

Identifikasi Senyawa Marker Dominan Ekstrak Daun Sirih Hitam dan Kuantifikasi Berdasarkan Perbedaan Lokasi Tanam

Identification of Dominant Marker Compounds of Black Betel Leaf Extract and Quantification Based on Differences in Planting Locations

Fajar Prasetya*, M Arifuddin, Arsyik Ibrahim

Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*E-mail: fajarprasetya@farmasi.unmul.ac.id

Abstract

It has been revealed that the benefits of black betel leaf extract have created an opportunity for the black betel plant to be commercialized. The several benefits of black betel leaf extract are antimicrobial, anti-inflammatory, cytotoxic, and antioxidant. The extraction method uses maceration techniques. Identification of active markers as antimicrobials (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Candida albicans*) begins with Bioautography Thin Layer Chromatography (TLC), for isolation from macerated extracts followed by Vacuum Liquid Chromatography Fractionation (KCV), conventional Column Subfraction (KK), Layer Chromatography Thin Preparative (TLC). Quantification of marker compounds using a Thin Layer Chromatography (TLC) Scanner. Samples of black betel leaf (*P. betle L. var Nigra*) were collected from Samarinda (East Kalimantan), Wonosobo (Central Java), Godean (Yogyakarta), Banyuwangi (East Java) in June 2020. The results of the TLC test for bioautography of 70% ethanol extract and the ethanol fraction of 96% black betel leaf showed that the active spot of ethanol extract 70% for antibacterial activity on *Streptococcus mutans* Atcc 25175 and *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556 was R_f 0.729 cm, the active spot of the ethanol fraction 96% for the activity of the fungus *Candida albicans* ATTC 10231; R_f 0.486 cm. Purification using TLC multi eluent with eluent I Hexane: Ethyl Acetate (7: 3) as non polar eluent and eluent II Chloroform: Ethyl Acetate (4: 1) as polar eluent on different TLC plates. The results obtained in the form of a single stain with $R_f = 0.4$ in eluent I and $R_f = 0.73$ in eluent II. The results of measuring the levels of the dominant marker compound using a TLC scanner showed that the highest marker compound area was from betel leaf grown in the Godean area (Yogyakarta) with the number 29869.4.

Keywords: Planted area, black betel, marker compound

Abstrak

Telah terungkapnya manfaat-manfaat dari ekstrak daun sirih hitam memunculkan peluang untuk tanaman sirih hitam dikomersialkan. Adapun beberapa manfaat dari ekstrak daun sirih hitam adalah antimikroba, antiinflamasi, sitotoksik, dan antioksidan. Metode ekstraksi menggunakan teknik maserasi. Identifikasi marker aktif sebagai antimikroba (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Candida albicans*) diawali dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi, untuk isolasi dari ekstrak hasil maserasi dilanjutkan dengan Fraksinasi Kromatografi Cair Vakum (KCV), Subfraksi Kolom konvensional (KK), Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Kuantifikasi senyawa marker menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) *Scanner*. Sampel daun sirih hitam (*P. betle L. var Nigra*) dikumpulkan dari Samarinda (Kalimantan Timur), Wonosobo (Jawa Tengah), Godean (Yogyakarta), Banyuwangi (Jawa Timur) pada bulan Juni 2020. Hasil uji KLT bioautografi ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol 96% daun sirih hitam menunjukkan bahwa spot aktif dari ekstrak etanol 70% untuk aktivitas antibakteri pada *Streptococcus mutans* Atcc 25175 dan *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556 adalah Rf 0,729 cm, spot aktif dari fraksi etanol 96% untuk aktivitas jamur *Candida albicans* ATCC 10231; Rf 0,486 cm. Pemurnian menggunakan KLT multi eluen dengan eluen I Heksan : Etil Asetat (7 : 3) sebagai eluen non polar dan eluen II Kloroform : Etil Asetat (4 : 1) sebagai eluen polar pada plat KLT yang berbeda. Hasil yang diperoleh berupa bercak noda tunggal dengan Rf = 0,4 pada eluen I dan Rf = 0,73 pada eluen II. Hasil pengukuran kadar senyawa marker dominan menggunakan TLC scanner menunjukkan luas area senyawa marker yang paling tinggi berasal dari daun sirih yang ditanam di daerah Godean (Yogyakarta) dengan angka 29869.4.

Kata Kunci: Daerah tanam, Sirih hitam, senyawa marker

Submitted: 06 Desember 2020

Accepted: 02 April 2021

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.386>

■ Pendahuluan

Telah terungkapnya manfaat-manfaat dari ekstrak daun sirih hitam memunculkan peluang untuk tanaman sirih hitam dikomersialkan. Adapun beberapa manfaat dari ekstrak daun sirih hitam adalah antimikroba [1, 2], antiinflamasi [3], sitotoksik [4], dan antioksidan [5]. Dengan terungkapnya manfaat komersil dari tanaman sirih hitam ini maka sirih hitam sudah memenuhi syarat menjadi tanaman komoditi. Jika sirih hitam menjadi tanaman komoditi maka akan memberikan manfaat ekonomi. Manfaat ekonomi dapat menjadi sumber pendapatan baru bagi masyarakat yang membudidayakannya.

Salah satu persyaratan utama dalam komersialisasi atau industri obat berbahan alam adalah ketersediaan bahan baku yang cukup secara jumlah dan berkualitas serta memiliki standar karakteristik yang paling sederhana seperti morfologi tanaman sirih hitam hingga standar karakteristik spesifik senyawa baik yang dominan serta senyawa aktif. Karakteristik tanaman sirih hitam adalah tumbuhan merambat dengan bentuk

daun menyerupai hati dan bertangkai, yang tumbuh berselang-seling dari batangnya serta penampakan daun yang berwarna hijau tua kehitaman. Morfologi daun sirih hitam adalah batangnya bulat, berwarna hijau keunguan, dan tidak berbunga. Daun tunggal, membentuk jantung hati, dan bagian atasnya meruncing. Daun yang tumbuh subur berukuran rata-rata 10 cm dan 5 cm. Bila dipegang daun terasa tebal dan kaku. Klasifikasi tumbuhan sirih hitam menurut proses identifikasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor dengan nomor spesimen 749/IPH.1.01/If.07/VII/2020. Hasil klasifikasi yaitu *kingdom plantae*, *subkingdom tracheobionta*, *super divisi spermatophyta*, *divisi magnoliophyta*, kelas *magnoliopsida*, sub kelas *magnoliidae*, ordo *piperales*, *famili piperaceae*, *genus piper*, spesies *piper sp.* Berdasarkan klasifikasi tersebut telah diketahui sub spesies tanaman ini masih belum ada, sehingga dapat dikatakan tanaman ini merupakan tanaman yang belum banyak mengalami proses pengkajian. Morfologi tumbuhan sirih hitam dapat dilihat lebih jelas pada gambar di bawah ini [2].

Sirih hitam telah terdeteksi mengandung golongan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, senyawa fenol, karotenoid, steroid, dan tripernoid [2]. Setelah diperoleh ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol. Didapatkan hasil uji golongan metabolit sekunder seperti yang tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Golongan Metabolit Sekunder pada Daun Sirih Hitam Kalimantan

| Golongan Metabolit Sekunder | Ekstrak dan Fraksi | | |
|-----------------------------|--------------------|-----------------|--------------------|
| | Ekstrak Etanol | Fraksi n-Heksan | Fraksi Etil Asetat |
| Alkaloid | + | + | - |
| Flavonoid | + | - | - |
| Saponin | + | + | + |
| Tanin | + | + | + |
| Senyawa Fenol | + | + | + |
| Karatenoid | + | + | + |
| Steroid dan Triterpenoid | + | + | + |

Keterangan:

(+) = Terdeteksi metabolit sekunder

(-) = Tidak terdeteksi metabolit sekunder [2]

Tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat untuk antiinflamasi karena mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Lebih lanjut, tanaman dengan spesies yang sama namun berbeda sub-spesies berbeda yakni daun sirih merah telah terbukti memberikan antiinflamasi pada tikus putih [6]. Ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle*) memiliki efek antiinflamasi dan analgesik [7].

Pustaka umum yang biasanya digunakan sebagai acuan untuk persyaratan standarisasi adalah Materia Medika Indonesia (Jilid I-VI) dan Farmakope Herbal Indonesia (Jilid I, II, suplemen I), dimana ke dalam 9 buku tersebut terdapat 341 tanaman obat yang telah dilakukan standarisasi. Tanaman sirih hitam masih belum masuk didaftar dua buku tersebut, sehingga masih perlu dilakukan karakterisasi kandungan senyawa penciri (marker) khususnya. Senyawa penciri (marker) pada ekstrak dari tanaman dibutuhkan untuk menjadi pengontrol kualitas lebih lanjut selain karakteristik tanaman seperti morfologi. Adapun kriteria senyawa penciri (marker) dapat dibagi menjadi empat (4) kelompok seperti: 1) senyawa aktif, 2) senyawa utama, 3) senyawa identitas, 4) senyawa aktual. Identifikasi senyawa penciri (marker) pada ekstrak daun sirih hitam diperlukan sebagai standar spesifik pada saat tanaman ini menjadi tanaman komoditi pada proses komersialisasi atau industri bahan baku obat atau industri farmasi.

Perbedaan lokasi tumbuh telah pada umumnya menyebabkan perbedaan signifikan dalam produksi dan akumulasi dari metabolit primer dan sekunder [8][9][10], termasuk metabolit-metabolit sekunder yang bisa menjadi senyawa penciri (marker). Berdasarkan fakta-fakta tersebut maka dirasa perlu untuk melakukan identifikasi salah satu senyawa penciri pada ekstrak daun sirih hitam walaupun pada level sederhana menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Menggunakan profil KLT yang menunjukkan spot senyawa penciri tersebut untuk selanjutnya dapat dilakukan analisis perbandingan kuantitas berdasarkan luas area senyawa penciri menggunakan KLT *scanner*.

Metode Penelitian

Bahan Tanaman

Daun sirih hitam (*P. betle L. var Nigra*) dikumpulkan dari Samarinda (Kalimantan Timur), Wonosobo (Jawa Tengah), Godean (Yogyakarta), Banyuwangi (Jawa Timur) pada bulan Juni 2020. Tanaman sirih hitam diidentifikasi oleh Dr. Atik Retnowati, staff dari the Bogoriense Herbarium, Bogor, Indonesia. Voucher specimen (No. 749/IPH.1.01/If.07/VII/2020) telah didaftarkan di Herbarium.

Metode Ekstraksi, Identifikasi, Isolasi, Kuantifikasi senyawa Marker

Metode ekstraksi menggunakan teknik maserasi. Identifikasi marker aktif sebagai antimikroba (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Candida albicans*) diawali dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi, untuk isolasi dari ekstrak hasil maserasi dilanjutkan dengan Fraksinasi Kromatografi Cair Vakum (KCV), Subfraksi Kolom konvensional (KK), Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Kuantifikasi senyawa marker menggunakan *Thin Layer Chromatography (TLC) Scanner*.

Hasil dan Pembahasan

KLT Bioautografi Ekstrak Daun Sirih Hitam

Uji pada Bakteri *Streptococcus mutans* Atcc 25175

Hasil uji KLT bioautografi ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol 96% daun sirih hitam menunjukkan bahwa spot aktif dari ekstrak etanol

70% untuk aktivitas antibakteri pada *Streptococcus mutans* Atcc 25175 adalah Rf 0,729 cm (Penampak noda: (a) H₂SO₄ 10% dan (b) Sinar UV 254 nm, Pengembang: Heksan-Etil asetat (7:3)). Gambar uji pada bakteri *Streptococcus mutans* Atcc 25175 pada Gambar 1.

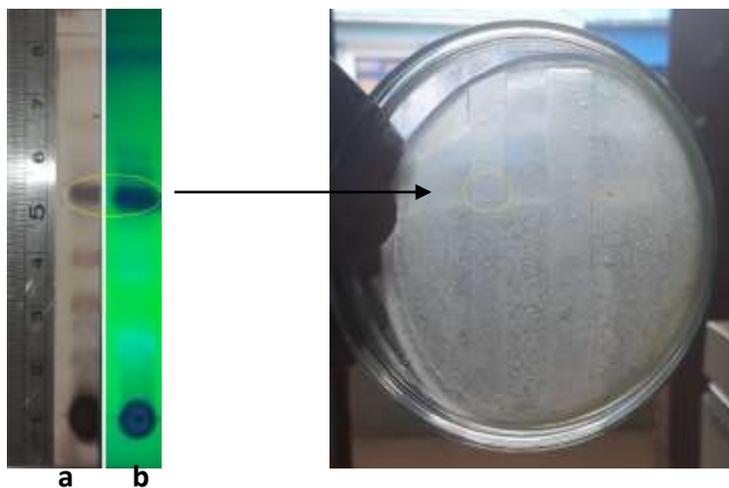
Uji pada Bakteri *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556

Hasil uji KLT bioautografi ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol 96% daun sirih hitam menunjukkan bahwa spot aktif dari ekstrak etanol 70% untuk aktivitas antibakteri pada *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556 adalah Rf 0,729 cm (Penampak noda: (a) H₂SO₄ 10% dan (b) Sinar UV

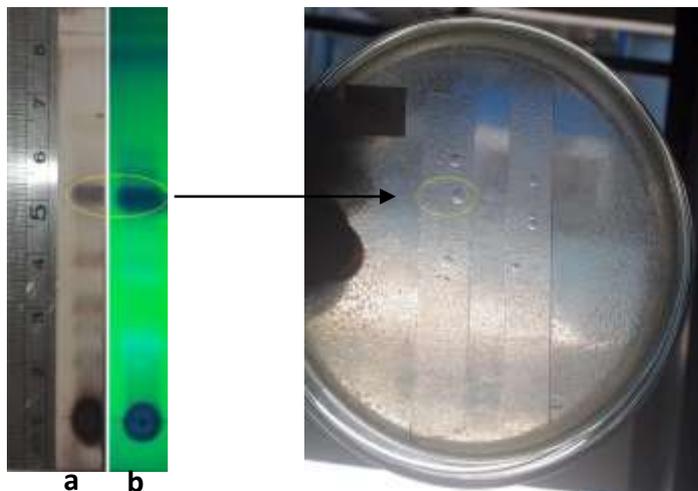
254 nm, pengembang: Heksan-Etil asetat (7:3)). Gambar uji pada bakteri *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556 pada Gambar 2.

Uji pada Jamur *Candida albicans* ATTC 10231

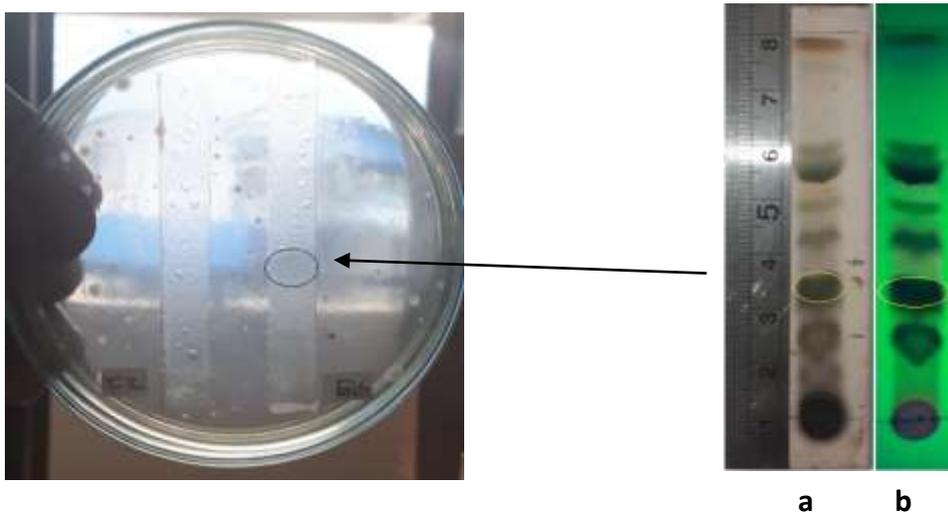
Hasil uji KLT bioautografi ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol 96% daun sirih hitam menunjukkan bahwa spot aktif dari fraksi etanol 96% untuk aktivitas jamur *Candida albicans* ATTC 10231; Rf 0,486 cm, (penampak noda: (a) H₂SO₄ 10% dan (b) Sinar UV 254 nm, pengembang: Heksan-Etil asetat (8:2)). Gambar uji pada bakteri *Candida albicans* ATTC 10231 pada Gambar 3.



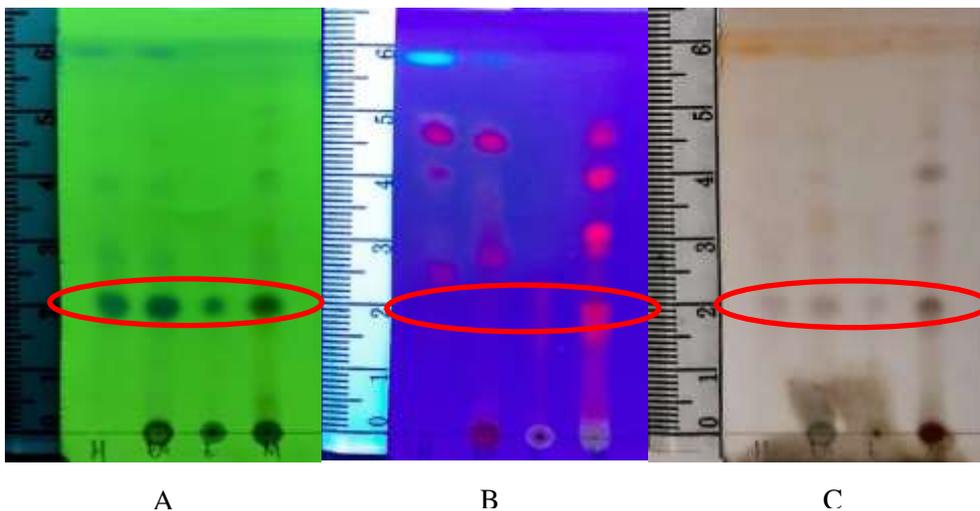
Gambar 1 uji pada bakteri *Streptococcus mutans* Atcc 25175



Gambar2 uji pada bakteri *Streptococcus sanguinis* Atcc 10556



Gambar 3 uji pada bakteri *Candida albicans* ATTC 10231



Gambar 4. profil KLT dengan eluen Heksan : Etil Asetat (7:3)

Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm B = Penampakan pada UV 366 nm C = Penampakan pada UV H₂SO₄

Penentuan Senyawa Marker

Pemilihan senyawa marker selain berdasarkan aktivitas senyawa sebagai antibakteri dan bercak noda yang dominan. Namun, dilihat juga dari syarat senyawa marker, yakni terdapat pada berbagai pelarut saat digunakan sebagai penyari awal simplisia. Dalam hal ini, simplisia Sirih Hitam diekstraksi dengan menggunakan pelarut Heksan, Etil Asetat, Etanol 70% dan Metanol.

Hasil profil KLT (gambar 4) menunjukkan bercak noda pada Rf 0,33 dengan eluen Heksan : Etil Asetat (7:3) yang terdapat pada semua pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pada penampakan UV 254 nm, bercak noda tersebut berwarna gelap

dengan plat KLT berfluorosensi sedangkan pada 366 nm, bercak noda tidak nampak. Namun, pada penyemprotan H₂SO₄, bercak noda terlihat dan berwarna hitam setelah dilakukan pemanasan 60°C selama 15 menit.

Bercak noda tersebut menjadi khas pada penampakan UV 254 nm, 366 nm dan H₂SO₄. Sehingga, bercak noda tersebut dapat dijadikan sebagai acuan senyawa marker simplisia Sirih Hitam. Oleh karena itu, akan dilakukan isolasi senyawa marker tersebut.

Partisi Ekstrak

Setelah dilakukan ekstraksi, ekstrak awal etanol 70% dilakukan partisi berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda, dimulai dari

tingkat pelarut kurang polar hingga paling polar, yakni berturut-turut pelarut heksan, etil asetat dan etanol 70%. Partisi menggunakan metode partisi cair-padat sehingga diperoleh ekstrak bagian larut (kurang polar) dan bagian tidak larut (lebih polar). Setiap bagian tidak larut yang diperoleh akan dipartisi dengan pelarut yang lebih polar. Partisi secara bertingkat ini akan memudahkan dan memaksimalkan pemisahan senyawa berdasarkan kepolarannya.

Dilakukan sentrifuge agar diperoleh bagian yang larut dan tidak larut yang akan mengendap pada bagian dasar tabung sentrifuge yang selanjutnya dilanjutkan pada pelarut polar berikutnya. Hasil yang diperoleh terdiri dari ekstrak partisi heksan, ekstrak partisi etil asetat, ekstrak partisi etanol 70% dan ekstrak partisi tidak larut etanol 70%. Bagian ekstrak partisi tidak larut etanol 70% menunjukkan bagian ekstrak partisi yang mengandung senyawa yang paling polar sehingga tidak dilakukan penotolan pada plat KLT.

Fraksinasi Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Bagian ekstrak partisi heksan menunjukkan noda yang sama pada bagian ekstrak awal etanol 70% yang dijadikan sebagai target senyawa marker. Ekstrak partisi heksan difraksinasi dengan menggunakan kombinasi pelarut Heksan, Etil Asetat dan Metanol, yakni Heksan: Etil (10:1; 7:3; 1:1; 1:3), Etil Asetat, Etil Asetat : Metanol (1:1) dan Metanol. Diperoleh pemisahan yang terdiri dari 12 fraksi (1-12) dengan berbagai noda yang berbeda-beda.

Fraksinasi menggunakan metode Kromatografi Cair-vakum (KCV) dengan penimbangan ekstrak partisi heksan sebanyak 5 gram. KCV memisahkan bagian besar senyawa yang berasal ekstrak partisi dengan bantuan pompa vakum sehingga pemisahan dapat dikerjakan secara cepat dan pemisahan yang berbeda-beda sesuai eluen kepolaran yang digunakan.

Subfraksi Kolom konvensional (KK)

Penimbangan ekstrak fraksi 4 sebanyak 2,68 gram dan eluen yang digunakan heksan : etil (7 :3) kemudian ditambahkan etil asetat lalu etil : Meoh (1:1) dan eluen yang paling terakhir menggunakan pelarut metanol. Hasil subfraksi dari fraksi 4 diperoleh hingga 45 subfraksi yang terdiri atas A (1-3 subfraksi), B (4-11 subfraksi), C (12-16 subfraksi), D (17-19 subfraksi), E (20-22 subfraksi), F (23-26 subfraksi), G (27-31 subfraksi), H (32-35

subfraksi), I (36-45 subfraksi), J (bagian akhir subfraksi/bening).

Pemisahan secara kromatografi konvensional (KK) dengan menggunakan bantuan gaya gravitasi dari pelarut yang dimasukkan ke dalam Kolom sehingga sampel dalam jumlah yang sedikit dapat dipisahkan berdasarkan kepolaran pelarut.

Hasil subfraksi dengan membandingkan bercak noda pada ekstrak awal etanol 70% pada plat KLT dengan menggunakan eluen Heksan: etil Asetat (7 : 3) menunjukkan bercak noda yang menjadi target terdapat pada subfraksi D,E dan F (4D, 4E dan 4F) memiliki kesamaan dengan bercak noda yang ada pada pembanding. Namun, fraksi 4D yang akan dilanjutkan pada KLTP dikarenakan bercak noda yang lebih besar dibandingkan bagian subfraksi lainnya.

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Teknik ini digunakan untuk mengisolasi sampel ekstrak dalam jumlah yang sedikit sehingga baik secara Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kolom Konvensional (KK) tidak dapat digunakan untuk sampel yang sedikit.

KLTP menggunakan eluen Heksan : etil Asetat (7 : 3) yang dapat memisahkan senyawa marker yang menjadi target. Senyawa target nampak pada 254 nm yang dapat terlihat jelas sehingga memudahkan dalam proses identifikasi bercak noda.

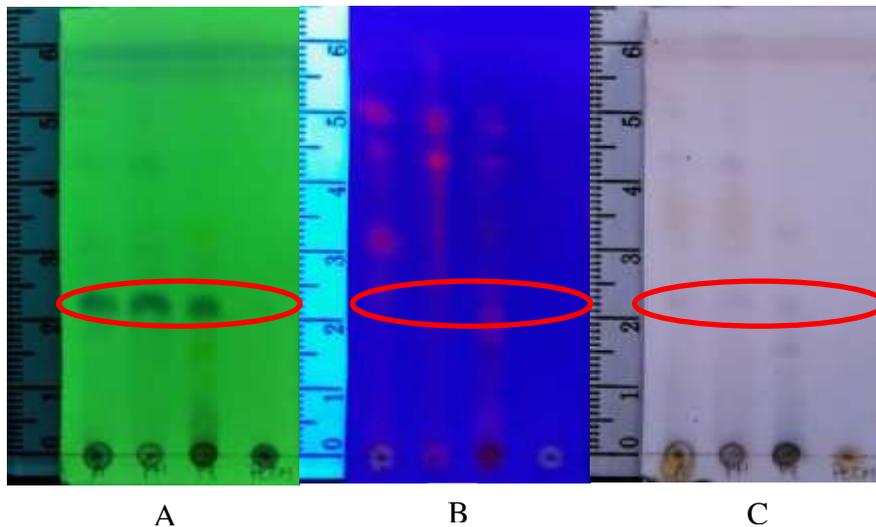
KLT Multi eluen dan 2D

KLT Multi eluen merupakan teknik yang digunakan untuk mengkonfirmasi kemurnian isolat senyawa yang diisolasi dari hasil KLTP. Tujuan KLT multi eluen dan 2D ini adalah untuk memastikan senyawa yang telah diisolasi telah diperoleh bercak noda tunggal (murni) sehingga akan memudahkan dalam karakterisasi maupun penentuan struktur menggunakan spektrofotometer UV, IR, LCMS dan NMR maupun untuk penentuan kadar senyawa marker dengan menggunakan HPLC dan densitometri.

Dilakukan pemurnian dengan menggunakan KLT multi eluen dengan eluen I Heksan : Etil Asetat (7 : 3) sebagai eluen non polar dan eluen II Kloroform : Etil Asetat (4 : 1) sebagai eluen polar pada plat KLT yang berbeda. Hasil yang diperoleh berupa bercak noda tunggal dengan $R_f = 0,4$ pada eluen I dan $R_f = 0,73$ pada eluen II. Pengelusan pada KLT multi eluen dilakukan pada pada plat KLT yang berbeda sesuai eluen yang digunakan.

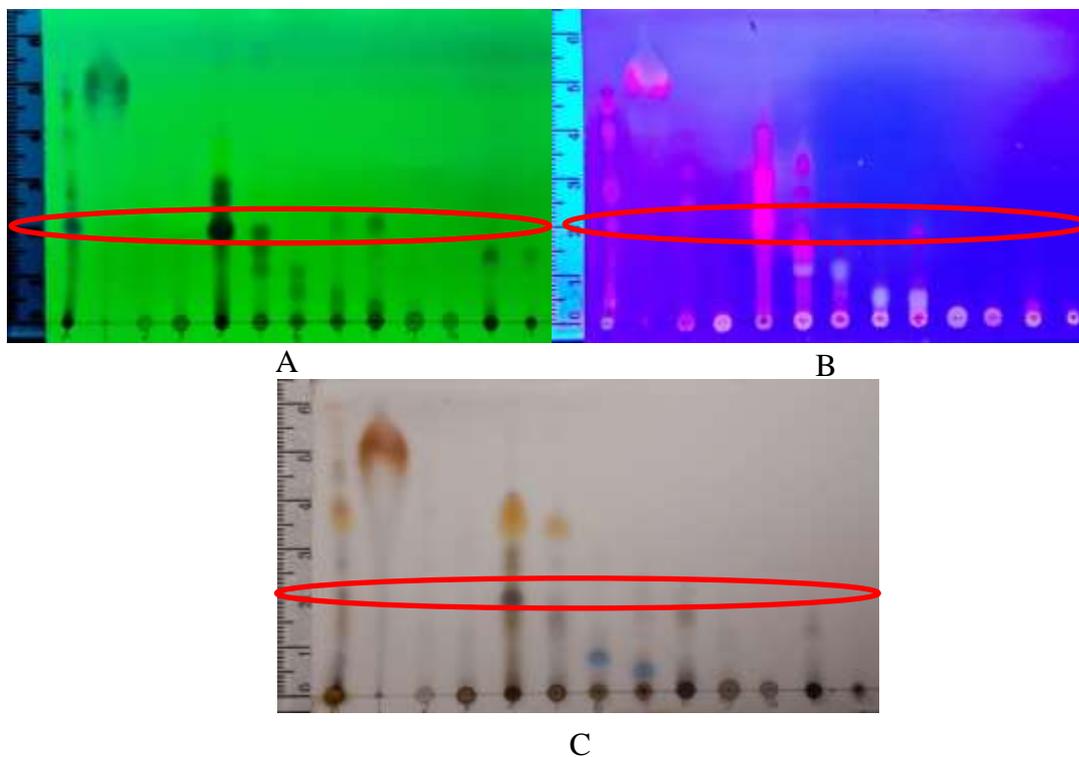
Beda halnya dengan KLT 2D (2 Dimensi) yang menggunakan eluen yang sama dengan KLT multi eluen. Namun, terdapat perbedaan, yakni pada KLT 2D dilakukan pengelusan dengan dua

eluen yang berbeda kepolaran dengan arah yang berbeda pada plat KLT yang sama. Hasil yang diperoleh berupa bercak noda tunggal (murni), baik menggunakan KLT multi eluen maupun KLT 2D.



Gambar 5. Profil KLT Ekstraksi Daun Sirih Hitam dengan Menggunakan Berbagai Pelarut
Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm B = Penampakan pada UV 366 nm

C = Penampakan pada UV H₂SO₄

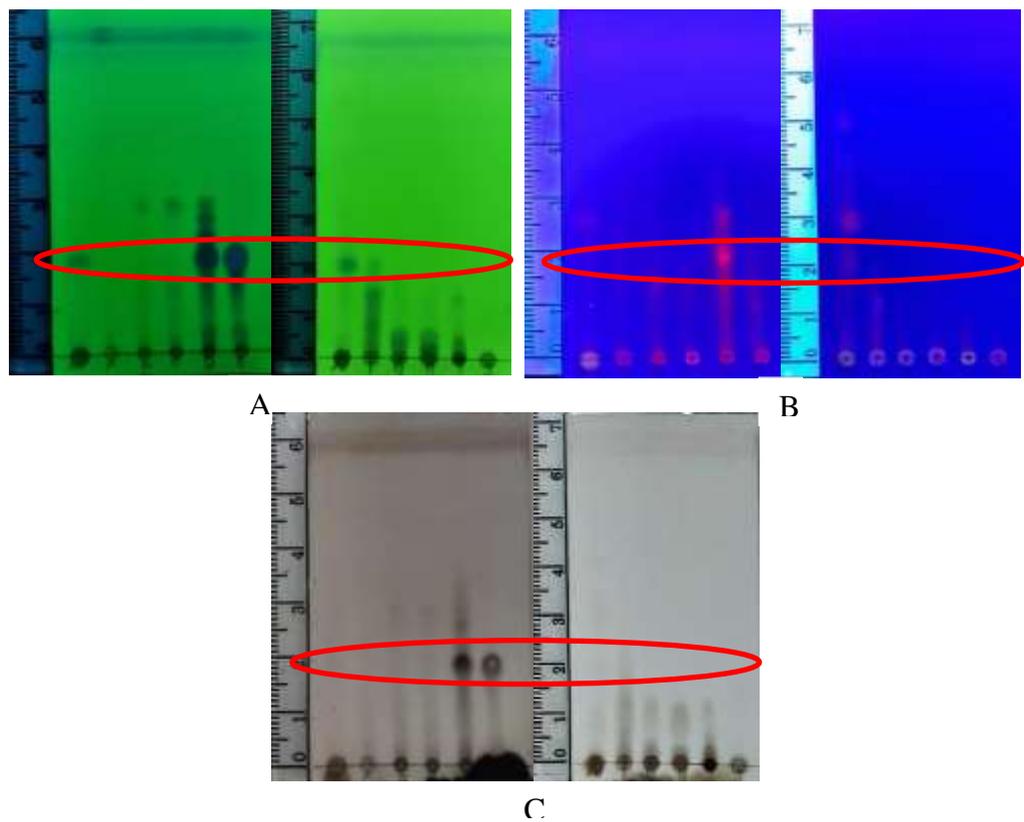


Gambar 6. Profil KLT Fraksinasi Ekstrak Partisi Heksan Daun Sirih Hitam Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Vakum (KCV)

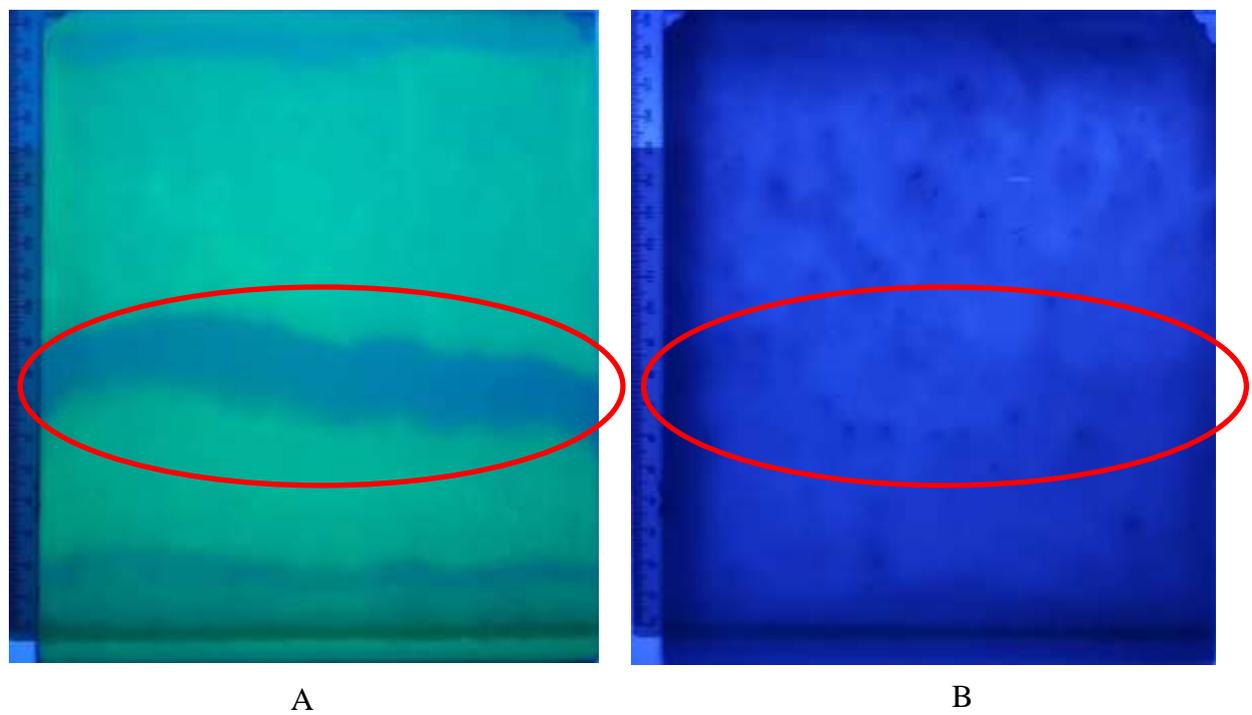
Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm

B = Penampakan pada UV 366 nm

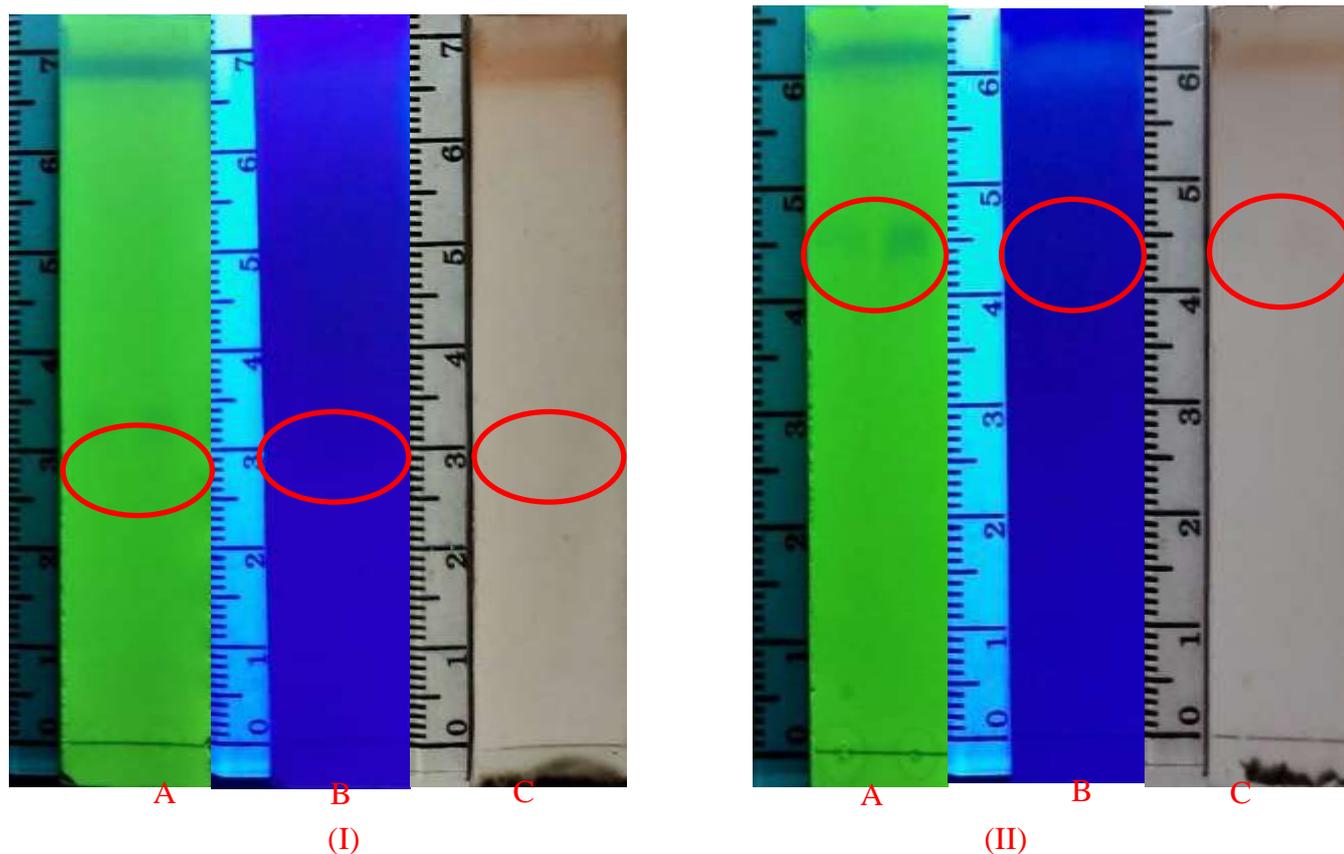
C = Penampakan pada UV H₂SO₄



Gambar 7. Profil KLT Subfraksinasi Fraksi 4 Daun Sirih Hitam Dengan Menggunakan Metode Kolom Konvensional (KK)
Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm B = Penampakan pada UV 366 nm C = Penampakan pada UV H₂SO₄



Gambar 8. Profil KLTP Subfraksinasi Fraksi 4D Daun Sirih Hitam Dengan Menggunakan Metode Kolom Konvensional (KK)
Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm B = Penampakan pada UV 366 nm



Gambar 9. Profil KLT Multi Eluen Isolat Senyawa Marker Daun Sirih Hitam

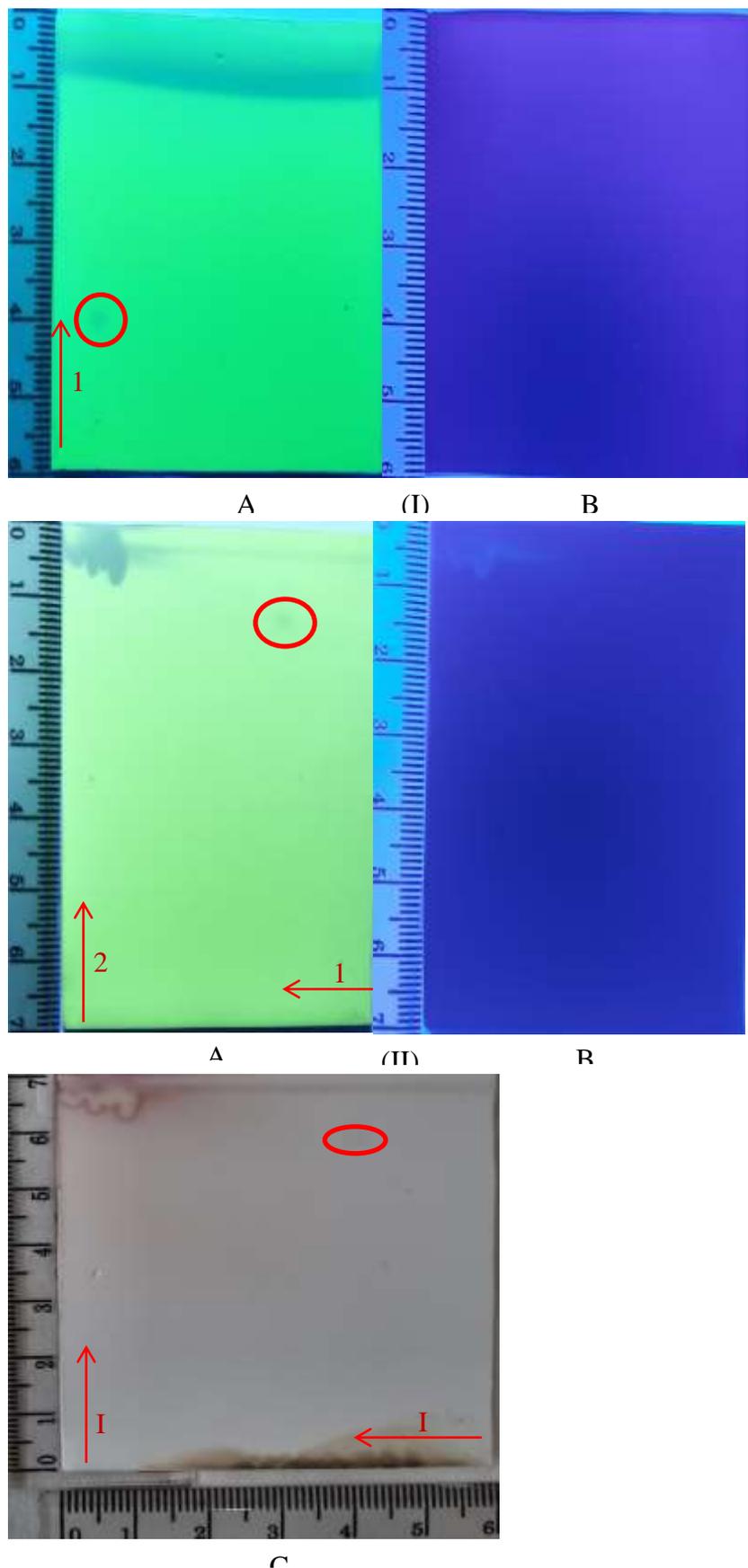
Keterangan: A = Penampakan pada UV 254 nm B = Penampakan pada UV 366 nm C = Penampakan pada UV H₂SO₄
 I = Heksan : Etil Asetat (7 : 3) II = Kloroform : Etil Asetat (4 : 1)

Kuantifikasi Senyawa Marker Menggunakan TLC Scanner

Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam (*P. betle L. var Nigra*) dikumpulkan dari Samarinda (Kalimantan Timur), Wonosobo (Jawa Tengah), Godean (Yogyakarta), dan Banyuwangi (Jawa Timur). Menggunakan eluen heksan : etil Asetat (7:3) sesuai saat isolasi senyawa marker, kemudian dilakukan pengukuran kadar senyawa marker menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) Scanner.

Hasil TLC Scanner Samarinda (Kalimantan Timur) A = Luas area 13376.3 (Ekstrak daun sirih hitam). Untuk hasil TLC Scanner Wonosobo (Jawa

Tengah) B = Luas area 18680.7 (Ekstrak daun sirih hitam). Untuk hasil TLC Scanner Godean (Yogyakarta) C = Luas area 29869.4 (Emulsi daun sirih hitam). Untuk hasil TLC Scanner banyuwangi D = Luas area 1946.3 (Ekstrak daun sirih hitam). Untuk hasil menyeluruh pengujian TLC Scanner pada sampel Daun sirih hitam daerah Samarinda (Kalimantan Timur), Wonosobo (Jawa Tengah), Godean (Yogyakarta), Banyuwangi (Jawa Timur). Dan didapatkan hasil luas area yang paling tinggi di daerah Godean (Yogyakarta) dengan angka 29869.4. Semakin tinggi luas area yang di dapat dapat pada pengujian TLC Scanner maka dapat di artikan aktivitas antimikroba untuk daun tersebut semakin bagus untuk pembuatan sediaan obat.



Gambar 10. Profil KLT 2 Dimensi (2D) Isolat Senyawa Marker Daun Sirih Hitam

■ Kesimpulan

Lokasi tanam berpengaruh terhadap kadar senyawa marker yang diperoleh. Kadar senyawa marker dominan yang paling tinggi berasal dari daun sirih yang ditanam di daerah Godean (Yogyakarta). Semakin tinggi luas area yang di dapat dapat pada pengujian TLC Scanner maka dapat di artikan aktivitas antimikroba.

■ Daftar Pustaka

- [1] Prasetya, F., Salam, S., Rahmadani, A., Haikal, K., Febrina, L., Anshory, H., Arifuddin, M., Siregar, V. O., Narsa, A. C., Herman, H., Ahmad, I., Indriyanti, N., Ibrahim, A., Rusli, R., Rijai, L., & Kuncoro, H. (2021). NOVEL AMIDES DERIVATIVE WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PIPER BETLE VAR. NIGRA LEAVES FROM INDONESIA. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(2), 335. <https://doi.org/10.3390/molecules26020335>
- [2] Prasetya, F. (2012). FORMULASI PASTA GIGI BERBAHAN AKTIF EKSTRAK DAUN SIRIH HITAM SEBAGAI ANTIMIKROBA PENYEBAB RADANG GUSI (GINGIVITIS) DAN GIGI BERLUBANG (CARIES). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 2(1), 19-25, 19-25. doi:<https://doi.org/10.25026/jtpc.v2i1.44>
- [3] Prasetya, F., & Narsa, A. (2013). AKTIVITAS GEL MULUT BERBAHAN AKTIF EKSTRAK DAUN SIRIH HITAM KALIMANTAN SEBAGAI ANTIMIKROBA PENYEBAB RADANG GUSI (Gingivitis) DAN GIGI BERLUBANG (Caries). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 2(3), 146-151, 146-151. doi:<https://doi.org/10.25026/jtpc.v2i3.60>
- [4] Dewi, N. R. K., Kuncoro, H., & Rijai, L. (2015). POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK AIR DAUN SIRIH HITAM (PIPER SP). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(1), 11-15. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i1.9>
- [5] Maulidha, N., Fridayanti, A., & Masruhim, M. A. (2015). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRIH HITAM (PIPER SP.) TERHADAP DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYL HYDRAZYL). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(1), 16-20. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i1.10>
- [6] Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri, N. (2015). ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF Piper crocatum Ruiz & Pav. LEAVES METANOLIC EXTRACT IN RATS. 2015, 16(1), 9. <https://doi:10.22146/tradmedj.8020>
- [7] Alam, B., Akter, F., Parvin, N., Sharmin Pia, R., Akter, S., Chowdhury, J., Haque, E. (2013). ANTI-OXIDANT, ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF THE METHANOLIC EXTRACT OF PIPER BETLE LEAVES. *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(2), 112-125.
- [8] Pavarini D. P., Pavarini S. P., Niehues M. & Lopes N. P. (2012). EXOGENOUS INFLUENCES ON PLANT SECONDARY METABOLITE LEVELS. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176, 5–16.
- [9] Gutbrodt B., Dorn S., Unsicker S. B. & Mody K. (2012). SPECIES-SPECIFIC RESPONSES OF HERBIVORES TO WITHIN-PLANT AND ENVIRONMENTALLY MEDIATED BETWEEN-PLANT VARIABILITY IN PLANT CHEMISTRY. *Chemoecology* 22, 101–111.
- [10] Wink M. (1988). PLANT BREEDING: IMPORTANCE OF PLANT SECONDARY METABOLITES FOR PROTECTION AGAINST PATHOGENS AND HERBIVORES. *Theor. Appl. Genet.* 75, 225–233.