

# Skirining fitokimia ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Nur Alim<sup>1\*</sup>, Nurul Jummah<sup>1</sup>, Agus Sangka Pratama<sup>1</sup>, Nurdianti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prodi S1 Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia.

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i2.40>

## Article Info

Received : 2020-07-11

Revised : 2021-04-29

Accepted : 2021-08-09

**Abstract:** Phytochemical screening research on the ethanol extract of soursop (*Annona muricata* Linn) peel and antioxidant activity was tested using the DPPH method. The purpose of this study was to determine several classes of compounds found in soursop rind and to determine the antioxidant activity of ethanol extract of soursop rind against DPPH free radicals. The results showed ethanol extract of positive soursop fruit skin containing flavonoids, tannins, and terpenoids. of soursop fruit skin extract was carried out by DPPH method results obtained IC50 value of 192.13  $\mu\text{g} / \text{mL} \pm 5.198137$  which was categorized as weak.

**Keywords:** Phytochemical screening, *Annona muricata* Linn, antioxidant activity, DPPH

**Citation** : Alim, N., Jummah, J., Pratama, A.S., & Nurdianti. (2021). Skirining fitokimia ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(2), 60-64. <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i2.40>

## Pendahuluan

Obat dapat dikatakan sebagai radikal bebas dengan pengertian bahwa suatu obat tersebut mengandung senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Radikal bebas sangat berbahaya dikarenakan tingginya reaktivitas yang mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru. Senyawa radikal baru tersebut terbentuk apabila bertemu dengan molekul lain dan seterusnya hingga terjadi reaksi berantai (Hidayat, 2007).

Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan, asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan adiktif dan sinar ultraviolet yang menyebabkan radiasi. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh (Wijaya, 1996).

Antioksidan merupakan bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Antioksidan dikelompokkan menjadi dua berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Tubuh manusia memproduksi antioksidan secara alami, namun jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebihan, maka tubuh membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh (Muhilal, 1991).

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Adapun contoh dari antioksidan alami adalah tokoferol, asam askorbat, komponen fenolik, turunan senyawa hidroksinat, kuramin (Purwaningsih, 2012).

Antioksidan sintetik sangat efektif dalam menghambat reaksi oksidasi lemak, akan tetapi penggunaan antioksidan sintetik banyak menimbulkan kekhawatiran akan efek sampingnya karena telah banyak penelitian tentang efek patologis yang ditimbulkannya (Purwaningsih, 2012). Antioksidan sintetik yang diijinkan dan umum digunakan untuk makanan yaitu *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated*

Email: nuralim1983@yahoo.com (\*Corresponding Author)

*Hydroxytoluene* (BHT). Profil galat dan tokoferol (Purwaningsih, 2012).

Penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian menyatakan bahwa antioksidan sintetik seperti *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik (Zuhra, 2008). Telah dilaporkan bahwa penggunaan antioksidan sintetik seperti BHA dapat menimbulkan akibat buruk terhadap kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan (Panagan, 2011).

Menurut penelitian yang dilakukan Baskar dan Kumar (2007) berjudul *In Vitro Antioxidant Studies In Leaves Of Annona Spesies*, didapatkan hasil bahwa daun sirsak mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  70 ppm.

## Metode

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *rotary evaporator*, cawan porselin, gelas ukur, labu tentukur, mikropipet (Eppendorf), *rotary evaporator*, rak tabung, spektrofotometer (Thermo), tabung reaksi, timbangan analisis (Ohaus), wadah maserasi, vortex (Branstead) dan pipet tetes

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, asam asetat, asam klorida, asam sulfat pekat, etanol 96%, etanol 70%, simplisia kulit buah sirsak, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, kloroform, besi (III) klorida, serbuk magnesium, metanol p.a, vitamin C.

### Pengolahan Sampel

Bagian sampel yang digunakan yaitu kulit buah sirsak. Kulit buah sirsak tersebut kemudian dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih, lalu dipotong-potong kecil. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, selanjutnya diserbukkan dan diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% dengan menggunakan metode maserasi.

### Ekstraksi sampel

Sampel kulit buah sirsak ditimbang sebanyak 340 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, sampel dibasahi terlebih dahulu dengan etanol 96% lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 1200 mL (hingga simplisia tersebut terendam) dan dibiarkan selama 5 hari dan diaduk-aduk sekali-sekali setiap hari. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas whatman dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama, remaserasi dilakukan sampai dua kali. Ekstrak cair dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak etanol kental disimpan dalam

desikator dan ditimbang untuk mengetahui berat rendemennya.

### Pembuatan Pereaksi

#### a. Pereaksi Dragendorf

Untuk pereaksi Dragendorf dibuat dalam dua larutan yaitu: Larutan (I) 0,85 gram bismutsubnitrat dilarutkan dalam 40 mL air dan 10 mL asam asetat sedangkan larutan (II) 8,0 gram kalium iodida dilarutkan dalam 20 mL air. Setiap 5 mL larutan (I) dan (II) dicampur 20 mL asam asetat dan dicukupkan dengan aquadest hingga 100 mL (Autherhoff, 2002).

#### b. Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,35 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam 100 mL larutan kalium iodida 5% (Autherhoff, 2002).

### Skrining Fitokimia

#### a. Uji Alkaloid

Sebanyak 100 mg ekstrak dilarutkan dengan 5 mL HCL 2 N. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorf dan tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer. Terbentuk endapan jingga pada tabung pertama dan endapan kuning pada tabung kedua menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966).

#### b. Uji Flavanoid

Sebanyak 100 mg ditambahkan 2 mL etanol lalu kocok hingga homogen ditambahkan kemudian ditambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Bila terbentuk warna merah, kuning atau jingga ini menunjukkan adanya flavanoid (Harborne, 1987).

#### c. Uji saponin.

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL air panas, lalu kocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama  $\pm$  10 menit setinggi 1-2 cm (Ciulei, 1984).

#### d. Uji Terpenoid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 mL etanol 70% dan diaduk. Ditambahkan 1 mL kloroform dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL asam asetat anhidrat, didinginkan lalu ditambahkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Reaksi positif jika hasil menunjukkan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak dinyatakan positif mengandung terpenoid (Ciulei, 1984).

#### e. Uji Tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan 2 mL air lalu diaduk dan ditambahkan 3 tetes  $FeCl_3$ . Adanya tanin ditandai dengan pembentukan biru atau hijau kehitaman (Farnsworth, 1966).

**Uji Aktivitas Antioksidan**

**1. Pembuatan Larutan Difenil-Pikrilhidrazil (DPPH)**

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 gram dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL menggunakan metanol p.a hingga tanda batas.

**2. Pengukuran Aktivitas Radikal Bebas DPPH**

DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara dipipet 1 mL larutan DPPH dan dimasukkan dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 mL lalu didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 500 nm.

**Pembuatan Larutan Baku Kulit Buah Sirsak 1000 ppm**

Ditimbang 10 mg ekstrak kulit buah sirsak dilarutkan dengan pelarut metanol p.a sambil dihomogenkan lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL, sebagai larutan stock 1000 ppm.

**Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Sirsak dengan Metode DPPH**

Pengujian aktivitas ekstrak Kulit Buah Sirsak sebagai antioksidan dilakukan dengan memipet larutan stock 1000 ppm masing-masing 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, dan 1,6 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil lalu ditambahkan 1,0 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 mL, diperoleh konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm dan 320 ppm. Didiamkan selama 30 menit, selanjutnya serapannya diukur dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 500 nm.

**Pembuatan dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Vitamin C**

Larutan Vitamin C 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang sebanyak 10 mg vitamin C dilarutkan dengan metanol p.a sambil dihomogenkan, lalu dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL. Larutan 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100 ppm. Untuk pengujian aktivitas antioksidan larutan vitamin C dilakukan dengan memipet larutan stock 100 ppm masing-masing 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, dan 0,25 mL lalu ditambahkan DPPH 0,4 mM 1 mL, dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan metanol p.a dalam labu tentukur yang dibungkus dengan aluminium foil, sehingga diperoleh konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya serapannya diukur dengan alat spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 500 nm.

**Hasil dan Pembahasan**

**Tabel 1.** Hasil perhitungan rendamen ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn)

Sampel	Berat Sampel (g)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Persen Rendamen (%)
Kulit buah sirsak	340	1200	37,15	10,92

**Tabel 2.** Hasil identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn)

Golongan Senyawa	Nama Reaksi	Hasil		Ket
		Teori	Pengamatan	
Alkaloid	Dragendorff	Endapan Jingga	Warna Coklat	(-)
	Mayer	Endapan kuning	Warna Coklat	(-)
Flavonoid	Etanol+Serbuk Mg+HCl P	Warna Merah, Jingga, Kuning	Warna Merah	(+)
Saponin	Uji Buih	Buih yang stabil selama ± 10 menit setinggi 1-2 cm	Terbentuk buih 1 cm, tidak stabil	(-)
Terpenoid	Etanol 70%+Kloroform+Asam Asetat Anhidrat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Cincin kecoklatan/ Violet	Cincin Kecoklatan	(+)
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Biru/Hijau Kehitaman	Hijau kehitaman	(+)

**Tabel 3.** Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan metode DPPH (Replikasi 1)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (nm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)
20	0,502	3,46	186,16
40	0,472	10,27	
80	0,395	24,90	
160	0,174	66,92	

320	0,153	70,91
Kontrol	0,526	

**Tabel 4.** Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan metode DPPH (Replikasi 2)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (nm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)
20	0,439	5,99	195,63
40	0,413	11,56	
80	0,355	23,98	
160	0,254	45,61	
320	0,105	77,52	
Kontrol	0,467		

**Tabel 5.** Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan metode DPPH (Replikasi 3)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (nm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)
20	0,426	7,39	194,61
40	0,403	12,39	
80	0,346	24,78	
160	0,255	44,57	
320	0,101	78,04	
Kontrol	0,460		

**Tabel 6.** Hasil Rata-Rata Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Kulit Buah Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Pengujian	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Rata-Rata ± Simpangan Baku
Replikasi 1	186,16	192,13 ± 5,198137
Replikasi 2	195,63	
Replikasi 3	194,61	

**Tabel 7.** Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Perbandingan Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (nm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)
1	0,279	38,14	1,84
2	0,22	51,22	
3	0,149	66,96	
4	0,076	83,15	
5	0,014	96,90	
Kontrol	0,451		

## PEMBAHASAN

Skrining fitokimia merupakan suatu metode pengujian awal dalam upaya untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Skrining fitokimia pada pengujian ini bertujuan untuk mengetahui adanya golongan senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, terpenoid dan tanin pada kulit buah sirsak.

Identifikasi alkaloid, suatu senyawa dinyatakan positif mengandung alkaloid yaitu terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendorff dan endapan kuning pada penambahan pereaksi Mayer (Farnsworth, 1996). Identifikasi senyawa flavanoid dinyatakan positif bila terbentuk warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987). Identifikasi senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama  $\pm$  10 menit setinggi 1-2 cm. Senyawa terpenoid reaksi positif jika hasil menunjukkan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut (Ciulei, 1984). Senyawa tanin dinyatakan positif bila terbentuk warna biru kehitaman dan hijau kehitaman. Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan diperoleh data bahwa ekstrak kulit buah sirsak mengandung senyawa golongan flavanoid, terpenoid, dan tanin.

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn) dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 500 nm. Metode DPPH digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, dkk, 2005). Senyawa DPPH menerima elektron akan membentuk senyawa yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Metanol p.a digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan Kristal DPPH (Molyneux, 2004). Metanol juga cenderung lebih murah dibandingkan dengan pelarut yang lainnya. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna dari larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning (Andayani, dkk, 2008).

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen penghambatan 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan

nilai IC<sub>50</sub> adalah sebesar 192,13 µg/mL. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh aktivitas ekstrak etanol kulit buah sirsak dikategorikan lemah (Molyneux, 2004).

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* Linn) mengandung beberapa golongan senyawa yaitu flavonoid, terpenoid, dan tanin.
2. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah sirsak memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 192,13 µg/mL ± 5,198137 yang dikategorikan lemah.

Penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan penelitian menggunakan ekstrak fraksi.

## Daftar Pustaka

- Andayani, R., Maimunah, M., & Lisawati, Y. (2008). Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13(1), 31-37. <http://repo.unand.ac.id/2221/>
- Autherhoff, H., & Kovar, K. (2002). *Identifikasi obat* (N.C. Sugiarto, Trans). Penerbit ITB. (Original work published 1987)
- Baskar, R., Rajeswari, V., & Kumar, T. S. (2007). In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian J Exp Biol.*, 45(5), 480-485. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17569293/>
- Ciulei, J. (1984). *Methodology for analysis of vegetables drugs*. Bucharest. Faculty of pharmacy Rumania. <http://www.download.portal.garuda.org.pdf>
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plant. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225-276. [https://jpharmsci.org/article/S0022-3549\(15\)35305-3/pdf](https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(15)35305-3/pdf)
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R. (2005). Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 127-133. <http://journal.ui.ac.id/index.php/mik/article/view/1150/1057>
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia* (2<sup>nd</sup> ed.). Institut Teknologi Bandung.
- Hidajat, B. (2005). *Penggunaan antioksidan pada anak*. Kapita Selekta Ilmu Kesehatan Anak. Jakarta.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-219. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/SONG/10462423.pdf>
- Muhilal, M. (1991). Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. *Cermin Dunia Kedokteran*, 73, 9-11.
- Panagan, A. T., Yohandini, H., & Gultom, J.U. (2011). Analisis kualitatif dan kuantitatif asam lemak tak jenuh omega 3 dari minyak ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan metoda kromatografi gas. *Jurnal Penelitian Sains*, 14(4), 38-42. <http://ejournal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/article/view/204/195>
- Purwaningsih, S. (2012). Aktivitas antioksidan dan komposisi kimia keong matah merah (*Cerithidea obtusa*). *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 17(1), 39-48. DOI:10.14710/ik.ijms.17.1.39-48
- Wijaya, A. (1996). *Radikal bebas dan parameter status antioksidan*. Prodia Diagnostic Educational Services. Jakarta.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. M. (2010). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10. <https://www.semanticscholar.org/paper/Aktivitas-Antioksidan-Senyawa-Flavonoid-Dari-Daun-Zuhra-Tarigan/80dce8da8d62d16864af019784c8610e4034c972>