

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian ini adalah dengan melakukan determinasi tanaman sirsak dan tanaman alpukat yang bertujuan untuk mencocokkan morfologi daun sirsak dan daun alpukat sesuai dengan literatur. Determinasi tanaman dilakukan dibagian Biologi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret pada bulan Desember 2018.

Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan benar-daun alpukat (*Persea americana* Mill).

Hasil determinasi (Berdasarkan lampiran 1) untuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan C.A Backer & R.C Bakhuizen van de Brink Jr (1963) yakni sebagai berikut: 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78b – 103c – 104b – 106b – 107b – 186b – 287b – 288b – 289b – 298b – 302b – 308b – 309b – 310b – 311a – 312a – 313b . Annonaceae. 1b – 10b – 13b – 17a . Annona. 1a. *Annona muricata* L. Hasil determinasi daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 1.

Hasil determinasi (Berdasarkan lampiran 2) untuk daun alpukat (*Persea americana* Mill) berdasarkan C.A Backer & R.C Bakhuizen van de Brink Jr (1963) yakni sebagai berikut: 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27b – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811a – 812b – 815b – 816b – 818b – 820b – 821b – 822b – 824b – 825b – 826b – 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834b – 835a – 836a – 837c – 851a – 852b – 853b – 854a – 855c – 856b – 857a – 858a – 859c – 860b – 872a – 873b.

Laurceae. 1b – 2a- 3b – 5b – 8b – 9b – 10a. Persea. 1a – 2b. *Persea americana* Mill. Hasil determinasi daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 2.

2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk simplisia

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak dan daun alpukat yang diperoleh dari Tawangmangu, Karang Anyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2019.

Daun sirsak dan daun alpukat sebanyak yang diperoleh kemudian disortasi kering, bertujuan untuk menghilangkan bagian yang tidak sesuai seperti batang kayu dan daun yang rusak sehingga diperoleh bahan dengan warna dan bentuk seragam. Daun sirsak sebanyak 3,94 kg kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 54° C selama 48 jam untuk menghilangkan kadar air yang masih terkandung dalam simplisia serta memudahkan penyerbukan. Daun alpukat sebanyak 4,13 kg kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 54° C selama 48 jam untuk menghilangkan kadar air yang masih terkandung dalam simplisia serta memudahkan penyerbukan. Proses penyerbukan menggunakan penggiling, hasil serbuk kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 60 hingga diperoleh jumlah serbuk yang dibutuhkan. Tujuan penyerbukan adalah untuk memaksimalkan proses ekstraksi dan lebih efektif dalam menarik zat aktif. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun alpukat

Daun	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%b/b)
Daun sirsak	3940,0	1670,0	42,38
Daun alpukat	4130,0	1910,0	46,24

Hasil dari bobot basah daun sirsak 3940 gram, diperoleh bobot kering daun sirsak 1670 gram dan diperoleh persentase randemen 42,38 % b/b. Hasil dari bobot basah daun alpukat 4130 gram, diperoleh bobot kering daun alpukat 1910 gram dan diperoleh persentase randemen 46,24 % b/b. Daun sirsak dan daun alpukat segar dan kering dapat dilihat pada lampiran 3.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk

Hasil penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu 105°C. Penetapan susut pengeringan

adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan yang dinyatakan dalam nilai persen atau sampai berat konstan. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer atau lingkungan udara terbuka.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak

Daun	Berat awal (g)	Susut pengeringan (%)
Sirsak	2,0	5,2
	2,0	4,5
	2,0	5,0
Rata-rata		4,9

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun alpukat

No	Berat awal (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,0	5,0
2	2,0	5,5
3	2,0	5,2
Rata-rata		5,2

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan daun sirsak adalah 4,9% dan hasil rata-rata susut pengeringan daun alpukat adalah 5,2%. Nilai ini menyatakan jumlah maksimal senyawa yang mudah menguap atau hilang pada proses pengeringan. Nilai susut pengeringan pada hal ini khusus identik dengan kadar air dan sisa pelarut organik yang menguap, artinya daun sirsak dan daun alpukat sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10% untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh mikroorganisme dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 14.

4. Pembuatan ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill)

Pembuatan ekstrak daun sirsak dan daun alpukat diawali dengan menimbang serbuk daun sirsak dan daun alpukat masing-masing sebanyak 500,0 gram, kemudian serbuk dimasukkan ke dalam botol kaca gelap untuk proses maserasi. Bahan dalam botol tersebut kemudian ditambahkan pelarut metanol sebanyak 4500,0 ml (1:7,5) kemudian ditutup dan digojog. Botol tersebut didiamkan selama 5 hari pada suhu ruangan dan digojog setiap 6 jam. Penggojogan bertujuan agar diperoleh keseimbangan

konsentrasi zat tersari dalam cairan penyari. Hasil filtrat disaring dengan kertas saring atau kain flanel. Residu yang diperoleh dibilas dengan sisa pelarut metanol yakni sebanyak 2,5 bagian kemudian didiamkan selama 2 hari dan digojog setiap 6 jam. Filtrat kemudian disaring dan digabungkan dengan filtrat pertama.

Hasil maserasi yang diperoleh atau filtrat dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak agak pekat dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 54 °C untuk diperoleh ekstrak kental daun sirsak (*Annona muricata*L.) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill). Hasil rendemen ekstrak metanol daun sirsak dan daun alpukat dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Rendemen ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill)

Daun	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen %b/b
Sirsak	500,0	46,99	9,398%
Alpukat	500,0	48,03	9,606%

Serbuk daun sirsak dan daun alpukat yang dimaserasi dengan pelarut metanol diperoleh berat ekstrak kental sebanyak 46,99 gram untuk daun sirsak dan 48,03 gram untuk daun alpukat dan diperoleh persentase rendemen sebesar 9,398% untuk ekstrak metanol daun sirsak dan 9,606% untuk ekstrak metanol daun alpukat, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun sirsak dan ekstrak metanol daun alpukat sama-sama pekat karena memiliki rendemen yang tidak jauh berbeda. Kepekatan yang tidak jauh berbeda pada ekstrak metanol daun sirsak dan ekstrak metanol daun alpukat kemungkinan disebabkan karena kedua daun tersebut memiliki ketebalan daun yang tidak jauh berbeda. Perhitungan prosentase rendemen ekstrak metanol daun sirsak dan daun alpukat dapat dilihat pada lampiran 13.

5. Fraksinasi

5.1 Fraksi daun sirsak. Ekstrak metanol daun sirsak yang diperoleh dari metode maserasi kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan tiga pelarut berdasarkan polaritasnya yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol. Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat, senyawa dan senyawa polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-

butanol. Berdasarkan penelitian Naspiah Nisa *et al.* (2013) bahan yang digunakan paling aktif terdapat pada pelarut *n*-butanol sebagai antioksidan.

Tabel 5. Hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air daun sirsak

Berat ekstrak (gram)	Fraksi	Berat fraksi (gram)	Rendemen (%b/b)
10,0	<i>n</i> -heksana	2,56	25,6
	Etil asetat	3,22	32,2
	<i>n</i> -butanol	1,056	10,56
	air	4,064	40,64

5.1.1. Fraksi *n*-heksana. Organoleptis fraksi *n*-heksana berwarna hijau kehitaman, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa persentase randemen fraksi *n*-heksana yang diperoleh lebih kecil dari fraksi etil asetat, hal ini disebabkan karena senyawa yang bersifat nonpolar pada simplisia lebih sedikit. Hasil fraksi *n*-heksana dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5 dan lampiran 13.

5.1.2. Fraksi etil asetat. Organoleptis fraksi etil asetat berwarna hitam kehijauan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa persentase randemen fraksi etil asetat lebih besar dari fraksi *n*-heksana dan fraksi *n*-butanol, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat semipolar pada simplisia lebih banyak.. Hasil fraksi etil asetat dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5 dan lampiran 13.

5.1.3. Fraksi *n*-butanol. Organoleptis fraksi *n*-butanol berwarna jingga kecoklatan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa persentase randemen fraksi *n*-butanol lebih kecil dari fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat polar pada simplisia lebih sedikit yang tertarik pada pelarut *n*-butanol. Perhitungan persen rendemen fraksi *n*-butanol daun sirsak kecil disebabkan karna ekstrak metanol daun sirsak tidak terlarut dengan sempurna. Hasil fraksi *n*-butanol dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 5 dan lampiran 13.

5.1.4. Fraksi air. Organoleptis fraksi air berwarna merah kecoklatan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa

persentase rendemen fraksi air lebih besar dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-butanol, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat polar pada simplisia lebih banyak, sehingga nilai berat fraksi air paling besar. Hasil fraksi air dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 5 dan lampiran 13.

5.2 Fraksinasi daun alpukat. Ekstrak metanol daun alpukat yang diperoleh dari metode maserasi kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan empat pelarut berdasarkan polaritasnya yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan air. Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat, senyawa dan senyawa polar akan terekstraksi dalam pelarut air. Berdasarkan penelitian Sherly & Rahmanita (2015) bahan yang digunakan paling aktif terdapat pada pelarut etil asetat sebagai antioksidan.

Tabel 6. Hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun alpukat

Berat ekstrak (gram)	Fraksi	Berat fraksi (gram)	Rendemen (%b/b)
10,0	<i>n</i> -heksana	3,02	30,2
	Etil asetat	1,029	10,29
	Air	6,87	68,7

5.2.1 Fraksi *n*-heksana. Organoleptis fraksi *n*-heksana berwarna hijau kehitaman, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perentase randemen fraksinasi *n*-heksana yang diperoleh lebih besar dari fraksi etil asetat, hal ini disebabkan karena senyawa yang bersifat nonpolar pada simplisia lebih banyak. Hasil fraksi *n*-heksana dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 13.

5.2.2 Fraksi etil asetat. Organoleptis fraksi etil asetat berwarna hitam kehijauan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa persentase randemen fraksi etil asetat lebih kecil dari fraksi *n*-heksana dan fraksi air, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat semipolar pada simplisia lebih sedikit. Perhitungan persen rendemen fraksi etil asetat kecil disebabkan karna ekstrak metanol daun alpukat tidak terlarut dengan sempurna. Hasil fraksi etil asetat dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 13.

5.2.1 Fraksi air. Organoleptis fraksi air berwarna merah kecoklatan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa persentase rendemen fraksi air lebih besar dari fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat polar pada simplisia lebih banyak, sehingga nilai berat fraksi air paling besar. Hasil fraksi air dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 13.

6. Hasil identifikasi ekstrak

6.1. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa di dalam ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak menggunakan uji secara kualitatif yakni uji tabung. Uji tabung dilakukan menggunakan reaksi terbentuknya warna, serta terbentuknya endapan untuk mengetahui kandungan senyawa seperti flavonoid, tanin, dan saponin.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak.

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil	
		Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -butanol
Flavonoid	Warna merah atau jingga/kuning pada lapisan amil alkohol (Yunita 2009).	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol
Tanin	Reaksi + bila terbentuk warna coklat atau biru kehitaman (Densita 2015).	Berwarna hitam	Berwarna biru kehitaman
Saponin	Reaksi + bila terbentuk busa yang stabil 1-10 cm diatas permukaan caairan (Fitriyani <i>et al.</i> 2011).	Terbentuk buih	Terbentuk buih

Hasil tabel 8 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 9. Hasil penelitian mengenai kandungan kimia dalam ekstrak dan fraksi daun sirsak telah sesuai dengan pustaka, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak dan fraksi *n*-butanol daun sirsak mengandung flavonoid, tanin, dan saponin.

6.2 Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat.

Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat (*Persea americana* Mill) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa di dalam ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat menggunakan uji secara kualitatif yakni uji tabung. Uji tabung dilakukan menggunakan reaksi terbentuknya warna, serta terbentuknya endapan untuk mengetahui kandungan senyawa seperti flavonoid, saponin, dan tanin..

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat.

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil	
		Ekstrak	Fraksi etil asetat
Flavonoid	Warna merah atau jingga/kuning pada lapisan amil alkohol (Yunita 2009).	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol
Tanin	Reaksi + bila terbentuk warna coklat atau biru kehitaman (Densita 2015).	Berwarna hitam	Berwarna hitam
Saponin	Reaksi + bila terbentuk busa yang stabil 1-10 cm diatas permukaan caairan (Fitriyani <i>et al.</i> 2011).	Terbentuk buih	Terbentuk buih

Hasil tabel 9 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil penelitian mengenai kandungan kimia dalam ekstrak dan fraksi etil asetat daun alpukat telah sesuai dengan pustaka, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin, dan saponin.

7. Hasil pengujian aktivitas antioksidan

Antioksidan merupakan bahan atau senyawa yang dapat meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron terhadap radikal bebas sehingga tidak menyerang sel disekitarnya. Mekanisme ini dikenal sebagai *scavenging*. Salah satu metode uji antioksidan yang banyak digunakan adalah DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*). Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, hasil reaksi cepat, peka, hasil akurat, dan hanya memerlukan sedikit sampel. DPPH adalah senyawa radikal nitrogen yang

digunakan sebagai reagen pada uji antioksidan. DPPH berinteraksi dengan senyawa antioksidan melalui mekanisme transfer elektron (Molyneux 2004). DPPH berbentuk serbuk kristal dengan warna hitam keunguan yang terdiri dari molekul radikal bebas. Senyawa ini memiliki bobot molekul sebesar 394.32 dan rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$ dan larut dalam pelarut polar. Aktivitas antioksidan dapat diukur dari penurunan absorbansi larutan DPPH yang berwarna ungu menjadi kuning lemah akibat elektron tak berpasangan DPPH berpasangan dengan elektron senyawa antioksidan (Horton 2006).

7.1 Hasil penentuan panjang gelombang maksimal. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan DPPH 40 ppm. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang menghasilkan absorbansi sampel tertinggi. Panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh yakni sebesar 515 nm. Nilai ini sesuai dengan rentang panjang gelombang maksimum yang dimiliki oleh DPPH yakni 515-520 nm (Kurniawan 2011). Panjang gelombang maksimum digunakan untuk pembacaan aktivitas peredaman radikal bebas oleh senyawa antioksidan. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada lampiran 16.

7.2 Hasil penentuan *operating time*. Penentuan *operating time* dilakukan pada larutan DPPH yang direaksikan dengan sampel (fraksi *n*-butanol daun sirsak, fraksi etil aetat daun alpukat, dan vitamin C) dengan panjang gelombang yang digunakan yakni 515 nm selama 30 menit. Penentuan *operating time* dilakukan untuk memperoleh absorbansi yang stabil, mengetahui lama inkubasi dan kapan sampel mulai dibaca serapan pada spektrofotometer *uv-visible*. Hasil *operating time* untuk vitamin C adalah 3 menit dan larutan uji semua perbandingan kombinasi fraksi memiliki waktu 25 menit. Hasil pembacaan *operating time* dapat dilihat pada lampiran 17.

7.3 Hasil uji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan suatu bahan dapat diukur dari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) merupakan konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin besar. Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang

dilakukan pada kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat dapat dilihat pada tabel 10 dan lampiran 11.

Tabel 9. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan

Sampel	IC50 (ppm)
Perbandingan 1:1	8,15
Perbandingan 1:2	7,48
Perbandingan 2:1	6,98
Vitamin C	4,83

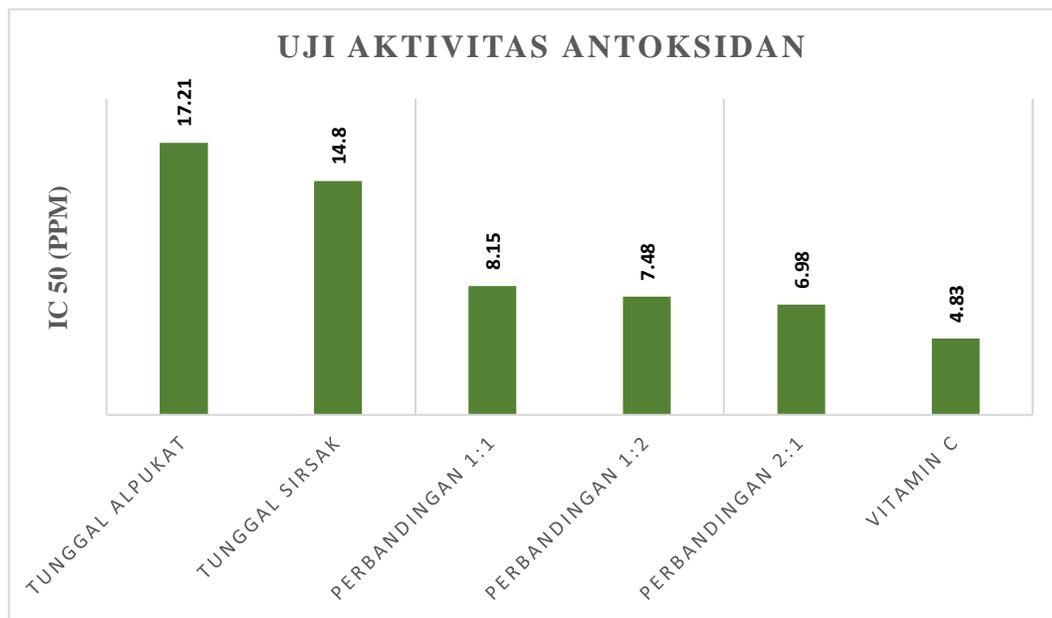
Keterangan:

Perbandingan 1:1 : fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat (1:1)

Perbandingan 1:2 : fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat (1:2)

Perbandingan 2:1 : fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat (2:1)

Vitamin C : kontrol positif antioksidan



Gambar 13. Hasil uji aktivitas antioksidan

Berdasarkan penelitian Napiah Nisa *et al.* (2013) dikatakan bahwa fraksi *n*-butanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 14,80 ppm dan berdasarkan penelitian Sherly & Rahmanita (2015) dikatakan bahwa fraksi etil asetat daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 17,21 ppm. Data tersebut dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov-Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,586 > 0,05, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava satu jalan menyatakan data homogen sig 0,068 < 0,05. Pada uji anova menyatakan kedua

data tersebut berbeda nyata dengan sig $0,000 < 0,05$. Berdasarkan data gambar 12 fraksi *n*-butanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari fraksi etil asetat daun alpukat.

Nilai IC_{50} yang diperoleh untuk kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, dan vitamin C yakni kurang dari 50 ppm, sehingga dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan karena adanya kandungan senyawa dalam fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat yang memiliki aktivitas sebagai penangkal radikal bebas. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat yaitu flavonoid, saponin, dan tanin (tabel 8 dan 9). 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 (Abdi Redha 2010). Mekanisme saponin sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan gugus fungsi hidroksilnya kepada radikal bebas (Parwata *et al.* 2009). Mekanisme tanin sebagai antioksidan yakni melalui interaksi pengikatan gugus fenolik dengan logam (Perron & Brumaghim 2009).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov-Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig $0,057 > 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan analisis anava satu jalan dengan membandingkan setiap kelompoknya. Pada uji anava menyatakan data tidak homogen sig $0,001 < 0,05$, sehingga dilanjutkan dengan analisis *Kruskall wallis*. Pada uji *Kruskall wallis* menyatakan bahwa fraksi *n*-butanol daun sirsak, fraksi etil asetat daun alpukat, kombinasi fraksi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, dan vitamin C terdapat perbedaan. Perbedaan tersebut ditunjukkan pada uji tersebut menyatakan nilai sig $0,005 < 0,05$. Analisis uji aktivitas antioksidan dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 19.

Kombinasi fraksi *n*-butanol daun sirsak dan fraksi etil asetat daun alpukat pada semua perbandingan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari fraksi tunggal-tunggalnya yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibanding tunggal-

tunggalnya. Peningkatan aktivitas antioksidan diduga disebabkan oleh adanya efek sinergis aktivitas antioksidan dari senyawa dalam fraksi *n*-butanol daun sirsak yakni flavonoid, saponin, dan tanin dengan senyawa dalam fraksi etil asetat daun alpukat yakni flavonoid, saponin, dan tanin, sehingga saat fraksi-fraksi tersebut dikombinasikan menyebabkan senyawa-senyawa tersebut diduga semakin kuat menangkal radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), namun belum diketahui pasti senyawa manakah yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat. Kombinasi pada perbandingan 2:1 memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan perbandingan yang lainnya, karena nilai IC_{50} perbandingan tersebut paling rendah jika dibandingkan dengan perbandingan 1:1 dan perbandingan 1:2 dan nilai IC_{50} pada perbandingan 2:1 yang paling mendekati vitamin C sebagai kontrol positif, menurut Purwantaka (2005) vitamin C merupakan zat aktif yang mampu menangkal radikal bebas dengan mendonorkan gugus elektron berupa gugus enadiol. Sehingga pada hasil penelitian ini disimpulkan bahwa dari variasi perbandingan tersebut yang memiliki aktivitas antioksidan terkuat adalah perbandingan 2:1, dimana semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian sebelumnya fraksi tunggal *n*-butanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari fraksi tunggal etil asetat daun alpukat, sehingga saat dikombinasikan diduga fraksi *n*-butanol daun sirsak memiliki pengaruh lebih meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal ini diduga dikarenakan adanya kandungan zat aktif acetogenin dalam daun sirsak dan quersetin dalam daun alpukat. Acetogenin merupakan zat aktif yang dipercaya dapat membunuh sel kanker (Ervizal 2011) dan quersetin merupakan salah satu zat aktif kelas flavonoid yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Dwi *et al.* 2016), sehingga diduga daun sirsak lebih kuat menangkal radikal bebas.