

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Klasifikasi tanaman

Menurut Sunarjono (2005), klasifikasi tanaman sirsak adalah:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Polycarpiceae
Suku	: Annonaceae
Marga	: Annona
Jenis	: <i>Annona muricata</i> L.



Gambar 1. Daun sirsak (*United States Department of Agriculture 2014*)

2. Nama daerah

Buah sirsak dikenal dengan nama *thurian thet*, *thurian khaek* (Thailand); *guayabano* (Filipina); *graviola* (Brasili); *guanabana/guanabano*, *huanaba* (Spanyol); *corossol*, *epineux cachiman epineux* (Perancis); *toge-banreisi* (Taiwan); *durian benggala* (India); *sauersack sausap* (Papua Nugini); dan *stachelannone* (Jerman). Buah sirsak dalam bahasa Inggris dikenal dengan istilah *soursop* karena rasanya yang manis keasaman (Lina & Juwita 2011).

Sirsak memiliki nama daerah di beberapa wilayah Indonesia dikenal sebagai *nangka sebrang*, *nangka landa* (Jawa); *nangka walanda*, *sirsak* (Sunda); *nangka buris* (Madura); *srikaya jawa* (Bali); *deureuyan belanda* (Aceh); *durio ulondro* (Nias); *serekaja* (Bugis); *jambus landa* (Lampung); serta *durian betawi* (Minangkabau) (Lina & Juwita 2011).

3. Morfologi tanaman

Tanaman sirsak terdiri dari daun berbentuk bulat panjang, daun menyirip, berwarna hijau muda sampai hijau tua, dalam satu bunga terdapat banyak putik sehingga dinamakan bunga berpistil majemuk. Bagian bunga tersusun secara hemicylic, yaitu sebagian terdapat dalam lingkaran dan yang lain spiral atau terpenjar. Mahkota bunga berjumlah 6 sepalum yang terdiri atas dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putihan, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Putik dan benang sari lebar dengan banyak karpel (bakal buah). Bunga keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bunga umumnya sempurna (*hermaphrodit*). Bunga jantan dan bunga betina saja yang terdapat pada satu pohon. Bunga melakukan penyerbukan silang, karena umumnya tepung sari matang terlebih dahulu sebelum putiknya reseptif (Depkes RI 2000).

4. Manfaat

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, yakni dengan mengonsumsi air rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L.). Tanaman sirsak selain untuk pengobatan kanker juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain-lain. Buah sirsak dapat juga dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan. Manfaat daun sirsak (*Annona muricata* L.) bagi kesehatan mungkin sudah tak asing lagi. Hal ini sering dengan banyaknya kemunculan produk herbal terbuat dari daun sirsak (*Annona muricata* L.). Beberapa macam manfaat yang terdapat di daun sirsak untuk kesehatan yaitu : mengobati kanker dan tumor (Mardiana 2011).

5. Kandungan kimia

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Lenny 2006). Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Tremel & Smejkal 2016).

5.2. Saponin. Saponin merupakan bentuk glikosida dari saponin sehingga akan bersifat polar dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Kristianti *et al.* 2008). Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.* 2005). Saponin dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami (Gulcin *et al.* 2004).

5.3. Tanin. Tanin merupakan suatu zat kompleks yang terdapat campuran polifenol yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty *et al.* 2008). Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik. Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Malangngi *et al.* 2012). Mekanisme tanin sebagai antioksidan yakni melalui interaksi pengikatan gugus fenolik dengan logam (Perron & Brumaghim 2009).

B. Tanaman Alpukat

1. Sistematika tanaman

Menurut Dewi Rosanti (2013), klasifikasi tanaman alpukat sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae
 Bangsa : Ranunculales
 Suku : Lauraceae
 Marga : *Persea*
 Jenis : *Persea americana* Mill.



Gambar 2. Daun alpukat (*United States Department of Agriculture 2014*)

2. Nama daerah

Buah alpukat dikenal dengan nama *advocat*, *avocatier*, *alligator pear*, *avocado pear* (Inggris); *poire d'avocat* (Prancis); *abacate* (Portugal); *aguacate palta* (Spanyol) (Dalimartha 2008).

Sirsak memiliki nama daerah yang berbeda-beda di wilayah Indonesia, yaitu alpukat (Jawa tengah); alpukat, jambu wolanda (Jawa Barat); advokat, jamboo mentega, jamboo poon, pookat (Lampung); boah pokat, jamboo pokat (Batak) (Dalimartha 2008).

3. Morfologi

Tanaman alpukat memiliki tinggi 3-10 meter, berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warnanya coklat, bercabang banyak, dan ranting berambut halus. Tangkai daun panjangnya 1-5,5 cm, merupakan daun tunggal, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, bertulang menyirip. Daun memiliki panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda berwarna kemerahan dan berambut rapat, daun tua

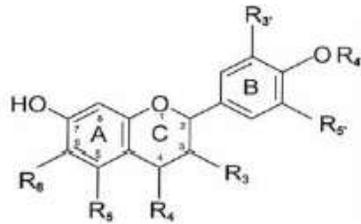
berwarna hijau gundul, serta memiliki rasa pahit. Tanaman ini merupakan tanaman berbunga majemuk, berkelamin dua, dan tersusun dalam malai yang keluar dekat ujung ranting. Bunga tersembunyi dengan warna hijau kekuningan, memiliki ukuran 5-10 mm. Buah alpukat bertipe buni, bentuk bola atau bulat telur panjangnya 5-50 mm, memiliki kulit lembut tak rata berwarna hijau tua hingga ungu kecoklatan berbiji satu. Daging buah alpukat berwarna hijau dekat kulit dan kuning dekat biji yang memiliki tekstur lunak dan lembut. Biji berbentuk bulat seperti bola, diameter 2,5-5 cm, keping biji putih kemerahan (Prawita 2012).

4. Manfaat

Tanaman alpukat (*Persea americana Mill*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional dan hampir semua bagian dari tanaman alpukat memiliki khasiat sebagai sumber obat-obatan. Daun merupakan bagian tanaman alpukat yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Tanaman alpukat dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering, sakit gigi, bengkak karena peradangan dan kencing manis (Dewa Gede *et al* 2009).

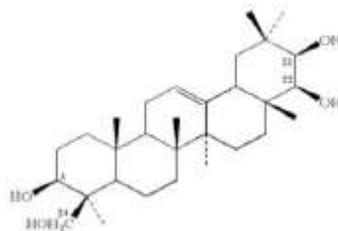
5. Kandungan kimia

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Lenny 2006). Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkhelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppet *et al.* 1954).



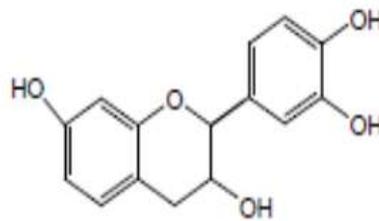
Gambar 3. Struktur flavonoid (Markham, 1998)

5.2. Saponin. Saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin sehingga akan bersifat polar dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Kristianti *et al.* 2008). Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.* 2005). Saponin dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami (Gulcin *et al.* 2004). Mekanisme saponin sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan gugus fungsi hidroksilnya (Parwata *et al.* 2009).



Gambar 4. Struktur saponin

5.3. Tanin. Tanin merupakan suatu zat kompleks yang terdapat campuran polifenol yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty *et al.* 2008). Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik. Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Malangni *et al.* 2012). Mekanisme tanin sebagai antioksidan yakni melalui interaksi pengikatan gugus fenolik dengan logam (Perron & Brumaghim 2009).



Gambar 5. Struktur tanin (Robinson 1995)

C. Radikal bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul atau senyawa yang keadaannya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan (Hermani dan Rahardjo 2005). Radikal bebas termasuk molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Pratimasari 2009).

Sumber radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu secara endogen (sebagai respon normal proses biokimia internal maupun eksternal) misalnya autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria, dan oksidasi ion-ion logam transisi dan secara eksogen (berasal dari polusi, makanan, serta injeksi ataupun absorpsi melalui injeksi) (Winarsi 2007).

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas ada tiga tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas. Tahap kedua yaitu propagasi, perubahan suatu molekul radikal bebas menjadi radikal bebas dalam bentuk lain (pembentukan radikal bebas baru). Tahap yang ketiga adalah terminasi yaitu, dimana terjadi penggabungan dua molekul radikal bebas dan membentuk produk yang stabil (Kurniawan 2011).

D. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya secara cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi beradabatasi dari radikal bebas (Kumalaningsih 2006). Antioksidan dapat diartikan sebagai substansi penting yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredamnya. Antioksidan yang dikonsumsi dalam jumlah yang memadai memiliki manfaat menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi serta menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Antioksidan dibutuhkan oleh semua kalangan umur secara optimal dalam jumlah yang cukup (Winarsi 2007).

1. Jenis-jenis antioksidan

Antioksidan terdiri dari tiga jenis, yaitu antioksidan yang dibuat oleh tubuh yang berupa enzim-enzim, antioksidan alami yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan, dan antioksidan sintetis yang dibuat dari bahan-bahan kimia.

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi tiga golongan berdasarkan fungsinya, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier.

1.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan endogenus, yaitu antioksidan yang diproduksi oleh tubuh secara alami dan kontinyu oleh tubuh. Antioksidan primer merupakan jenis antioksidan enzimatis, yaitu mampu memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas ini menjadi lebih stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang efektif dengan cara memutus reaksi berantai (Winarsi 2007). Contoh antioksidan primer adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH) (Prakash 2001).

1.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan ini mampu menghilangkan proses inisiasi oksigen radikal maupun nitrogen atau bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi reaksi radikal antara lain dengan menghambat enzim pengoksidasi serta menginisiasi enzim pereduksi atau mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif. Contoh antioksidan ini antara lain sulfit, vitamin C, betakaroten, asam urat, bilirubin, dan albumin (Vaya dan Aviram 2001).

1.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier berperan memperbaiki kerusakan sel dan aringan yang disebabkan oleh radikal bebas.. contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktasi yang dapat mencegah terjadinya penyakit kanker (Kumalaningsih 2006).

Kemampuan antioksidan umumnya dapat diukur berdasarkan nilai IC_{50} . Nilai ini menggambarkan konsentrasi suatu senyawa yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Apabila nilai IC_{50} semakin kecil, maka kemampuan antioksidan semakin besar (Senevirathne et al 2006). Tingkat aktivitas antioksidan dapat dilihat berdasarkan tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Penggolongan tingkat aktivitas antioksidan

No.	Nilai IC_{50} (ppm)	Tingkat Aktivitas
1.	151-200	Lemah
2.	100-150	Sedang
3.	50-100	Kuat
4	<50	Sangat kuat

(Mardawati *et al* 2008)

2. Manfaat antioksidan

Antioksidan memiliki peran yang penting untuk kesehatan dan kecantikan serta mempertahankan mutu produk pangan. Antioksidan memiliki peran penting di bidang kesehatan dan kecantikan untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal

bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Winarsi 2007). Antioksidan dapat meredam kerusakan oksidatif yang disebabkan penyakit hiperglikemia, maka adanya peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes melitus (Setiawan & Suhartono 2005).

E. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau telah diolah secara sederhana. Simplisia yang berasal dari tanaman, baik berupa tanaman utuh, bagian tanaman seperti daun, bunga, buah, biji, kulit batang kayu, akar rimpang, atau eksudat tanaman disebut sebagai simplisia nabati (Dalimartha 2008).

Pengumpulan simplisia dilakukan dengan mengumpulkan daun pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu dapat diamati adanya tanda saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Pengambilan daun dianjurkan dengan cara dipetik pada saat warna daun berubah menjadi daun tua (Gunawan & Mulyani 2004).

Daun yang telah diperoleh dari panen secepatnya dilakukan penyortiran supaya mutunya tetap terjaga. Kotoran yang menempel pada daun langsung dibersihkan. Tujuan dilakukannya sortasi adalah untuk mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan dan mempermudah pencucian (Herawati & Sumarto 2012).

Pencucian simplisia harus segera dilakukan setelah pemanenan dengan menggunakan air bersih. Bahan-bahan yang sudah dicuci ditiriskan di rak pengering. Tujuan pencucian simplisia adalah untuk melepaskan kotoran (tanah, debu, dan kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan (Dalimartha 2008).

Simplisia yang sudah dicuci kemudian dikeringkan, pengeringan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air simplisia, sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu yang cukup lama (Dalimartha 2008). Pengeringan dapat dilakukan dengan alat pengering dengan sumber panas gas atau listrik, rak-rak pengering berupa stainless steel yang kebersihannya harus dijaga, penyebaran bahan diatas rak pengering harus dilakukan setipis mungkin agar simplisia cepat kering, dan suhu pengering diatur suhu pada 40°C - 60°C (Herawati dan Sumarto 2012).

F. Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif, yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Tujuan penyarian adalah untuk menyari semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Mulyati 2009).

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Ditjen POM 2000). Pengocokan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang berpotensi hilangnya metabolit. Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Depkes RI 2006).

2. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar. Mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari berbeda-beda polaritasnya. Pelarut

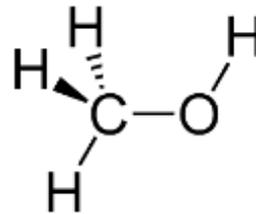
akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut secara selektif, mula-mula disari dengan pelarut non polar, kemudian disari dengan pelarut polar (Harborne 2006).

Kelebihan dari fraksinasi yaitu dapat diperoleh fraksi ekstrak yang lebih murni dengan aktivitas yang lebih tinggi. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut merupakan salah satu metode pemisahan yang baik dan populer karena dapat dilakukan untuk tingkat mikro maupun makro. Fraksinasi terdiri dari dua macam yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair. Fraksinasi padat-cair dapat dikerjakan dengan alat sokhlet, paada fraksinasi ini terjadi keseimbangan di antara fase padat dan fase cair (pelarut). Fraksinasi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Alat yang digunakan adalah alat yang sederhana yaitu corong pisah. Prinsip fraksinasi menggunakan pelarut didasarkan pada distribusi zat terlarut dan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Harborne 2006).

3. Pelarut

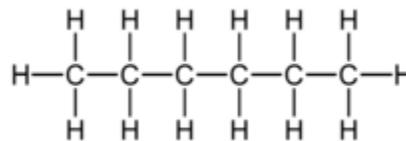
Pelarut merupakan suatu zat untuk melarutkan suatu obat dalam preparat larutan. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan mentah obat tertentu berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif. Faktor yang dipertimbangkan dalam pemilihan cairan penyari seperti murah dan mudah didapat, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan (Depkes 1986).

3.1. Metanol. Metanol adalah senyawa alkohol dengan satu rantai karbon. Rumus kimia CH_3OH , dengan berat molekul 32. Titik didih $64^\circ\text{-}65^\circ\text{ C}$ (tergantung kemurnian), dan berat jenis 0,7920-0,7930 (tergantung kemurnian). Metanol merupakan cairan bening, berbau seperti alkohol, dapat bercampur dengan air, etanol, *chloroform* dalam perbandingan berapapun, higroskopis, mudah menguap dan mudah terbakar dengan api yang berwarna biru (Spencer 1988). Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas *et al.* 2008).



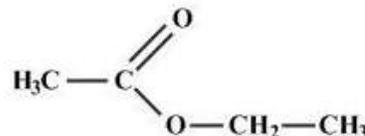
Gambar 3. Struktur kimia metanol.

3.2. *n*-heksana. *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter atau petrolatum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol (Martindale 1993). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 1986).



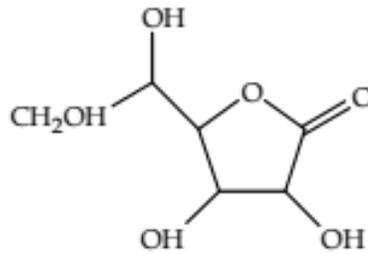
Gambar 4. Struktur kimia *n*-heksana.

3.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka harus disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform (Depkes 1986). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, dan polifenol (Harborne 1987).



Gambar 5. Struktur kimia etil asetat.

3.4. *n*-butanol. *n*-butanol merupakan pelarut organik alkohol yang banyak diperlukan oleh berbagai industri sebagai solven dan sintesis organik yang memiliki titik nyala yang tinggi yaitu 37°C sehingga aman dalam pemakaian. *n*-butanol bersifat



Gambar 7. Struktur molekul Vitamin C

Peran vitamin C sebagai senyawa antioksidan non-enzimatis adalah dengan cara mendonorkan elektron (oksidasi) terhadap radikal oksigen seperti superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, radikal sulfur, dan radikal nitrogen oksigen yang dapat menghambat proses metabolisme tubuh (Astusti 2009). Purwantaka (2005) menyatakan bahwa vitamin C mampu menangkal radikal bebas hidroksil. Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki gugus pendonor elektron berupa enadiol. Vitamin C disebut sebagai antioksidan, karena dengan elektron yang didonorkan itu dapat mencegah terbentuknya senyawa lain dari proses oksidasi dengan melepaskan satu rantai karbon. Vitamin C memberikan elektronnya ke radikal bebas, setelah itu akan teroksidasi menjadi *semidehydroascorbut acid* atau *radical ascorbic* yang relatif stabil (Muhammad 2009). Muchtadi (2008), menambahkan bahwa sifat tersebut di atas yang menjadikan sebagai antioksidan atau dengan kata lain *ascorbic acid* dapat bereaksi dengan radikal bebas, reaksi tersebut dapat mereduksi radikal bebas yang reaktif menjadi tidak reaktif.

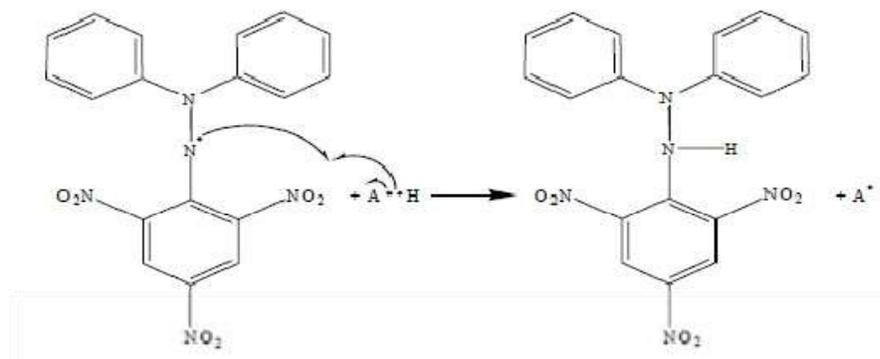
H. DPPH

Metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH adalah metode yang menunjukkan penangkapan radikal bebas DPPH oleh suatu senyawa diikuti dengan mengamati penurunan absorpsi pada panjang gelombang maksimumnya. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil (Sunarmi 2005). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan

mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, praktis, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Prakash 2001). Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.* 2009).

Uji kimia ini secara luas dipergunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{maks} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi, dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson 2007).

Senyawa yang memiliki kemampuan penangkap radikal umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H), sehingga atom H tersebut dapat ditangkap oleh radikal DPPH (hidrazil) untuk berubah menjadi bentuk netralnya (hidrazin) (Gambar 6).



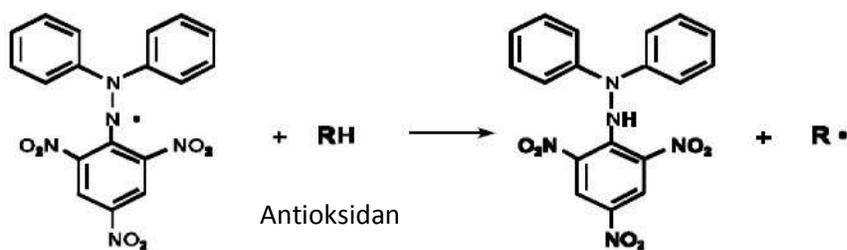
Gambar 8. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Windono *et al.* 2001).

Metode-metode pengukuran aktivitas antioksidan diantaranya : (Widyastuti, 2010).

- a. Metode CUPRAC menggunakan bis (neokuproin) tembaga (II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ yang berwarna kuning dengan reaksi:



- b. Metode DPPH menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dengan reaksi sebagai berikut:



1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin

Gambar 9. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Prakash, 2001).

- c. Metode FRAF menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ yang berwarna kuning dengan reaksi berikut:



Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai sampel dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (Prakash *et al.*, 2001)

I. Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode analisa berdasarkan pada penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet. Analisis spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang

elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200-400 nm), daerah sinar tampak (400-750 nm), daerah infra merah (700-3000 nm). Prinsip spektroskopi UV-Vis adalah interaksi radiasi elektromagnetik yang berupa sinar UV yang disebabkan oleh peristiwa absorpsi (penyerapan) pada frekuensi yang sesuai oleh molekul tersebut (Rohman dan Gandjar 2005).

Absorpsi radiasi oleh sampel diukur oleh detektor pada panjang gelombang dan diinformasikan ke perekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum ini akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana 2006).

J. Landasan Teori

Perubahan pola hidup masyarakat yang semakin berubah berdampak pada munculnya berbagai penyakit degeneratif yang berhubungan erat dengan radikal bebas diantaranya kanker, penyakit jantung dan pembuluh darah, pikun, katarak, dan penurunan fungsi kognitif. Radikal bebas dapat diartikan sebagai molekul kimia yang kekurangan elektron atau tidak memiliki elektron berpasangan, sehingga membuat radikal bebas bersifat sangat reaktif untuk mencari pasangan elektron agar konfigurasi menjadi stabil (Febriani 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih 2006). Antioksidan dipercaya dapat mencegah beberapa penyakit tersebut. Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh (Hernani & Rahardjo 2006).

Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya katalase dan glutathion peroksidase), vitamin (misalnya vitamin A, C, E, dan β -karoten), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, dan lain-lain) (Winarsi 2007). Sumber antioksidan alami sebagian besar adalah tanaman dan umumnya merupakan senyawa

fenolik yang tersebar diseluruh bagian tanaman baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, maupun serbuk (Sarastani *et al.* 2002).

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman dari kelas *Dicotyledone*, keluarga *Annonaceae*, dan genus *Annona*. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) adalah tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, tanin, fitosterol, kalsium oksalat, dan alkaloid. Antioksidan yang terkandung dalam buah sirsak antara lain adalah vitamin C. Hasil riset menyatakan, sirsak mengandung asetogenin yang mampu melawan 12 jenis sel kanker. Banyaknya manfaat sirsak membuat orang mulai beralih mengkonsumsi sirsak sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan konvensional (Adjie 2011). Sirsak merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Mahmiah, 2006). Seluruh bagian tumbuhan yang berasal dari famili *Annonaceae* telah dikenal sebagai tanaman obat di daerah tropis (Baskar dkk., 2007; Mahmiah, 2006). Ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan steroida (Rina Rianes 2012). Senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan salah satunya adalah golongan flavonoid (Aiyegoro dan Okoh, 2010; Čiž dkk., 2010; Gupta dan Sharma, 2006; Sari dan Taufiqurrohman, 2006;). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nisa Napiah *et al.* (2013), uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak terhadap DPPH 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. Nilai IC₅₀ pada berbagai fraksi tersebut menyatakan tingkatan aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀ <50 ppm, namun aktivitas antioksidan daun sirsak yang paling kuat terdapat pada fraksi n-butanol.

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Hampir semua bagian dari tanaman ini memiliki khasiat sebagai sumber obat-obatan. Daun merupakan bagian tanaman alpukat yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional (Dewa *et al.* 2009). Senyawa kimia yang terkandung didalam daun alpukat yaitu saponin, tanin, flavonoid,

alkaloid, dan polisakarida. Hasil penelitian Wientarsih *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat mengandung flavonoid yang bekerja sebagai diuretik dan antioksidan sehingga dapat menghambat terbentuknya tubulus nekrotik. Ekstrak etanol daun alpukat dari hasil sebuah penelitian juga dapat menghambat pertumbuhan sel Hela (sel kanker leher rahim) (Antia *et al* 2005). Daun *Persea americana* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Daun *Persea americana* bisa membantu dalam mencegah atau memperlambat kemajuan berbagai penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif (Owalabi *et al.* 2010). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Jenny Pontoan (2016), ekstrak daun alpukat yang diuji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas penangkal radikal bebas DPPH. Fraksi daun alpukat menunjukkan hasil pengujian antioksidan masing-masing fraksi diperoleh nilai IC₅₀ yaitu fraksi etil asetat 17,21 mg/L, n-heksana 37,48 mg/L, metanol/air 25,68 mg/L (Sherly dan Rahmanita 2015).

Metode yang telah dikembangkan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah penggunaan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Prinsip metode uji antioksidan DPPH didasarkan pada reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH (reduksi DPPH) dari senyawa *diphenyl picryl hydrazine* (DPPH-H). Pengukuran serapan DPPH berkisar pada panjang gelombang 515-520 nm (Kurniawan 2011). Metode DPPH memiliki beberapa kelebihan yaitu, sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sampel yang sedikit (Hanani *et al.* 2005).

K. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yang pertama, bahwa kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat memiliki aktivitas sebagai antioksidan terhadap DPPH. Kedua, memperoleh potensi aktivitas antioksidan kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat sebagai peredam radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Ketiga, kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat pada perbandingan 2:1 memiliki aktivitas antioksidan paling kuat.