialah 129,98 mg/100 g, dan pada daun sirih hijau Pasir Jambak dengan ketinggian ± 7 mdpl ialah 7,530 mg/100 g. Berdasarkan hasil analisa uji *One-Way Anova* diperoleh hasil signifikan 0,000 ($P < 0,05$) yang artinya ada pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar beta karoten pada daun sirih hijau.

Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat mengukur kadar beta karoten pada bagian tanaman yang lain ataupun mengukur senyawa-senyawa lain yang terdapat pada daun sirih hijau.

DAFTAR REFERENSI

- Dalimartha, S. (2008). Atlas tumbuhan obat Indonesia Jilid 5 (p. 131).
- Departemen Kesehatan RI. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). Farmakope herbal Indonesia (pp. 1-221). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwivedi, B. K., Kumar, S., Nayak, C., & Mehta, B. K. (2010). Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of the hexane and benzene extracts of the Piper betle (leaf stalk) (Family: Piperaceae) from India. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2252-2255.
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia (pp. 102-111). Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. (2014). Analisa fisikokimia (kromatografi). Jakarta: EGC.
- Idris, N. (2011). Analisis kandungan β -karoten dan aktivitas antioksidan dari buah melon (*Cucumis melo* Linn.) secara UV-Vis.
- Katuuk, R. H. H., Wanget, S. A., & Tumewu, P. (2019). Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal COCOS*, 1(4), 6.
- Laily, A. N., Suranto, & Sugiyarto. (2012). Karakterisasi *Carica pubescens* di dataran tinggi Dieng, Jawa Tengah berdasarkan sifat morfologi, kapasitas antioksidan, dan pola pita protein. *Nusantara Bioscience*, 4, 16-21.
- Naid, T., Muflihunna, A., & Ode, I. (2012). Analisis kadar β -karoten pada buah pare (*Momordica charantia* L.) asal Ternate secara spektrofotometri UV-Vis. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16, 127-130.
- Nalina, T., & Rahim, Z. H. A. (2007). The crude aqueous extract of Piper betle L. and its antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(1), 10-15. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2007.10.15>
- Patil, R. S., Harale, P. M., Shivangekar, K. V., Kumbhar, P. P., & Desai, R. R. (2015). Phytochemical potential and in vitro antimicrobial activity of Piper betle Linn. leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(5), 1095-1101.
- Sinaga, S. (2010). Pengaruh substitusi tepung terigu dan jenis penstabil dalam pembuatan cookies labu kuning.
- Solekhah, F. F. (2017). Perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan flavonoid dan beta karoten buah karika (*Carica pubescens*) daerah Dieng Wonosobo. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Su, X. H., Zhang, M. L., Li, L. G., Huo, C. H., Gu, Y. C., & Shi, Q. W. (2008). Chemical constituents of the plants of the genus *Calophyllum*. *Chemistry and Biodiversity*, 5(12), 2579-2608. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200890215>
- Subawati, R. (2009). Oksidasi senyawa karoten dalam buah kelapa sawit, Universitas Ma Chung.
- Syarif, S., & Flaning, M. (2013). Analisis kandungan β -karoten pada jenis sawi putih (*Brassica pekinensis* L.) dan jenis sawi hijau (*Brassica juncea* L. Coss) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 5(1), 55-61. <https://doi.org/10.33096/ja.v5i1.69>

- Umar, C. B. P., Kabakoran, J. F., & Hukom, D. S. (2022). Analisis perbedaan kadar β -karoten pada ubi jalar kuning (*Ipomoea batatas* L.) mentah dan rebus dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan*, 1(2), 113-125. <https://doi.org/10.55606/klinik.v1i2.1161>
- Yulianto, D., Urfiyya, Q. A., & Rissa, M. M. (2023). Perbandingan kadar klorofil dan karotenoid daun sirih merah (*Piper betle*) dan sirih hijau (*Piper ornatum*) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *PHARMANAJA: Pharmaceutical Journal of UNAJA*, 2(1), 42-48.