

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* L) DENGAN METODE
1,1-DIFENIL-2-PIKRYLHIDRAZYL (DPPH)**

Rosalina Y. Kurang¹, Bepang Adang²

E-mail: rosalinayuliana89@gmail.com

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Tribuana Kalabahi

ABSTRACT

*Antioxidants are substances that can protect the body from various degenerative diseases caused by free radicals by neutralizing them. Plants that contain antioxidants, chemotaxonomically are characterized by chemical compounds derived from phenolics. One type of plant containing phenolic compounds is Soursop (*Annona muricata* L). This plant is one type of plant from Alor Island, East Nusa Tenggara, which has never been reported before. In this study, phytochemical screening and the antioxidant activity of Soursop leaf (*Annona muricata* L) using the DPPH method will be conducted. The results showed that the class of compounds contained in soursop leaves (*Annona muricata* L.) is a class of alkaloid and flavonoid compounds. Soursop leaves (*Annona muricata* L.) have weak antioxidant activity compared to Vitamin C, with IC₅₀ values of soursop leaves of 292,727 mg/L and vitamin C of 117,140 mg/L but still, have the potential as antioxidants.*

*Keywords: Soursop (*Annona muricata* L), antioxidant, DPPH*

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Antioksidan juga dapat didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif (Winarsi, 2007). Tubuh manusia, sesungguhnya mempunyai sistem antioksidan yang berupa enzim. Enzim tersebut antara lain yaitu superoksida dismutase, katalase, dan glutathione, akan tetapi jumlahnya seringkali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dalam jumlah yang berlebih, sehingga diperlukan makanan yang mengandung bahan antioksidan, seperti flavonoid, vitamin A, vitamin C, vitamin E (Prakash, 2001). Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkan akibat radikal bebas.

Untuk mengetahui tumbuhan yang bersifat antioksidan dapat dilakukan dengan memanfaatkan pengetahuan fitokimia. Fitokimia adalah salah satu

cabang ilmu kimia organik yang mengkaji mengenai senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang berhubungan dengan zat-zat aktif, struktur kimia, biosintesis, metabolisme, efek fisiologis dan farmakologis. Tumbuhan yang mengandung antioksidan, secara kemotaksonomi ditandai dengan adanya senyawa-senyawa kimia turunan fenolat seperti flavonoid, kumarin, santon, benzofenon, tannin, lignin dan antrakuinon (Ersam, 1999).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat adalah tanaman Sirsak (*Annona muricata* L). Tanaman ini merupakan tanaman tropis, dimana daging buahnya berwarna putih susu, rasanya manis asam dan bentuk bijinya kecil dan juga dikenal sebagai tanaman buah. Bagian tanaman sirsak mulai dari daun, buah, bunga, biji, kulit batang sampai akar dapat dimanfaatkan sebagai obat. Daun sirsak menurut beberapa penelitian sebelumnya mempunyai khasiat menghambat sel kanker, sitotoksik, anti jamur, antidiabetes, vasodilator, analgesik, antimalaria, antihepatotoksik, insektisida, antihipertensi, relaksan otot polos, obat jantung dan dapat menghambat radikal bebas. Asetogenin merupakan senyawa dalam daun sirsak yang dapat menghambat sel kanker secara spesifik.

Salah satu daerah yang memiliki tumbuhan ini adalah Kabupaten Alor, Kecamatan Teluk Mutiara khususnya di Desa Adang Buom. Sebagian masyarakat menggunakan daun tumbuhan ini sebagai obat sakit maag. Namun sampai saat ini belum semua masyarakat menggunakan tumbuhan ini sebagai tanaman obat dan juga belum ada penelitian tentang tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L) dari daerah ini. Oleh karena itu perlu melakukan skrining fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan dari daun tumbuhan *Annona muricata* L.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil dari kebun, larutan H_2SO_4 pekat, metanol, $HgCl_2$, HCl pekat, $FeCl_3$ 0,1%, serbuk Magnesium, dan kristal 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) dan Vitamin C.

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis timbangan analitik, inkubator, rotary vacuum evaporator, aluminium foil, spatula, blender dan peralatan gelas.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Ditimbang sebanyak 500 gr serbuk daun sirsak, kemudian dimaserasi dengan 2 L metanol selama 1 hari lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh di evaporasi sehingga mendapatkan ekstrak pekat metanol.

Uji alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambah 2 mL HCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat ditambahkan 2 tetes HgCl_2 . Apabila terbentuk endapan kuning jingga atau putih menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid.

Uji Fenolik

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan metanol 4 mL kemudian dipanaskan. Filtratnya ditambahkan H_2SO_4 . Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL air tambahkan 1 tetes HCl lalu di kocok selama 20 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa (tidak hilang selama 20 menit) maka menunjukkan adanya saponin.

Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 mg ditambahkan 10 mL air dan dididihkan selama 5-10 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtratnya ditambahkan FeCl_3 . Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. Langkah pertama, pembuatan larutan DPPH radikal 6×10^{-5} M dilakukan dengan melarutkan 1.182 mg DPPH kedalam 50 mL metanol. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan 10 mg sampel ke dalam 1 mL metanol. Larutan uji dipipet 33.33 μL dan dimasukkan ke dalam tube yang terlindung dari cahaya, kemudian ditambahkan 1mL DPPH. Campuran larutan tersebut divortex mixer selama 10 detik untuk menghomogenkan. Selanjutnya,

larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan absorbansi ini diukur pada spektrofotometer UV pada panjang gelombang 515 nm (A_s). Larutan Blanko yang digunakan terdiri dari 33.33 μ L metanol dalam 1 mL DPPH yang diukur pada panjang gelombang yg sama (A_b). Asam askorbat digunakan sebagai control positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dilakukan dengan dua kali pengulangan (duplo). Aktivitas penghambatan radikal dapat dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini :

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left[\frac{A_b - A_s}{A_b} \right] \times 100 \quad \text{Ket : } A_b : \text{absorbansi blanko}$$

A_s : absorbansi senyawa uji

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan $y = Ax + B$ ditentukan dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (μ g/mL) dan y adalah persentase inhibisi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibisi Concentration 50% yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% (Liu, et al., 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia merupakan suatu teknik untuk mengetahui atau menganalisis kandungan kimiayang terdapat dalam bagian tumbuhan. Analisis fitokimia ini bersifat kualitatif sehingga kandungan kimia dari tumbuhan dapat diketahui. Secara umum kandungan kimia tumbuhan dapat dikelompokkan ke dalam golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik dan saponin. Untuk mengetahui kandungan senyawa tersebut dilihat dari perubahan warna yang terjadi dan endapan yang terbentuk. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Sirsak

No	Uji	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
1.	Alkaloid	Terbentuk endapan kekuningan	+
2.	Flavonoid	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
3.	Fenolik	Terbentuk warna hitam	-
4.	Saponin	Tidak menghasilkan busa selama 20 detik	-
5.	Tanin	Terbentuk warna hitam kehijauan	-

Keterangan : (+) ada indikasi golongan senyawa dan (-) tidak ada indikasi golongan senyawa.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid dan flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kuning dan berwarna hijau kehitaman. Sedangkan untuk uji fenolik, saponin dan tanin tidak menunjukkan adanya golongan senyawa hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya warna khas dari golongan senyawa fenol, saponin dan tanin.

Alkaloid termasuk senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya berupa sistem siklis. Senyawa alkaloid pada umumnya mengandung atom yang mengandung oksigen. Senyawa alkaloid banyak terkandung dalam akar, batang biji, daun, dari tumbuhan dan juga dari hewan. Kegunaan alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai pelindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon dan juga alkaloid merupakan salah satu senyawa pahit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Flavonoid termasuk salah satu senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan hasil metabolit sekunder yang terakumulasi dari tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini bertanggung jawab atas zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning dalam tumbuhan. Selain itu, flavonoid mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai pereduksi radikal bebas, selain itu juga mempunyai peran penting dalam menghambat mikroba atau sebagai antibiotik.

Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

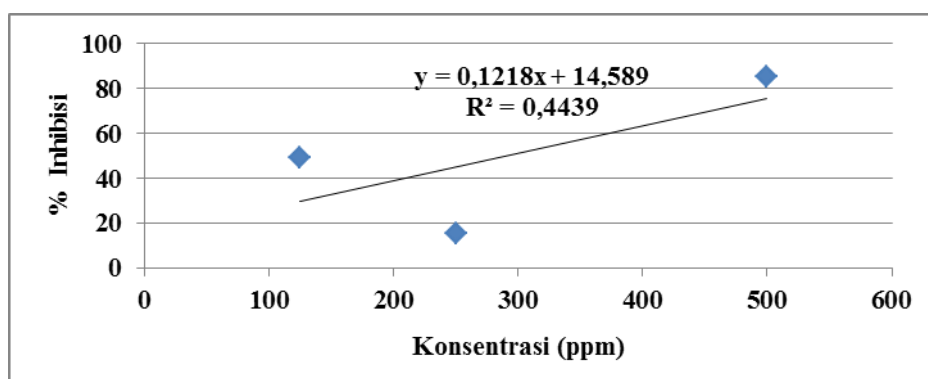
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrasil) yang merupakan radikal sintetik berwarna ungu (Molyneux, 2014). Prinsip dari metode ini adalah terjadinya interaksi antioksidan dengan DPPH secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning dengan panjang gelombang 515 nm. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C. Penggunaan kontrol positif untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak pekat metanol daun sirsak jika dibandingkan dengan vitamin C. Hasil uji DPPH pada ekstrak metanol daun sirsak menunjukkan data absorbansi terhadap DPPH dengan variasi konsentrasi yang diperoleh kemudian dihitung persen inhibisinya. Hasil

uji aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS

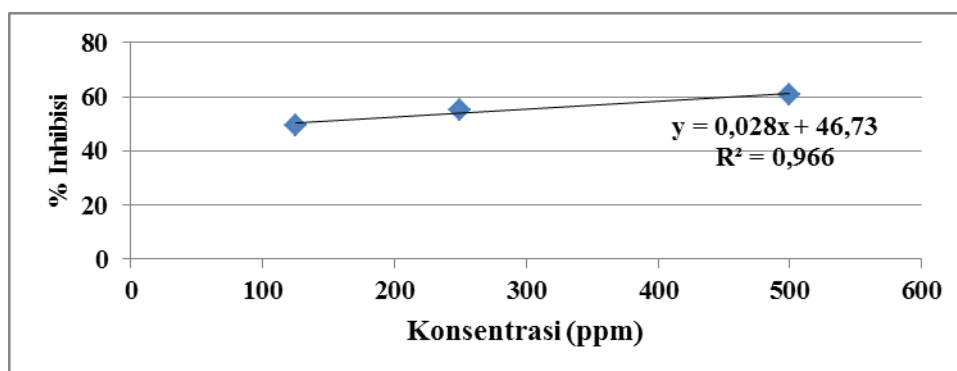
Sampel Uji	Konsentrasi	Absorbansi			Absorbansi Rata-Rata	% Inhibisi
		I	II	III		
Daun	125	0,270	0,261	0,261	0,264	49,4994
Sirsak	250	0,442	0,442	0,441	0,4416	15,5263
	500	0,766	0,766	0,766	0,0766	85,3471
Vitamin C	125	0,263	0,265	0,263	0,2636	49,5695
	250	0,235	0,235	0,234	0,2346	55,1176
	500	0,205	0,205	0,205	0,2050	60,7805
Absorbansi kontrol (Metanol)		0,5227				

Setelah diperoleh presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan $y = ax + b$ maka ditentukan dengan perhitungan secara regresi linear, dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan y adalah presentase inhibisi sebagaimana terlihat pada Gambar 1.



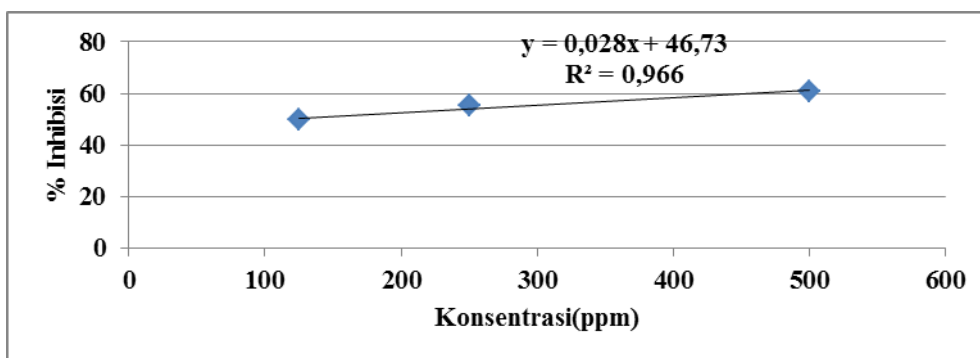
Gambar 1. Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Sirsak

Nilai IC_{50} ekstrak pekat metanol daun Sirsak diperoleh dengan menginterpolasikan nilai $y = 50$ pada tiap ulangan dan diperoleh IC_{50} 292,727 mg/L.



Gambar 2. Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Vitamin C

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah asam askorbat (Vitamin C). Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air. Penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak metanol kulit batang tanaman kersen (*Muntingia calabura*) jika dibandingkan dengan vitamin C. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol daun sirsak menunjukkan ekstrak metanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, bila dibandingkan dengan vitamin C (Gambar. 2) sebagai kontrol positif (IC_{50} 117, 140 mg/L). Apabila nilai IC_{50} sampel sama atau mendekati nilai IC_{50} kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan yang sangat kuat. Menurut Hanani *et al* (2005), suatu bahan uji dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 200 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan untuk senyawa murni memiliki nilai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, Molyneux (2004) menyatakan bahwa bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif, namun masih berpotensi sebagai antioksidan.



Gambar 2. Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Vitamin C

Dari hasil perhitungan didapat nilai IC_{50} vitamin C 117, 140 mg/L, sedangkan nilai IC_{50} dari ekstrak pekat metanol daun sirsak adalah sebesar 292,727 mg/L sehingga daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dibandingkan dengan vitamin C namun masih berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan lemah juga dapat dilihat dari beberapa faktor yaitu senyawa yang terdapat dalam ekstrak pekat metanol masih dalam ekstrak yang tidak murni yang masih berikatan dengan gugus glikosida yang berikatan dengan flavon, sehingga dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa golongan senyawa yang terkandung pada daun sirsak (*Annona muricata* L.) adalah senyawa alkaloid dan flavonoid. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dibandingkan dengan Vitamin C, dengan nilai IC₅₀ daun sirsak sebesar 292,727 mg/L dan vitamin C sebesar 117,140 mg/L namun masih berpotensi sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Denny, A., F. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut terhadap Aktifitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi*. UIN Jakarta.
- Ersam, T., Achmad, S.A., Ghisalberty, E.L., Hakim, E.H.,Tamin,R., 1999, Two Isoprenylated Flavones from the Root Bark of *Artocarpus altilis*(Parkinson) Fosberg, *Proc National Seminar*, 97 –103.
- Hanani, E., Mun'im A, Sekarni R.2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spon s callyspogia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*.
- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu,S., Liu,J (2010). The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry* 261–269.
- Moulyneux, P., 2004. The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) Forestimating Antioxidanactifity Songklanakarin. *J. Sci.Thecnol.* 26(2),211-219.
- Panosvka, T, K., Kulevanova, S., dan stefova. 2005. In Vitro Antioxidan ActivityOf Some Teucrium Spesies (Lamiaceae). *Acta Pharm.* 55, 207-214.
- Pham-Huy LA., H, H., dan Pham-Huy C.2008. Free Radicals, Anatioxidan In Disease AndHealt. *International journal of blomedical science.* 4(2):89-96.
- Rauf, R. U. Santoso., dan Suparno. 2010. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb). *Agritech.* Vol. 30, 1 : 1-11.
- Winarsi, H., 2007, Antioksidan Alami & Radikal Bebas (Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan), Kanisius, Yogyakarta.
-