



Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dan Uji Aktivitas Antioksidannya dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrasil)

Yoseanno Widi Anugrah Asbanu[✉], Nanik Wijayati, dan Ersanghono Kusumo

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima Agustus 2019

Disetujui September 2019

Dipublikasikan November 2019

Keywords:

maceration
soursop
extract
antioxidant
DPPH

Abstrak

Metode maserasi bertingkat dengan variasi pelarut bertujuan untuk mengekstraksi komponen senyawa kimia simplisia berdasarkan kepolarannya. Daun sirsak (*Annona muricata L.*) mengandung senyawa asetogenin dan flavonoid. Senyawa golongan flavonoid diketahui mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa utama ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan aktivitas antioksidannya terhadap radikal bebas 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrasil (DPPH). Metode ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata L.*) menggunakan metode maserasi bertingkat dengan variasi pelarut *n*-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Identifikasi senyawa kimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dianalisis menggunakan spektrofotometer FT-IR, UV-Vis, dan GC-MS, kemudian uji antioksidannya menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) mengandung 12 senyawa dengan persen area yang besar diantaranya kaempferol, asam heksadekanat, isopulegol, 5-metil-2-(1-metilenil) sikloheksanol, asam oktadekanat. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan seperti kaempferol, asam oktadekanat, asam heksadekanat, metil 9-oksononanoat, propil 2,3-dihidroksi 9-oktadekanat, dan etil 2-hidroksi-1-(hidroksi-metil) heksadekanat. Ekstrak etil asetat dan metanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} masing masing sebesar 56,894 dan 24,895 ppm.

Abstract

The multilevel maceration method with a variety of solvents aims to extract chemical compound components of simplicia based on their polarity. Soursop (*Annona muricata L.*) leaves contains acetogenin and flavonoid compounds. Flavonoids are known to have antioxidant abilities. This study aims to determine the main compounds of soursop (*Annona muricata L.*) leaves extract and its antioxidant activity against 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl free radicals. The method of extracting soursop (*Annona muricata L.*) leaves using multilevel maceration methods with variations of *n*-hexane (non-polar), ethyl acetate (semi-polar), and methanol (polar). The identification of chemical compounds from soursop (*Annona muricata L.*) leaves extract was analyzed using spectrophotometers FT-IR, UV-Vis, and GC-MS, then antioxidant test using DPPH method. The results of this study indicate that soursop (*Annona muricata L.*) leaves extract contains 12 compounds with a large percentage of areas including kaempferol, hexadecanoic acid, isopulegol, cyclohexanol 5-methyl-2-(1-methylenyl), octadecanoic acid and the presence of compounds act as antioxidants such as kaempferol, octadecanoic acid, hexadecanoic acid, methyl 9-oxononanoate, 9-octadecenoate-2,3-dihydroxypropyl ester, and ethyl 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) hexadecanoic. Ethyl acetate and methanol extract of soursop (*Annona muricata L.*) leaves have Antioxidant activity with IC_{50} were 56.899 and 24.895 ppm, respectively.

© 2019 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: yoseanno.widi75@gmail.com

Pendahuluan

Kondisi lingkungan yang semakin tidak sehat disebabkan oleh tercemarnya lingkungan baik itu pencemaran air, tanah, dan udara. Polusi lingkungan seperti asap rokok, gas buang kendaraan bermotor, dan asap dari industri membuat semakin banyak radikal bebas yang terlepas ke lingkungan. Hal tersebut juga dipengaruhi oleh radiasi elektromagnetik, dan radiasi partikel memicu terjadinya reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas merupakan kelompok atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital luarnya. Radikal bebas bersifat sangat reaktif karena dapat menimbulkan reaksi yang berantai dengan menarik elektron molekul di lingkungan sekitarnya untuk melengkapi orbitalnya sendiri (Marks *et al.*, 2000). Kecepatan pembentukan radikal bebas yang tidak terkendali dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif. Tubuh manusia mempunyai mekanisme pertahanan untuk melawan stres oksidatif akibat radikal bebas dengan pembentukan antioksidan (Pham-Huy *et al.*, 2008).

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi menetralkan peningkatan radikal bebas, melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan dari radikal bebas yang melingkupi orbitalnya serta berperan dalam pencegahan penyakit (Pham-Huy *et al.*, 2008). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami adalah sirsak (*Annona muricata* L.). Sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki kandungan antioksidan yang tinggi pada daunnya. Hal tersebut ditunjukkan dari hasil identifikasi kandungan senyawa aktif ekstrak metanol daun sirsak dengan metode GC-MS, ekstrak daun sirsak mengandung 20 senyawa aktif yang teridentifikasi diantaranya adalah asam *n*-heksadekanat, metil ester, asam tetradekanat, dan 3,7,11,15-tetrametil-2-heksadekan-1-ol yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Shibula & Velavan, 2015). Hasil penelitian lain menunjukkan, ekstrak etanol daun sirsak mengandung 25 komponen dimana 12 jenis senyawa teridentifikasi yaitu 7-tetradekanal, asam heksadekanat, fitol, *cis,cis,cis*-7,10,13-heksadekatrienal, asam 9,12-oktadekadienoat, etil ester, asam 1,2-benzenadikarboksilat, dan butil oktil ester, yang memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, insektisida, antituberkulosis, dan hypo-cholesterolemic (Gavamukulya *et al.*, 2015).

Pengujian antioksidan suatu senyawa atau ekstrak pada umumnya menggunakan metode DPPH, dengan 1,1-difenil-2-pikrihidrazil sebagai sumber radikal bebas. Hal tersebut dikarenakan metode DPPH merupakan metode pengujian antioksidan yang sederhana, cepat, dan tidak membutuhkan banyak reagen (Chanda & Dave, 2009).

Metode

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah bejana maserasi, *rotary evaporator*, penangas air (*water bath*), blender, kuvet, spektrofotometer UV-Vis *Genesis 10 UV*, spektrofotometer FT-IR *Perkin Elmer Spectrum Version 10.4*, peralatan GC-MS *Shimadzu GCMS-QP2010*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil dari daerah sekitar Gunungpati, *n*-heksana, etil asetat, metanol teknis, metanol, kuersetin, HCl, Dragendorff LP, serbuk Mg, etanol, FeCl₃, kloroform, asam asetat anhidrat, natrium sulfat anhidrat, H₂SO₄ buatan *Merck* dengan *grade pro analyst*, DPPH buatan *Sigma-Aldrich* dengan *grade pro analyst*.

Ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut yang memiliki kepolaran meningkat yaitu *n*-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Simplisia daun sirsak dimaserasi dengan *n*-heksana dengan perbandingan 1:4 (b/v) pada suhu ruang selama 24 jam, dan diaduk setiap 8 jam. Ekstraksi dilakukan pengulangan dengan pelarut yang sama dan perbandingan yang sama. Ekstrak pertama yang diperoleh adalah ekstrak *n*-heksana. Ampas kemudian diangin-anginkan agar terbebas dari pelarut *n*-heksana, lalu dimaserasi kembali dengan etil asetat dengan perbandingan 1:4 (b/v) pada suhu ruang selama 24 jam, dan diaduk setiap 8 jam sampai diperoleh ekstrak etil asetat. Ampas hasil ekstraksi kedua diangin-anginkan agar terbebas dari pelarut etil asetat, kemudian dimaserasi kembali dengan metanol dengan perbandingan 1:4 (b/v) pada suhu ruang selama 24 jam, dan diaduk setiap 8 jam sampai didapatkan ekstrak metanol. Masing-masing ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* kemudian dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu kurang lebih 40°C. Ekstrak dianalisis komponen senyawa kimia dengan metode uji fitokimia, Spektrofotometer FT-IR, UV-Vis, dan Kromatografi GC-MS.

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan optimasi panjang gelombang maksimum DPPH pada panjang gelombang 450 – 550 nm. Larutan uji dan kontrol positif kuersetin dibuat variasi konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur serapannya pada λ_{maks} . Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀).

Hasil dan Pembahasan

Tanaman yang digunakan sebagai sampel diambil dari sekitaran desa Gunungpati, kecamatan Gunungpati. Sebelum dilakukan ekstraksi, daun sirsak dikeringkan dan diblender sampai halus untuk memperbesar luas permukaan agar proses ekstraksi dapat terjadi secara maksimal. Rendemen hasil ekstraksi daun sirsak yang diperoleh dari 500 gram simplisia daun sirsak untuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing sebesar 3,2; 3,2; dan 14,6%. Hasil masing-masing ekstrak kemudian dianalisis komponen senyawa kimia dengan metode uji fitokimia, Spektrofotometer FT-IR, UV-Vis, dan Kromatografi GC-MS. Uji fitokimia dilakukan untuk menganalisis golongan senyawa aktif dari masing-masing ekstrak daun sirsak. Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak disajikan dalam Tabel 1.

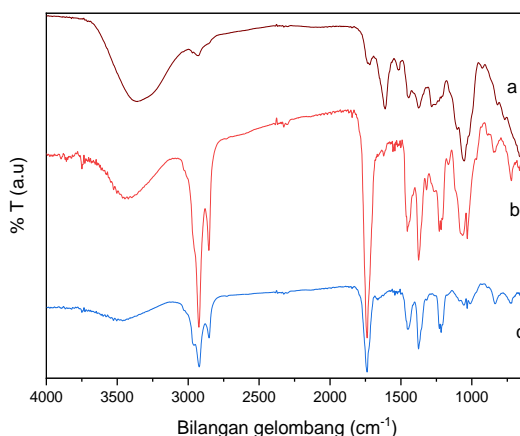
Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak metanol daun sirsak

Kandungan kimia	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	-	+	+
Saponin	-	-	-
Tanin	-	-	+
Terpen	-	-	+
Steroid	+	+	+

Keterangan: (+) hasil positif (-) hasil negatif

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung hampir semua golongan senyawa fitokimia, hal tersebut dikarenakan kemampuan metanol yang dapat mengekstrak hampir semua senyawa polar dalam sampel. Perbedaan hasil uji fitokimia yang diperoleh diakibatkan perbedaan polaritas dari pelarut, pelarut secara selektif mengekstrak senyawa kimia berdasarkan kepolarannya. Hasil uji fitokimia, ekstrak etil asetat dan metanol berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung flavonoid dan tanin. (Silalahi, 2006).

Ekstrak daun sirsak dianalisis dengan spektrofotometer FT-IR untuk menganalisis gugus fungsi senyawa dalam ekstrak daun sirsak. Hasil analisis FT-IR ekstrak *n*-heksana daun sirsak (Gambar 1c) menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 1738 cm^{-1} pada ekstrak *n*-heksana dengan intensitas yang kuat menunjukkan adanya gugus C=O ester, serapan pada bilangan gelombang 1216 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O ester. Hasil analisis spektrum IR menunjukkan ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa ester.

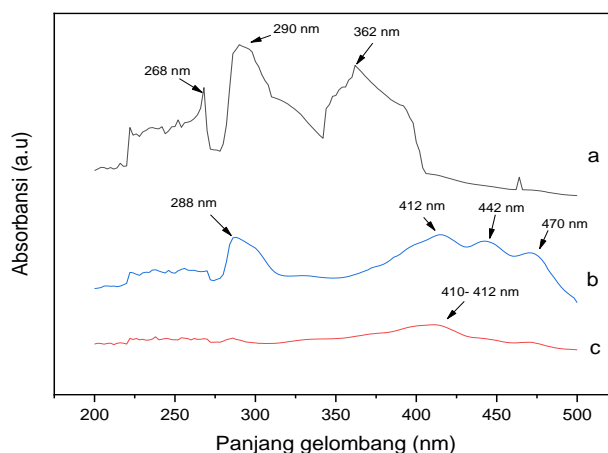


Gambar 1. Spektra IR ekstrak daun sirsak: a) ekstrak metanol b) ekstrak etil asetat c) ekstrak *n*-heksana

Spektrum IR ekstrak etil asetat daun sirsak pada Gambar 1b menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3422 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus -OH alkohol Serapan yang muncul pada bilangan gelombang 1738 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O ester. Serapan gugus C-O ester ditunjukkan pada bilangan gelombang 1229 cm^{-1} dan 1132 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1065 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O alkohol. Berdasarkan hasil analisis spektrum IR ekstrak etil asetat daun sirsak, dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat daun sirsak mengandung senyawa asam-ester.

Spektrum IR ekstrak metanol daun sirsak yang ditunjukkan pada Gambar 1a menunjukkan adanya serapan yang merenggang pada bilangan gelombang 3358 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus -OH dari

ikatan hidrogen. Serapan yang muncul pada bilangan gelombang 1611 cm^{-1} diduga merupakan ikatan C=C aromatik atau C=O karbonil. Serapan pada bilangan gelombang 1054 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O alkohol. Serapan pada daerah gelombang 900 cm^{-1} diduga merupakan serapan dari C-H aromatik. Oleh karena itu, hasil analisis spektrum IR ekstrak metanol daun sirsak menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

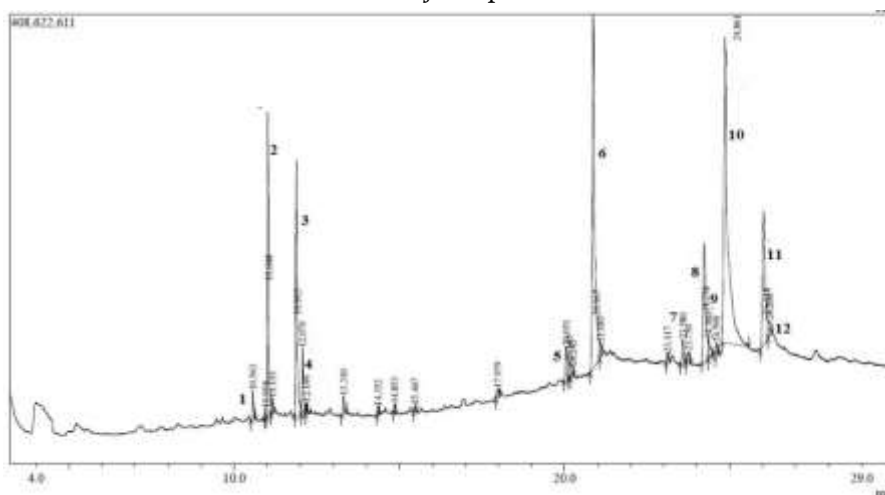


Gambar 2. Spektra UV-Vis ekstrak daun sirsak: a) ekstrak metanol b) ekstrak etil asetat c) ekstrak *n*-heksana

Ekstrak daun sirsak dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-500 nm. Spektrum uv-vis ekstrak metanol (Gambar 2a) menunjukkan adanya pita serapan khas dari golongan senyawa flavonoid. Serapan maksimum pada panjang gelombang 362 nm (pita I) dan 268 nm (pita II) merupakan ciri khas dari senyawa flavonoid golongan flavonol (Telange *et al.*, 2014). Serapan maksimum pada panjang gelombang 290 nm diduga merupakan rentangan serapan dari senyawa flavonoid golongan flavonon (Telange *et al.*, 2014).

Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat (Gambar 2b) menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 288 nm yang diduga merupakan serapan senyawa golongan flavonon. Serapan maksimum pada panjang gelombang 470 nm diduga merupakan serapan dari senyawa berwarna seperti β -karoten dan klorofil (Engida *et al.*, 2015).

Ekstrak daun sirsak kemudian dianalisis dengan metode GC-MS. Analisis GC-MS hanya dilakukan terhadap ekstrak metanol daun sirsak, dikarenakan hasil analisis ketiga sampel ekstrak daun sirsak dengan metode GC, komponen senyawa ekstrak *n*-heksana dan etil asetat daun sirsak tidak terpisah. Kromatogram hasil analisis GC-MS ekstrak metanol daun sirsak disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram ekstrak metanol daun sirsak

Berdasarkan kromatogram ekstrak metanol daun sirsak, terdapat 12 komponen senyawa yang memiliki persen area yang besar. Komponen senyawa yang memiliki persen area yang besar ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi senyawa kimia ekstrak metanol daun sirsak

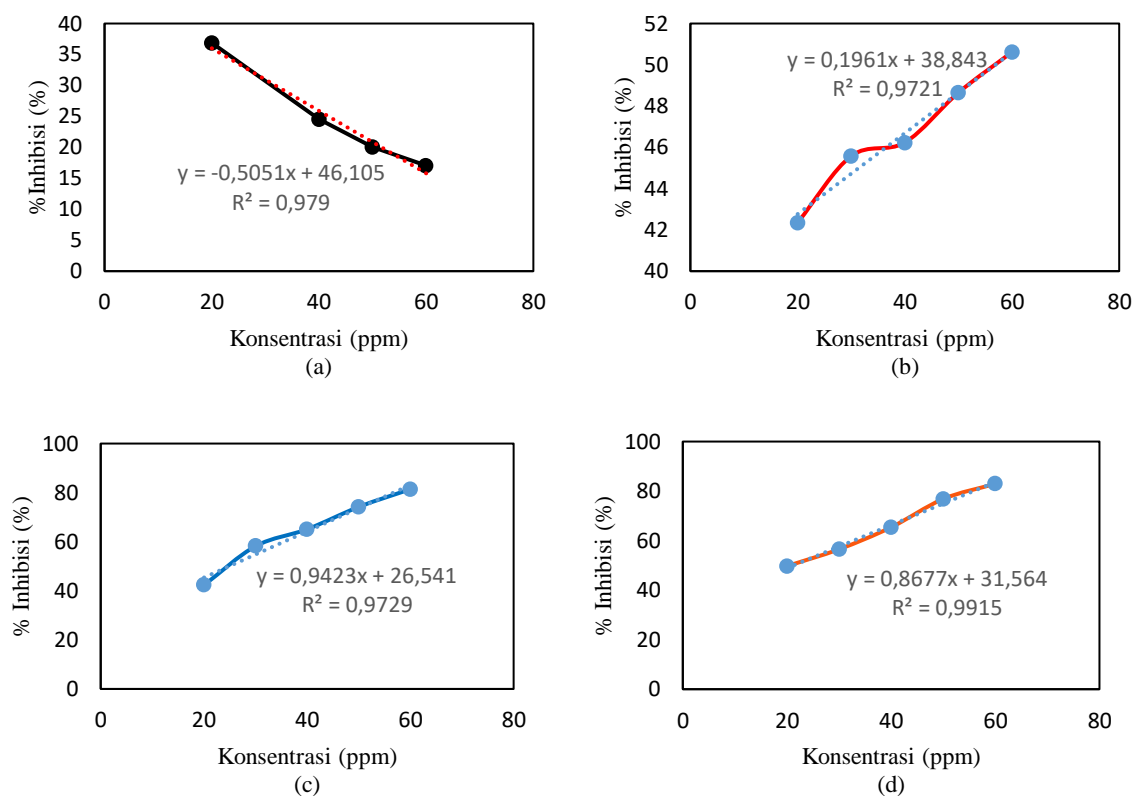
Puncak	Komponen Senyawa	Rumus molekul	RT (menit)	Area (%)
1	metil 9-oksononanoat	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	10,563	1,47
2	isopulegol	C ₁₀ H ₁₈ O	11,048	8,60
3	5-metil-2-(1-metiletetil) sikloheksanol	C ₁₀ H ₁₈ O	11,913	8,31
4	8-hidroksimentol	C ₁₀ H ₂₀ O	12,070	3,20
5	etil 2-hidroksi-1-(hidroksimetil) heksadekanoat	C ₃₅ H ₆₈ O ₅	20,051	2,74
6	asam heksadekanoat	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	20,967	10,71
7	propil 2,3-dihidroksi 9-oktadekanoat	C ₂₁ H ₂₀ O ₄	23,580	1,50
8	asam oktadekanoat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	24,278	6,55
9	2-(Dimethyl- λ .(4)-sulfanylidene)malonic acid, dimethyl ester	C ₇ H ₁₂ O ₄ S	24,360	1,25
10	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	24,861	40,57
11	asam 9,12-oktadekadienoat (Z,Z)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	26,118	5,03
12	metil 11,14-eicosadienoat	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	26,200	1,20

Hasil analisis komponen kimia ekstrak metanol daun sirsak menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan seperti kaempferol, asam oktadekanoat, asam heksadekanoat, metil 9-oksononanoat, propil 2,3-dihidroksi 9-oktadekanoat, dan etil 2-hidroksi-1-(hidroksimetil) heksadekanoat (Gavamukulya *et al.*, 2015; Shibula & Velavan, 2015; Patra *et al.*, 2015; Papitha *et al.*, 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan daun sirsak menggunakan metode DPPH. Prinsip dari metode DPPH adalah adanya interaksi antara senyawa antioksidan dan radikal bebas DPPH dengan transfer elektron atau hidrogen untuk menjadi molekul yang stabil. Reaksi yang terjadi menyebabkan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning terang (George *et al.*, 2015).

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan optimasi panjang gelombang terhadap radikal DPPH. Optimasi panjang gelombang bertujuan untuk menentukan panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum dari radikal bebas DPPH. Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan dengan rentang panjang gelombang antara 400 nm – 550 nm. Hasil Optimasi panjang gelombang menunjukkan absorbansi maksimum radikal bebas DPPH berada di panjang gelombang 517 nm. Besarnya aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dan kontrol positif diuji pada panjang gelombang maksimum.

Hasil perhitungan nilai IC ekstrak *n*-heksana daun sirsak (Gambar 1a) dari persamaan regresi linear $y = -0,5051x + 46,105$ adalah -7,711 ppm, nilai IC ekstrak *n*-heksana bernilai negatif yang berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil uji antioksidan ekstrak *n*-heksana juga mendekati penelitian yang dilakukan Sundu *et al.*, (2018), hasil perhitungan nilai IC₅₀ ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 884,14 ppm, nilai IC₅₀ yang diperoleh tersebut termasuk antioksidan yang sangat lemah. Hasil negatif pada ekstrak *n*-heksana diduga karena pelarut lebih banyak melarutkan senyawa non-polar yang bersifat non-fenolat seperti lemak dan lilin (Lukmandaru *et al.*, 2012). Penyebab lain yang dimungkinkan mempengaruhi hasil uji adalah waktu inkubasi. Waktu inkubasi mempengaruhi kestabilan reaksi antara ekstrak dan radikal DPPH, reaksi menjadi stabil dikarenakan telah sempurnanya reaksi atau sudah tidak terjadi lagi reaksi antara ekstrak dan radikal DPPH. Kestabilan reaksi ekstrak dan radikal DPPH ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan % inhibisi (Lu *et al.*, 2001, dalam Molyneux, 2004).

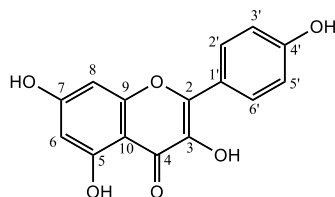


Gambar 4. Kurva hubungan konsentrasi : a. ekstrak *n*-heksana; b. ekstrak etil asetat; c. ekstrak metanol; d. kuersetin terhadap % inhibisi

Hasil perhitungan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat daun sirsak (Gambar 4b) yang diperoleh dari persamaan regresi linear adalah sebesar 56,894 ppm. Menurut Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, antioksidan kuat jika nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, antioksidan sedang jika nilai IC_{50} antara 100-150 ppm, dan antioksidan lemah jika nilai IC_{50} 150-200 ppm. Dari nilai IC_{50} yang diperoleh berada dikisaran 50-100 ppm, hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Hasil uji antioksidan yang menunjukkan ekstrak etil asetat daun sirsak termasuk antioksidan kuat karena berdasarkan hasil identifikasi mengandung senyawa asam heksadekanat dan asam oktadekanat. Hasil tersebut sama dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian yang dilakukan oleh Al-Owaisi *et al.*, (2014).

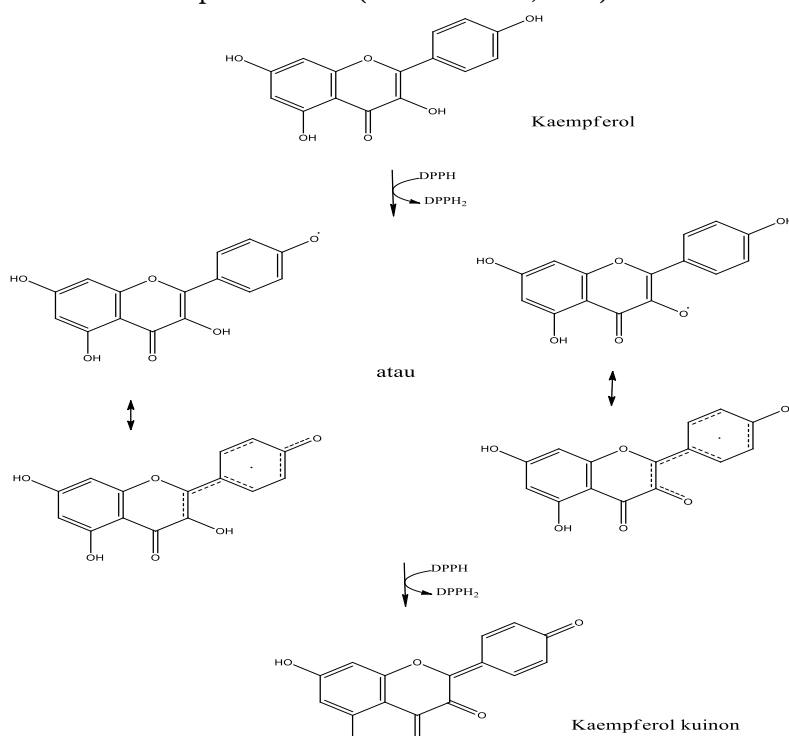
Nilai IC_{50} ekstrak metanol daun sirsak (Gambar 4c) diperoleh dari persamaan regresi linear $y = 0,9423x + 26,541$ dan $R^2 = 0,973$. Hasil yang didapat yaitu sebesar 24,895 ppm, yang berarti untuk menghambat 50 % aktivitas radikal bebas DPPH, diperlukan konsentrasi ekstrak metanol daun sirsak sebesar 24,895 ppm. Nilai IC_{50} ekstrak metanol daun sirsak yang memiliki nilai yang lebih kecil dari 50, menunjukkan bahwa ekstrak metanol termasuk memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat (Molyneux, 2004).

Besarnya kemampuan antioksidan ekstrak metanol daun sirsak dikarenakan hasil indentifikasi senyawa kimia ekstrak daun sirsak diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu kaempferol dengan presentase yang besar. Kemampuan antioksidan kaempferol berhubungan dengan strukturnya. Berikut disajikan struktur kaempferol dalam Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Kaempferol

Gugus yang berperan penting sebagai antioksidan yaitu hidroksil pada kaempferol (3,7,4'), ikatan tak jenuh C2-C3, gugus karbonil pada C-4, dan dan gugus hidroksil pada posisi 3 dan 5 yang menyebabkan ikatan hidrogen dengan gugus karbonil (Markovic *et al.*, 2014). Berdasarkan data termokimia komputasi untuk entalpi pemutusan ikatan (BDE) dan afinitas proton (PA), diantara gugus yang aktif, gugus C4'-OH dan C3-OH adalah gugus yang diprediksi pertama kali terlibat dalam kompleksasi. Gugus hidroksil yang terikat pada C5 tidak dapat menyumbangkan atom hidrogennya dikarenakan adanya ikatan hidrogen yang kuat antara O5-H-O4 sebesar 1,769 Å sehingga untuk melepaskan atom hidrogen pada gugus hidroksil C5 dibutuhkan energi yang besar terlebih dahulu untuk memutus ikatan hidrogen tersebut (Markovic *et al.*, 2014). Gugus hidroksil dari kaempferol akan menyumbangkan atom hidrogen ke molekul radikal DPPH menjadi DPPH-H (Gambar 6) yang tidak bersifat radikal karena adanya elektron yang berpasangan. Kaempferol yang telah memberikan atom hidrogennya ke molekul radikal DPPH, akan mengalami stabilisasi resonansi dan membentuk radikal kaempferol yang relatif stabil (Gambar 6). Tahap selanjutnya, radikal kaempferol akan mendonorkan atom hidrogen ke radikal DPPH membentuk DPPH-H, dan radikal kaempferol akan membentuk kaempferol kuinon (Markovic *et al.*, 2014).



Gambar 6. Mekanisme reaksi kaempferol dengan DPPH (Markovic *et al.*, 2014)

Penggunaan kontrol positif dalam uji antioksidan ini adalah sebagai pembanding besarnya kemampuan antioksidan ekstrak daun sirsak, dan apabila nilai IC_{50} yang diperoleh sampel uji mendekati atau hampir sama dengan kontrol positif, maka dapat dimanfaatkan menjadi salah satu alternatif sumber antioksidan. Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dikarenakan kuersetin memiliki kemampuan antioksidan karena termasuk dalam golongan senyawa flavonoid. Nilai IC_{50} kuersetin diperoleh dari persamaan regresi linear (Gambar 4d) yang diperoleh dari hasil pengukuran yaitu $y = 0,8677x + 31,564$ dan $R^2 = 0,992$. Nilai IC_{50} diperoleh sebesar 21,247 ppm. Hasil IC_{50} yang lebih kecil dari 50, menunjukkan bahwa kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat.

Simpulan

Komponen senyawa kimia utama yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak diduga adalah kaempferol. Hasil pengujian aktivitas antioksidan daun sirsak menunjukkan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol daun sirsak memiliki kemampuan antioksidan dengan nilai IC_{50} masing-masing adalah 56,894 ppm dan 24,895 ppm.

Daftar Pustaka

Al-Owaisi, M., N.Al-Hadiwi, & S.A.Khan. 2014. GC-MS Analysis, Determination of Total Phenolics, Flavonoid Content and Free Radical Scavenging Activities of Various Crude Extracts of *Moringa Peregrina* (Forssk.) Fiori Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(12):964-970

- Chanda, S., & R. Dave. 2009. In vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation and Some Medicinal Plants Possessing Antioxidant Properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13): 981-996
- Engida, A.M., S. Faika, B.T. Nguyen-Thi, & Y.Ju. 2015. Analysis of Major Antioxidants from Extracts of *Myrmecodia Pendans* by UV/Visible Spectrophotometer, Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, and High-Performance Liquid Chromatography/UV Techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(2): 303-309
- Gavamukulya, Y., F. Abou-Elella, F. Wamunyokoli, & H.A. El-Shemy. 2015. GC-MS Analysis of Bioactive Phytochemicals Present in Ethanolic Extracts of Leaves of *Annona muricata*: A Further Evidence for Its Medical Diversity. *Pharmacognosy Journal*, 7(5): 300-304
- George, V.C., D.R.N. Kumar, P.K. Suresh, & R.A. Kumar. 2015. Antioxidant, DNA Protective Efficacy and HPLC Analysis of *Annona muricata* (soursop) Extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 2238-2335
- Lukmandaru, G., K. Vembrianto, & A.A. Gazidy. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kayu *Magnifera indica* L., *Magnifera foetida* Lour, dan *Magnifera odorata* Griff. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 6(1): 18-29
- Markovic, J.M.D, D. Amic, B. Lucic, & Z.S. Markovic. 2014. Oxidation of Kaempferol and Its Iron(III) Complex by DPPH radicals: Spectroscopic and Theoretical Study. *Monatshfte fur Chemie-Chemical Monthly*, 145(4): 557-563
- Marks, D.B., A.D. Marks & C.M. Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*. Alih bahasa Brahm U. Pendit. Jakarta: UGC
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 26(2): 211-219
- Papitha, R., L. Ravi, & Chinnadurai I.S. 2017. Phytochemical Studies and GC-MS Analysis of *Spermadictyon suavelens* Roxb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(3): 143-149
- Patra, J.K., G. Das, & K. Baek. 2015. Chemical Composition and Antioxidant and Antibacterial Activities of an Essential Oil Extracted from an Edible Seaweed *Laminaria japonica* L. *Molecules*, 20(3): 12093-12113
- Pham-Huy, L.A., H. He, & C. Pham-Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89-96
- Shibula, K., & S. Velavan. 2015. Determination of Phytocomponents in Methanolic Extract of *Annona muricata* Leaf Using GC-MS Technique. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(6): 1251-1255
- Sundu, R., F. Handayani, Sapri, & H. Nurhasnawati. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksan, Kloroform, dan Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris ferox* Copel). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2):v261-265
- Telange, D.R., A.T. Patil, A. Tatode, & B. Bhojar. 2014. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for the Estimation of Kaempferol in Kaempferol: Hydrogenated Soy PhosphatidylCholine (HSPC) Complex. *Pharmaceutical Methods*, 5(1): 34-38