

UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* L.): STUDI KUALITATIF DAN KUANTITATIF

La Ode Muhammad Anwar^{1*}, Rini Afifah Puspitawati², Asyafa Nursyahada³, Retno Tri Anjani⁴, Salma Nabila⁵, Wiwin Try Ayu Rombe⁶

¹⁻⁶Progam Studi Sarjana Farmasi, Universitas Medika Suherman

Alamat e-mail : la.ode.muhamad.anwar@medikasuherman.ac.id

Received: 24 November 2024; Revised: 27 November 2024; Accepted: 14 Desember 2024

Abstract

Background: Increased exposure to free radicals due to modern lifestyles poses a serious threat to human health. Cellular damage caused by free radicals can trigger various degenerative diseases. Soursop leaves (Annona muricata L.), with diverse phytochemical compounds. This study aims to determine the antioxidant compounds of soursop leaf extract qualitatively and quantitatively. Methods: Antioxidant test of soursop leaves was determined using KLT method for qualitative test and DPPH inhibition for quantitative test. Results: The results showed fluorescence on the KLT plate with wavelengths of 254 nm and 365 nm and an IC₅₀ value of 10 µg/mL. Conclusion: The results of this study indicate that soursop leaves have high antioxidant activity, making them a potential source of natural antioxidants.

Keywords: *annona muricata*, antioxidant, DPPH

Abstrak

Peningkatan paparan radikal bebas akibat gaya hidup modern menjadi ancaman serius bagi kesehatan manusia. Kerusakan sel akibat radikal bebas dapat memicu berbagai penyakit degeneratif. Daun sirsak (*Annona muricata* L.), dengan kandungan senyawa fitokimia yang beragam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa antioksidan dari ekstrak daun sirsak secara kualitatif dan kuantitatif. Uji antioksidan daun sirsak ditentukan menggunakan metode KLT untuk uji kualitatif dan peredaman DPPH untuk uji kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan adanya fluoresensi pada lempeng KLT dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm serta nilai IC₅₀ sebesar 10 µg/mL. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, sehingga berpotensi menjadi sumber antioksidan alami.

Kata kunci: *annona muricata*, antioksidan, DPPH

A. PENDAHULUAN

Meningkatnya paparan polutan lingkungan dan pola hidup modern yang tidak sehat, seperti merokok dan konsumsi makanan olahan, telah menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuh manusia. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak

berpasangan, menjadikannya bersifat tidak stabil (Shetty et al., 2023; Suri et al., 2023). Kondisi ini membuat radikal bebas terus mencari elektron untuk berpasangan, sehingga dapat merusak sel-sel tubuh yang sehat. Kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas merusak lipid, protein, dan DNA, sehingga memicu berbagai penyakit *degenerative*

(Martemucci et al., 2022). Untuk menangkal serangan radikal bebas, tubuh memiliki sistem pertahanan alami berupa senyawa alami antioksidan. Senyawa antioksidan mampu menyerap atau menetralkan radikal bebas, sehingga dapat berperan dalam mencegah berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, dan gangguan kesehatan lainnya (Chaudhary et al., 2023).

Seiring dengan meningkatnya kesadaran akan pentingnya kesehatan, minat masyarakat terhadap bahan-bahan alami yang kaya akan antioksidan semakin meningkat. Sumber tanaman yang mengandung antioksidan dan telah diuji aktivitas antioksidannya adalah daun sirsak (Yu et al., 2021). Daun sirsak (*Annona muricata* L.) adalah salah satu tumbuhan yang mengandung beragam senyawa fitokimia dengan aktivitas antioksidan. Beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam daun sirsak meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin. Flavonoid, sebagai salah satu senyawa aktif, berfungsi sebagai antibiotik dengan mengganggu aktivitas mikroorganisme seperti bakteri dan virus dan memberikan donor proton pada radikan bebas terutama ROS (Balderrama-Carmona et al., 2020; Mutakin et al., 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Putri et al (2023) menyatakan bahwa ekstrak methanol daun sirsak memiliki jumlah kandungan flavonoid sebanyak 9,25 mgQE/g. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas (Slika et al., 2022).

Untuk mengetahui secara pasti jenis dan jumlah senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun sirsak, serta potensi penggunaannya sebagai antioksidan, diperlukan proses pengujian aktivitas antioksidan. Beberapa metode yang digunakan dalam pengujian antioksidan baik kualitatif ataupun kuantitatif. Secara kualitatif bisa menggunakan beberapa metode diantaranya menggunakan reagen pereaksi dan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Untuk pengujian kuantitatif, metode yang lebih mudah dan praktis yaitu peredaman radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) bisa

digunakan (Gülçin & Alwasel, 2023; Silva et al., 2024; Tharindu Madhuranga & Samarakoon, 2023). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini untuk melihat daya antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan analisis kualitatif dan kuantitatif sehingga menjadi rujukan dalam pengembangan obat terbaru.

B. METODE

1. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.). Adapun bahan yang lain di antaranya Alkohol 70%, n-heksan, etil asetat, etanol 90%, silica gel, metanol, n-Butanol, dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, di antaranya timbangan digital, kertas perkamen, sendok tanduk, saringan, perkolasi, alumunium foil, batang pengaduk, beaker glass, gelas ukur, alat UV, labu ukur, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, chamber, plat KLT, pipa kapiler, penggaris, cawan porselin, evaporator, oven, kompor, corong kaca, desikator, statif, klem, vial, kromatografi kolom kaca, pipet tetes, pinset.

2. Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi. Serbuk simplisia sebanyak 250 gram, masukkan kedalam toples yang besar dan diisi menggunakan etanol hingga penuh, tutup toples dan selama 3x24 jam (3x penyaringan) pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya matahari sambil dilakukan pengadukan, kemudian disaring menggunakan kain flanel dan ditambahkan etanol 70%, diaduk dan disaring kembali hingga diperoleh sari yang maksimal, lalu hasil ekstrak dimasukkan kedalam *rotary flask*, kemudian tentukan suhu untuk didalam *water bath*, nyalakan *rotary evaporator*, tunggu hingga hasil ekstraknya mengental, diambil hasil ekstraknya dan disimpan pada suhu kamar (Jha & Sit, 2022).

3. Identifikasi senyawa dengan metode KLT

Siapkan kertas KLT dengan ukuran 7 cm x 1 cm, dan buat garis dengan ukuran 1 cm atas dan bawah, siapkan chamber dan ambil larutan n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 5:5, 6:4 dan 7:3, lalu larutkan ekstrak daun sirsak dengan etanol sedikit, ambil larutan ekstrak menggunakan pipa kapiler, totolkan ditengah-tengah garis bawah kertas KLT, Kertas KLT yang telah ditotol diangin-anginkan sebentar, kemudian dimasukkan kedalam masing-masing chamber, bila eluen telah mencapai batas kertas KLT maka lempeng tersebut dapat dikeluarkan, lalu amati bercak di kertas KLT menggunakan alat UV dan hitung setiap perbedaan warna pada kertas KLT menggunakan penggaris untuk menghitung Rf-nya.

4. Uji Antioksidan

Ekstrak kental disiapkan dengan seri konsentrasi yaitu 5, 10, 15 dan 20 ppm. Setiap ekstrak diberikan larutan DPPH sebanyak 2-3 tetes. Larutan uji ekstrak yang masih ada tadi dimasukkan kedalam labu ukur dan jika kurang tambahkan metanol hingga tanda batas, lalu tutup semua labu ukur menggunakan alumunium foil dan taruh di tempat gelap selama 30 menit, lalu ukur masing-masing sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan catat hasil yang didapat apabila masing-masing konsentrasi yang diuji memiliki aktivitas antioksidan maka radikal DPPH dimana diukur pada panjang gelombang 517 nm (Gülçin & Alwasel, 2023).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses Ekstraksi

Pada penelitian ini digunakan sampel daun sirsak (*Annona Muricata. L*) dalam bentuk serbuk sebanyak 250 g. Proses ekstraksi simplisia daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 70% dalam sebuah bejana. Metode ini dipilih karena tidak hanya memanfaatkan peralatan sederhana tetapi juga mampu menghasilkan ekstraksi zat berkhasiat

secara optimal dari simplisia. Proses ekstraksi dilakukan dengan sesekali mengaduk dalam waktu yang teratur sambil melindungi dari paparan cahaya. Langkah ini bertujuan untuk mencegah terjadinya oksidasi pada simplisia hingga menghasilkan filtrat.

Tabel 1. Hasil Ekstrak

Bobot Ekstrak Cair (g)	Bobot Ekstrak Penguapan (g)	% Rendemen
94,594 g	2,977 g	3,15 %

Tabel 2. Nilai Rf pada Uji KLT

Sampel	Nilai Rf		
	Perbandingan (cm)		
	6:4	5:5	7:3
Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i>)	Rf 1 : 0,08	Rf 1 : 0,05	Rf 1 : 0,05
	Rf 2 : 0,31	Rf 2 : 0,08	Rf 2 : 0,15
	Rf 3 : 0,1	Rf 3 : 0,36	Rf 3 : 0,06
	Rf 4 : 0,06	Rf 4 : 0,05	Rf 4 : 0,12
	Rf 5 : 0,03	Rf 5 : 0,06	Rf 5 : 0,06
	Rf 6 : 0,05	Rf 6 : 0,05	Rf 6 : 0,03

Proses Penguapan Pelarut

Tujuan dari penguapan ini untuk menghilangkan cairan penyari yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan metode evaporasi menggunakan alat rotary flask untuk mengentalkan hasil ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*), evaporasi terjadi ketika suhu suatu bahan mencapai atau melebihi titik didih cairan.

Evaporator bekerja berdasarkan prinsip penguapan yang terjadi akibat pemanasan, yang dipercepat oleh putaran labu alas bulat. Cairan penyari dapat menguap pada suhu 5-10°C lebih rendah dari titik didih pelarutnya karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap dari larutan penyari akan bergerak menuju kondensor, di mana uap tersebut didinginkan. Berdasarkan hasil rendamen (Tabel 1.) yaitu sebanyak 3,15 %. Sebanding dengan penelitian Parmadi

(2020) yang memperoleh rendamen ekstrak etanol sebanyak 5,79 % b/b.

Identifikasi Golongan Senyawa Metode KLT

Pengujian ini melibatkan analisis ekstrak daun sirsak menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Tujuan dari uji ini adalah untuk memahami proses pemisahan dengan metode KLT serta melakukan identifikasi kualitatif melalui noda yang terbentuk pada plat KLT. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan komponen dalam campuran. Proses KLT dilakukan pada plat yang terbuat dari kaca, plastik, atau aluminium foil yang dilapisi dengan silica gel atau selulosa. Setelah sampel diterapkan pada plat, fase gerak akan ditarik melalui aksi kapiler.

Pemisahan menggunakan KLT dilakukan berulang kali dengan berbagai eluen yang memiliki tingkat kepolaran berbeda, untuk menemukan pelarut yang dapat memberikan pemisahan optimal serta menghasilkan noda zat warna yang jelas. Bercak pada plat KLT diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm.

Pada praktikum kali ini di gunakan bahan sampel yaitu serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan perbandingan nilai Rf yang berbeda dan dilakukan dengan dua kali pengujian pada tiap-tiap nilai banding nya. Hasil pada perbandingan 6:4 untuk Rf 1 di dapatkan nilai 0,8; Rf 2 di dapatkan nilai 0,31;

Rf 3 didapatkan nilai 0,1; Rf 4 didapatkan nilai 0,06; Rf 5 didapatkan nilai 0,03; Rf 6 didapatkan nilai 0,05.

Lalu pada 5:5 Rf 1 di dapatkan nilai 0,05; Rf di dapatkan nilai 0,08; Rf 3 didapatkan nilai 0,36; Rf 4 mendapatkan nilai 0,05; Rf 5 didapatkan nilai 0,06; Rf 6 didapatkan nilai 0,05.

Sedangkan untuk yang terakhir yaitu 7:3 Rf 1 di dapatkan nilai 0,05; Rf 2 di dapatkan nilai 0,15; Rf 3 didapatkan nilai 0,06; Rf 4 didapatkan nilai 0,12; Rf 5 didapatkan nilai 0,06; dan yang terakhir pada Rf 6 didapatkan nilai 0,08. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat fluoresensi pada kedua panjang gelombang tersebut. Semua flavonoid memiliki kromofor aromatik, seperti yang ditunjukkan oleh serapan UV di wilayah 250 nm dari spektrum UV mereka. Flavonoid tertentu mengandung kromofor karbonil dan menyerap cahaya di wilayah 300 nm (Sisa et al., 2010)

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas kadar antioksidan dilakukan dengan metode peredaman DPPH. Metode DPPH adalah uji kuantitatif yang digunakan untuk mengukur tingkat aktivitas antioksidan, serta prosedur pengukuran yang sederhana dan cepat. Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum dari larutan DPPH 20 µg/ml menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan panjang gelombang 517,0 nm dengan absorbansi sebesar 0,533.

Tabel 3. Nilai IC50

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata- rata	% Inhibisi	IC 50 (µg/mL)
	1	2	3			
5 ppm	26,264	26,295	26,262	26,273	105,36	10
10 ppm	0,070	0,012	0,001	0,028	88,66	
15 ppm	0,013	0,008	0,004	0,008	96,76	
20 ppm	0,024	0,052	0,041	0,039	64,21	
Blanko	0,226	0,301	0,222	0,249	0,0	

Kekuatan antioksidan dalam menangkal radikal bebas dapat dilihat dari nilai IC₅₀. IC₅₀ adalah konsentrasi antioksidan dalam satuan mikrogram/mililiter yang dapat mengurangi 50% aktivitas radikal bebas atau menghambat 50% oksidasi. Semakin kecil nilai IC₅₀, semakin tinggi aktivitas antioksidan (Martinez-Morales et al., 2020). Suatu senyawa dianggap sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀-nya kurang dari 50 µg/mL, kuat jika IC₅₀ berada di antara 50-100 µg/mL, sedang jika IC₅₀-nya 100-150 µg/mL, dan lemah jika IC₅₀ lebih dari 151-200 µg/mL. Kekuatan antioksidan ini dianalisis menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). DPPH merupakan suatu radikal. Senyawa polifenol seperti flavonoid mampu menangkal radikal tersebut dengan *resonance effects* (Ullah et al., 2020). Berdasarkan nilai IC₅₀ (Tabel 3.) menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 10 µg/mL. Sedangkan jika dibandingkan dengan vitamin C, penelitian yang dilakukan oleh Triyono (2018) nilai IC₅₀ vitamin C adalah 3,14 µg/mL. Menunjukkan antioksidan yang kuat meskipun terdapat perbedaan konsentrasi. Hasil ini menunjukkan, daun sirsak memiliki potensial sebagai bahan baku obat yang memiliki antioksidan yang tinggi.

D. PENUTUP

Simpulan

Ekstrak daun sirsak terdapat aktivitas antioksidan, dimana pada uji kualitatif terdapat fluoresensi pada lempeng KLT 254 dan 365 nm dan uji kuantitatif dengan nilai IC₅₀ sebesar 10 µg/mL. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat sehingga dapat dikembangkan sebagai antioksidan alami yang potensial.

Saran

1. Pastikan daun sirsak yang dikumpulkan dalam kondisi segar, bebas dari hama dan penyakit, serta diidentifikasi dengan benar.
2. Lakukan percobaan pendahuluan untuk menentukan waktu dan suhu ekstraksi

yang optimal bagi setiap metode ekstraksi yang dipilih.

3. Lakukan uji mekanisme antioksidan lain untuk mengetahui cara kerja senyawa dalam menetralkan radikal bebas, misalnya melalui uji *scavenging* radikal hidroksil atau uji penghambatan peroksidasi lipid.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada seluruh mahasiswa yang terlibat khususnya mahasiswa farmasi angkatan ke-5, UMS yang telah membantu pembuatan manuskrip jurnal.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Balderrama-Carmona, A. P., Silva-Beltrán, N. P., Gálvez-Ruiz, J.-C., Ruíz-Cruz, S., Chaidez-Quiroz, C., & Morán-Palacio, E. F. (2020). Antiviral, Antioxidant, and Antihemolytic Effect of *Annona muricata* L. Leaves Extracts. *Plants*, 9(12), 1650. <https://doi.org/10.3390/plants9121650>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Gülçin, I., & Alwasel, S. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11, 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free

- Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhillah, F. N., Zuhrotun, A., Amalia, R., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.). *Molecules*, 27(4), 1201. <https://doi.org/10.3390/molecules27041201>
- Parmadi, A., Aderita, N. I., & Mulia, W. S. P. B. (2020). Uji Daya Analgetik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss. *IJNS - Indonesian Journal on Networking and Security*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Uji-Daya-Analgetik-Ekstrak-Etanol-Daun-Sirsak-L%29-Parmadi-Aderita/357a5c8cd6019554442e6b56d553c1832594c5dd>
- Putri, J. Y., Nastiti, K., & Hidayah, N. (2023). Pengaruh Pelarut Etanol 70% Dan Metanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn): Pengaruh Pelarut Etanol 70% Dan Metanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(2), 20–29. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i2.235>
- Shetty, S. S., D, D., S, H., Sonkusare, S., Naik, P. B., Kumari N, S., & Madhyastha, H. (2023). Environmental pollutants and their effects on human health. *Heliyon*, 9(9), e19496. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19496>
- Silva, F., Veiga, F., Cardoso, C., Dias, F., Cerqueira, F., Medeiros, R., & Cláudia Paiva-Santos, A. (2024). A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations. *Microchemical Journal*, 202, 110801. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801>
- Sisa, M., Bonnet, S. L., Ferreira, D., & Van der Westhuizen, J. H. (2010). Photochemistry of Flavonoids. *Molecules*, 15(8), 5196–5245. <https://doi.org/10.3390/molecules15085196>
- Slika, H., Mansour, H., Wehbe, N., Nasser, S. A., Iratni, R., Nasrallah, G., Shaito, A., Ghaddar, T., Kobeissy, F., & Eid, A. H. (2022). Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112442. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112442>
- Suri, L. H. F., Dewi, M. S., Anwar, L. O. M., & Hashim, S. H. R. (2023). Evaluasi Kelengkapan Komponen Resep Pasien Bpjs Rawat Jalan Di Klinik Mahasta Cibinong Periode Oktober - Desember 2022. *Cakrawala Medika: Journal of Health Sciences*, 2(1), 102–108. <https://doi.org/10.59981/30dbfk61>
- Tharindu Madhuranga, H. D., & Samarakoon, N. (2023). *Methods for determining in vitro antioxidant activity: Methodologies for the DPPH, FRAP, and H2O2 assays*.
- Triyono, T., Chaerunisaa, A. Y., & Subarnas, A. (2018). Antioxidant Activity of Combination Ethanol Extract of Turmeric Rhizome (*Curcuma Domestica* Val) and Ethanol Extract of Trengguli Bark (*Cassia Fistula* L) with DPPH Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(2), 43–48. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v5i2.14764>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>

Yu, M., Gouvinnhas, I., Rocha, J., & Barros, A. I. R. N. A. (2021). Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. *Scientific*

Reports, 11(1), 10041.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-89437-4>