

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* LINN) TERHADAP DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZIL)

Test Antioxidant Activity of Soursop Leaf (Annona Muricata Linn) Extract Against DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

NISA NASPIAH¹, MUHAMMAD AMIR MASRUHIM², VICTORIA YULITA FITRIANI¹

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman

² Pascasarjana Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mulawarman,
email korespondensi: nnaspiyah@yahoo.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Sirsak termasuk tanaman tahunan yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun. Tanaman ini selain dikenal buahnya, daunnya juga sering digunakan sebagai obat. Daun sirsak secara empiris sering digunakan dalam pengobatan kanker (penyakit yang salah satunya disebabkan oleh radikal bebas/oksidan), sehingga ingin diketahui aktivitas antioksidan dari daun sirsak. Penelitian ini salah satunya bertujuan untuk mengetahui nilai IC₅₀ ekstrak daun sirsak. Uji daya antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) secara spektrofotometri. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar dan ekstrak fraksi dengan berbagai pelarut, yakni metanol, n-butanol, etil asetat, dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak metanol adalah 23,6 ppm, ekstrak fraksi n-heksana 30,1 ppm, ekstrak fraksi etil asetat 18,05 ppm, dan ekstrak fraksi n-butanol sebesar 14,8 ppm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: *annona muricata linn*, antioksidan, daun sirsak, DPPH, IC₅₀

Abstract

Has done research with the title of Soursop Leaf Extract Antioxidant Activity Assay (Annona muricata Linn) against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Soursop including the annual plant that can grow and bear fruit throughout the year. This plant is known besides the fruit, leaves are also commonly used as a drug. Soursop leaf is often used empirically in the treatment of cancer (a disease one caused by free radicals / oxidants), so we want to know the antioxidant activity of the soursop leaves. This research aims to determine IC₅₀ value of soursop leaf extract. Test the power of antioxidants in this research was conducted by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) by spectrophotometry. Extracts has been used in this research is crude extract and extract fractions with different solvents, namely methanol, n-butanol, ethyl acetate, and n-hexane. The results showed that the methanol extract IC₅₀ value is 23,6 ppm, the extract fraction of 30,1 ppm n-hexane, ethyl acetate extract fraction of 18,05 ppm, and n-butanol extract fractions of 14,8 ppm. From these results it can be seen that the soursop leaf extract has a very strong antioxidant activity.

Keyword: *annona muricata linn*, antioxidant, DPPH, IC₅₀, soursop leaf

Pendahuluan

Sirsak (*Annona muricata* Linn) atau yang sering disebut dengan nangka belanda merupakan tanaman yang buahnya berasa manis-manis asam, sehingga agak kurang disukai atau jarang dikonsumsi oleh masyarakat. Tanaman ini berbuah sepanjang tahun dan memiliki buah yang berduri lunak.

Tanaman ini selain buahnya berasa khas, ternyata bagian daunnya dapat digunakan sebagai obat. Berbagai pengalaman empiris di masyarakat, khususnya masyarakat Kalimantan Timur, daun sirsak digunakan sebagai resep tradisional untuk menyembuhkan kanker. Berbagai informasi juga menunjukkan tanaman sirsak memiliki aktivitas antikanker (Alali et al., 1999).

Kanker adalah suatu penyakit yang salah satunya disebabkan oleh senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki elektron bebas, sehingga mencari pasangan elektron bebasnya atau bersifat reaktif. Senyawa radikal bebas ini dapat dihambat dengan suatu senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dari tanaman biasanya berupa senyawa-senyawa fenol dan turunannya. Senyawa-senyawa ini bersifat antioksidan kuat (Heinrich et al., 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Erna Candra Asih

pada tahun 1992, menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirsak yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman ini. Masyarakat pada umumnya kurang mengetahui khasiat daun sirsak ini sebagai antioksidan dan penelitian mengenai potensi daun sirsak sebagai antioksidan di Indonesia pun masih kurang, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun sirsak yang umumnya digunakan masyarakat untuk mengatasi kanker.

Adapun tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak daun sirsak, sedangkan tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50) dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol dan mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap aktivitas antioksidannya.

Metode

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini,

antara lain timbangan analitik, wadah kaca (toples kaca), rotary evaporator, water bath, botol kaca, corong Buchner, corong pisah 500 mL, Spektrofotometer UV-Visible, dan beberapa alat kaca lainnya (labu ukur, labu ukur gelap, corong, gelas kimia, pipet, batang pengaduk, kaca arloji, cawan penguap, dan lain-lain).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun sirsak (*Annona muricata* Linn), aquadest, metanol, n-heksana, etil asetat, n-butanol, vitamin C, dan pereaksi DPPH.

3. Prosedur Penelitian

a. **Penyiapan Sampel**, Sampel daun sirsak yang diambil adalah daun sirsak yang berwarna hijau tua. Sampel dicuci, dikeringkan dengan diangin-anginkan pada udara terbuka tanpa terpapar sinar matahari secara langsung, dan dipotong kecil-kecil.

b. **Pembuatan Ekstrak**, Sebanyak 200 g simplisia daun sirsak direndam dalam 2,6 L pelarut metanol. Sampel direndam selama lima hari hingga didapatkan ekstrak metanol cair. Sampel disaring dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Setelah itu, dikeringkan di water bath untuk mendapatkan ekstrak metanol.

Ekstrak metanol kering sebanyak 5 g dilarutkan dalam 50 mL aquades. Dimasukkan filtrat ke dalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 50 mL dan dilakukan pengocokan di dalam corong pisah. Setelah itu, didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan, yakni lapisan n-heksana (ekstrak fraksi n-heksana) dan lapisan air (ekstrak fraksi air). Selanjutnya, ekstrak fraksi n-heksana dipisahkan dari ekstrak fraksi air untuk diuapkan. Untuk ekstrak fraksi air, akan dilakukan fraksinasi selanjutnya dengan pelarut etil asetat dan n-butanol untuk mendapatkan ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi n-butanol. Proses ini dilakukan berulang kali untuk masing-masing pelarut.

c. **Uji Antioksidan**, Larutan DPPH $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dibuat dengan cara melarutkan 4 mg serbuk DPPH dalam 100 mL metanol di dalam labu ukur gelap, lalu divorteks. Ekstrak metanol $1530 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 7,65, 15,3, 22,95, 30,6, 38,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Sementara itu, ekstrak fraksi n-heksana $1260 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 3,78, 8,82, 13,86, 16,38, 18,9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dan untuk ekstrak fraksi etil asetat $1180 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 2,36, 7,08, 11,8, 17,7, 23,6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Ekstrak fraksi n-butanol $1110 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 2,22, 6,66, 11,1, 16,65, 22,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dan untuk vitamin C $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 4, 5, 6, 7, 8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Masing-masing konsentrasi dibuat replikasinya sebanyak 3 kali.

Ke dalam 2 mL ekstrak dimasukkan 2 mL larutan DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi tertutup. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-

Visible (Prakash et al., 2001). Panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada uji pendahuluan.

Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Dari data absorbansi yang diperoleh, dengan menghubungkan konsentrasi (x) terhadap % aktivitas antioksidan ekstrak (y), maka didapat nilai intersep (a) dan slop (b), serta resultan (r) yang kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis regresi linear berikut.

$$y = bx + a \dots\dots\dots (1)$$

Berdasarkan "Persamaan 1", maka didapat nilai IC_{50} ekstrak yang merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% radikal.

Hasil Dan Pembahasan

Ekstrak daun sirsak merupakan simplisia daun sirsak yang telah mengalami proses ekstraksi. Ekstraksi adalah suatu proses penyarian atau penarikan komponen-komponen zat dari suatu bahan dengan menggunakan suatu pelarut. Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan cara maserasi. Pada penelitian ini, maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Pelarut ini dipilih karena kemampuannya baik dalam menarik komponen-komponen senyawa dalam suatu bahan.

Ekstrak metanol hasil maserasi difraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut, yaitu n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Fraksinasi dilakukan dengan cara fraksinasi cair-cair. Fraksinasi ini bertujuan untuk mengelompokkan senyawa dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda, yakni tinggi, sedang, dan rendah.

Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak diketahui melalui uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan yang dimiliki oleh suatu zat untuk mencegah terjadinya oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah teroksidasi dengan cara menyumbangkan elektronnya. Metode DPPH merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Visible. Metode ini digunakan karena merupakan metode yang sederhana, cepat, dan hanya membutuhkan sedikit sampel uji.

Prinsip dari metode ini adalah DPPH yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan akan bereaksi dengan senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel (dalam hal ini ekstrak daun sirsak) dengan cara senyawa antioksidan menyumbangkan satu elektronnya untuk DPPH, sehingga terbentuk senyawa yang stabil.

Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, intensitas warna larutan DPPH akan berkurang dari ungu gelap menjadi kuning. Reaksi ini menyebabkan menurunnya konsentrasi DPPH yang tidak berikatan dengan senyawa antioksidan, sehingga absorbansi DPPH akan menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi senyawa antioksidan yang diberikan. Hal ini dikarenakan absorbansi yang terbaca pada alat *Spektrofotometer UV-Visible* adalah absorbansi DPPH yang tersisa atau yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan pada sampel. Dengan semakin turunnya absorbansi DPPH, maka menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa karena semakin

banyak DPPH yang bereaksi dengan senyawa tersebut.

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah nilai konsentrasi penghambatan (*Inhibition Concentration*) atau yang disebut dengan IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal. Senyawa atau zat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm ($\mu\text{g/mL}$) (Brand-Williams et al., 1995). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Mardawati et al., 2008).

Tabel 1. Hasil Pengukuran Absorban dan Nilai IC_{50} Ekstrak dan Vitamin C Setelah Perlakuan

Sampel	Kons. (ppm)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan Regresi Linier	IC_{50} (ppm)
Ekstrak metanol	0 (Blanko)	0,484	0	$y = 2,031x + 2,133$ $r = 0,998$	23,6
	7,65	0,407	15,9		
	15,3	0,315	34,99		
	22,95	0,244	49,59		
	30,6	0,173	64,32		
	38,25	0,102	78,92		
Ekstrak fraksi n-heksana	0 (Blanko)	0,471	0	$y = 1,819x - 4,775$ $r = 0,999$	30,1
	3,78	0,460	2,26		
	8,82	0,419	11,04		
	13,86	0,374	20,53		
	16,38	0,354	24,84		
	18,9	0,331	29,79		
Ekstrak fraksi etilasetat	0 (Blanko)	0,516	0	$y = 2,526x + 4,413$ $r = 0,999$	18,05
	2,36	0,459	11,05		
	7,08	0,409	20,8		
	11,8	0,336	34,82		
	17,7	0,2597	49,68		
	23,6	0,187	63,69		
Ekstrak fraksi n-butanol	0 (Blanko)	0,450	0	$y = 3,14x + 3,516$ $r = 0,999$	14,8
	2,22	0,407	9,48		
	6,66	0,339	24,67		
	11,1	0,271	39,85		
	16,65	0,199	55,78		
	22,2	0,124	72,52		
Vitamin C	0 (Blanko)	0,528	0	$y = 12,52x - 18,602$ $r = 0,996$	5,5
	4	0,364	30,99		
	5	0,297	43,81		
	6	0,216	59,02		
	7	0,176	66,6		
	8	0,094	82,2		

Berdasarkan data tabel 1, terlihat ekstrak fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi di antara ekstrak yang lain jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol. Hal ini dikarenakan nilai IC_{50} ekstrak fraksi n-butanol paling rendah di antara ekstrak yang lain, dimana semakin rendah nilai IC_{50} suatu ekstrak, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hal ini diperkirakan karena telah terjadi pengelompokan senyawa antioksidan di dalam ekstrak fraksi tersebut, sehingga aktivitasnya menjadi lebih tinggi dari ekstrak yang lain.

Dari penelitian ini juga, diketahui bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak daun sirsak berada di bawah 50 ppm,

dimana telah dijelaskan sebelumnya bahwa nilai IC_{50} di bawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari suatu senyawa. Selain itu, dari hasil analisis statistika, konsentrasi terkecil dari tiap ekstrak, yakni konsentrasi di bawah 10 ppm, sudah dapat menimbulkan aktivitas peredaman terhadap radikal bebas. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dikatakan dan disimpulkan bahwa daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan konsentrasi yang kecil. Selain itu, diketahui dari penelitian ini ekstrak fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat di antara ekstrak yang lain.

Dari penelitian ini juga, diketahui bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak daun sirsak berada di bawah 50 ppm, dimana telah dijelaskan sebelumnya bahwa nilai IC₅₀ di bawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari suatu senyawa. Selain itu, dari hasil analisis statistika, konsentrasi terkecil dari tiap ekstrak, yakni konsentrasi di bawah 10 ppm, sudah dapat menimbulkan aktivitas peredaman terhadap radikal bebas. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dikatakan dan disimpulkan bahwa daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan konsentrasi yang kecil. Selain itu, diketahui dari penelitian ini ekstrak fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat di antara ekstrak yang lain.

Daftar Pustaka

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : Penerbit ITB.
- Alali, F. Q., Liu, X.X., and McLaughlin, J.L. 1999. *Annonaceous Acetogenins : Recent Progress*, dalam Shyng-Shiou F. Yuan, Hsueh-Ling Chang, Hsiao-Wen Chen, Yao-Tsung Yeh, Ying-Hsien Kao, Kuei-Hsiang Lin, Yang-Chang Wu, Jiniu-Huang Su. *Annonacin, a Mono-tetrahydrofuran Acetogenin, Arrests Cancer Cells At The G1 Phase and Causes Cytotoxicity in a Bax- and Caspase-3-related Pathway*, jurnal. Taiwan : Department of Obstetrics and Gynecology, Kaohsiung Medical University Hospital.
- Andayani, Regina, Lisawati, Y., dan Maimunah. 2003. *Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (Solanum Lycopersicum L.)*. Padang : Fakultas Farmasi-Universitas Andalas.
- Asih, E C. 1992. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Daun Sirsak (Annonae muricatae folium)*. Surabaya : Fakultas Farmasi-Universitas Airlangga.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., dan Berset, C. 1995. *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*, dalam Ruth Marlani Silalahi. *Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bunga Tumbuhan Brokoli (Brassica oleracea L. var. botrytis L.)*, skripsi. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Halliwel, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, dalam Ruth Marlani Silalahi. *Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bunga Tumbuhan Brokoli (Brassica oleracea L. var. botrytis L.)*, skripsi. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Heinrich, Michael, Joanne Barnes, Simon Gibbons, dan Elizabeth M. Williamson. 2008. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mardawati, Efri, C. S., Achyar, Marta, dan Herlina. 2008. *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*. Bandung : Fakultas Teknologi Industri Pertanian-Universitas Padjadjaran
- Molyneux, P. 2004. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. Songklanakarin J. Sci. Technol.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. 2001. *Antioxidant Activity, dalam Rahayu. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia catappa L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH)*. Universitas Diponegoro.
- Radi, J. 1997. *Sirsak Budi Daya dan Pemanfaatannya*. penerbit Kanisius: Yogyakarta.
- Rohman, A. dan R., Sugeng. 2005. *Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) Secara In Vitro*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.