

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

#### 1. Determinasi Daun Sirsak

Determinasi daun sirsak dilakukan di Laboratorium Lingkungan, Fakultas Biologi, Universitas Jendral Soedirman Purwokerto. Determinasi dilakukan untuk mengetahui ketepatan spesies yang akan digunakan untuk melakukan penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar yaitu *Annona muricata L.*

#### 2. Hasil Ekstraksi Daun Sirsak

**Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi Daun Sirsak**

<b>Karakteristik</b>	<b>Hasil</b>
Bobot Simplisia	50 g
Bobot Ekstrak Kental	8,45 g
Randemen	16,9%
Bentuk	Kental
Warna	Hijau
Bau	Khas

Berdasarkan tabel diatas, dari bobot simplisia 50 gram dihasilkan bobot ekstrak kental sebanyak 8,45 gram dengan perhitungan randemen yaitu 16,9%.

#### 3. Hasil Skrining Fitokimia

**Tabel 4.2 Hasil Uji Analisis Kualitatif**

<b>Uji</b>	<b>Hasil</b>
Identifikasi Saponin	Busa ++
Jenis Saponin	Saponin Steroid

Keterangan :

Positif (+)

Negatif (-)

Berdasarkan tabel diatas, daun sirsak positif mengandung saponin yang ditandai dengan adanya busa dan termasuk dalam jenis saponin steroid.

#### 4. Hasil Analisis Kadar Saponin

**Tabel 4.3 Hasil Analisis Kadar saponin**

Perlakuan	X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	A	Kadar
I	0,98	0,87	1,03	10,67%
II	0,88	0,79	1,05	8,57%
III	1,00	0,90	1,01	9,90%
Rata-rata				9,71%

Keterangan :

X<sub>1</sub> : Bobot kertas saring (g)

X<sub>2</sub> : Bobot kertas saring + endapan saponin (g)

A : Bobot Eekstrak daun sirsak (g)

Berdasarkan tabel diatas, hasil dari analisis kadar saponin daun sirsak dengan tiga kali replikasi di dapatkan kadar rata-rata saponin yaitu 9,71%.

#### 5. Absorbansi dan Persen Penghambatan

Hasil saponin yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

**Tabel 4.4 Nilai Absorbansi dan Persen Penghambatan Saponin daun sirsak**

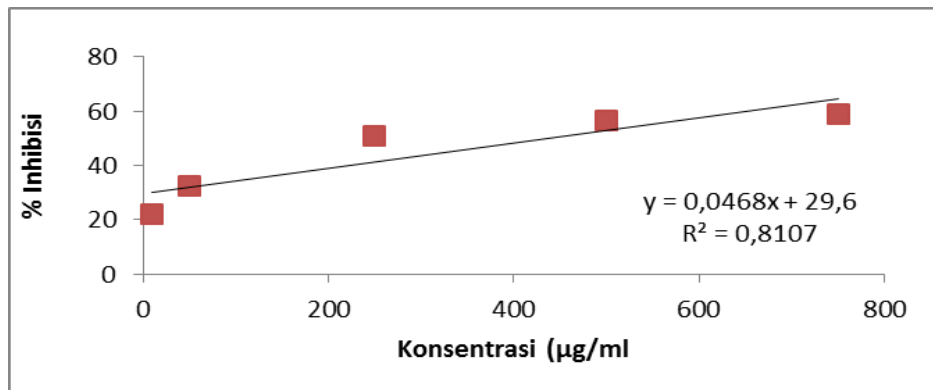
No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rerata	% penghambatan
1	10	0,412	22,023
2	50	0,358	32,325
3	250	0,260	50,851
4	500	0,229	56,616
5	750	0,216	59,168

Berdasarkan tabel diatas, semakin tinggi konsentrasi dari saponin ekstrak metanol daun sirsak maka absorbansi semakin rendah dan % penghambatan semakin tinggi.

**Tabel 4.5 Nilai Absorbansi dan Persen Penghambatan Vitamin C**

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rerata	% Penghambatan
1	30	0,357	34,644
2	40	0,322	41,133
3	50	0,289	47,166
4	60	0,243	55,576
5	70	0,218	60,146

Berdasarkan tabel diatas, semakin tinggi konsentrasi dari vitamin C maka nilai absorbansi semakin rendah dan % penghambatan semakin tinggi.



**Gambar 4.1 Persamaan Regresi Linier Saponin Daun Sirsak**

Berdasarkan gambar diatas, didapatkan :

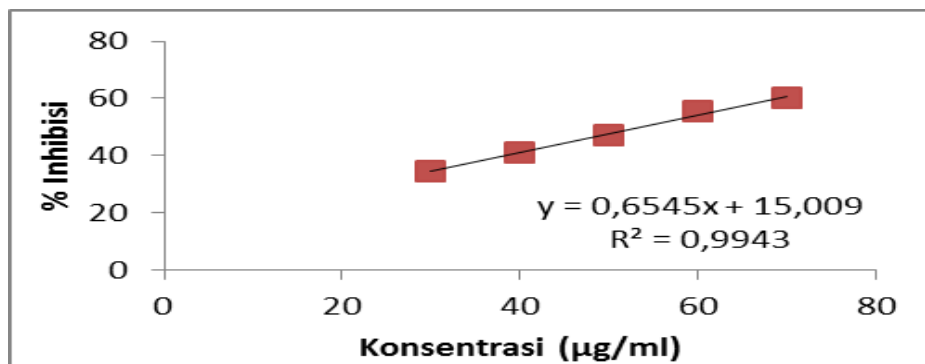
Nilai  $y = 0,0468$

Nilai  $x = + 29,6$

Nilai  $R^2 = 0,8107$

$r = \sqrt{0,8107}$

$r = 0,9003$



Gambar 4.2 Persamaan Regresi Linier Vitamin C

Berdasarkan gambar diatas, didapatkan :

Nilai  $y = 0,6545$

Nilai  $x = + 15,009$

Nilai  $R^2 = 0,9943$

$r = \sqrt{0,9943}$

$r = 0,9971$

#### 6. Penetapan Nilai IC50

Tabel 4.6 Nilai IC50

No	Larutan Uji	Nilai IC50	Klasifikasi Antioksidan
1	Saponin daun Sisak	1,68 ppm	Antioksidan sangat kuat
2	Vitamin C	3,28 ppm	Antioksidan sangat kuat

## B. Pembahasan

Determinasi daun sirsak dilakukan di Laboratorium Lingkungan, Fakultas Biologi, Universitas Jendral Soedirman Purwokerto. Determinasi dilakukan untuk mengetahui ketepatan spesies yang akan digunakan untuk melakukan penelitian. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar yaitu *Annona Muricata L.*

Dalam penelitian ini sampel daun sirsak (*Annona muricata L.*) diambil dari desa Lumbir, Kecamatan Lumbir, Kabupaten banyumas. Sampel daun sirsak dilakukan sortasi basah lalu pencucian dengan air mengalir dan dilakukan perajangan. Kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan

suhu 60°C selama 150 menit, alasan penggunaan oven karena cuaca yang tidak mendukung jika pengeringan dilakukan menggunakan panas matahari, sampel lalu di sortasi kering. Sampel dihaluskan menjadi serbuk menggunakan *blender* dengan tujuan meningkatkan luas permukaan sampel sehingga kontak dengan cairan penyari semakin tinggi.

Ekstraksi pada daun sirsak (*Annona muricata L.*) dilakukan dengan metode refluks. Adapun metode refluks merupakan metode yang sering digunakan untuk mendapatkan suatu senyawa pada tumbuhan melalui pemanasan dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan pendingin balik (Vifta, 2017). Keuntungan dari metode refluks yaitu pada residu pertama proses ekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak 3-5 kali (Marjoni, 2016). Mekanisme kerja dari ekstraksi refluks yaitu pelarut yang digunakan akan menguap tetapi akan didinginkan oleh kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi pada wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung (Utami dkk, 2020).

Pada penelitian ini ekstrak daun sirsak yang di dapatkan yaitu sebesar 8,45 gram dengan randemen 16,9% yang terdapat pada tabel 4.1. Randemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Randemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Besar kecilnya hasil randemen yang diperoleh dipengaruhi oleh keefektifan dalam proses ekstraksi. Oleh karena itu randemen ekstrak daun sirsak yang didapatkan dapat dikatakan baik karena hasil randemen >10%. Menurut (Mardina, 2011) bahwa semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi randemen yang diperoleh, karena kesempatan bereaksi antara bahan dengan pelarut semakin lama sehingga proses penetrasi pelarut kedalam sel bahan semakin baik yang menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel. Pelarut yang digunakan yaitu metanol karena pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat polar dan pelarut yang paling baik digunakan untuk menarik saponin (Agustina,

2018). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Metanol dapat menarik senyawa alkaloid, steroid, flavonoid dan saponin dari tanaman (Thompson, 1985).

Analisis Kuantitatif dilakukan untuk memastikan ada tidaknya saponin pada sampel. Terbentuknya busa yang mantap atau tidak hilang setelah penambahan  $HCL_2N$  menunjukkan simplisia tersebut mengandung saponin. Busa terbentuk karena saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat digojog gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Ditambahkan  $HCL_2N$  untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil (Baud dkk, 2014). Pada uji tersebut mengandung busa dengan ketinggian 1 cm.

Pada penentuan jenis saponin menunjukkan daun sirsak mengandung jenis saponin steroid yang ditandai dengan warna hijau. Untuk menentukan jenis saponin pada ekstrak daun sirsak menggunakan pelarut LB (*Liebermann-Burchard*). Pereaksi LB merupakan campuran antara asam asetat anhidra dengan asam sulfat pekat yang digunakan untuk reaksi warna dalam mengidentifikasi jenis saponin dalam suatu simplisia.

Analisis kuantitatif digunakan metode gravimetri karena salah satu kelebihan metode tersebut yaitu tidak membutuhkan zat pembanding (saponin baku) dan merupakan cara analisis paling sederhana dibandingkan dengan cara analisis lainnya. Kesederhanaan itu jelas terlihat karena dalam gravimetri jumlah zat ditentukan dengan menimbang langsung masa zat yang dipisahkan dari zat-zat lain (Rohmah & Chylen, 2020)

Ekstrak direfluks dengan 50 ml petroleum eter pada suhu 50-70°C selama 30 menit. Digunakan metode refluks karena refluks merupakan salah satu metode untuk menarik senyawa kimia dengan cara pemanasan, dan memiliki keunggulan pada residu pertama proses ekstraksi dilakukan sebanyak 3-5 kali. Dan digunakan pelarut petroleum eter untuk menarik

senyawa-senyawa nonpolar. Setelah dingin larutan eter dibuang untuk untuk menghilangkan senyawa nonpolar dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam 50 ml etil asetat (tingkat kepolaran lebih tinggi daripada petroleum eter) untuk menarik senyawa-senyawa semipolar. Kemudian larutan etil asetat dibuang untuk menghilangkan senyawa-senyawa semipolar. Residu yang tertinggal dilarutkan dengan n-butanol (polar) sebanyak 3 kali masing-masing dengan 50 ml. Saponin merupakan salah satu senyawa yang bersifat polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksi maupun glikosida sehingga mudah larut dalam pelarut n-butanol. Seluruh larutan n-butanol dicampur dan diuapkan dengan rotavapor, untuk memekatkan ekstrak yang diperoleh. Sisa penguapan dilarutkan dengan metanol 10 ml (tingkat kepolaran lebih tinggi daripada n-butanol). Kemudian larutan ini diteteskan kedalam 50 ml eter sambil diaduk. Eter berfungsi sebagai zat pengendap karena saponin tidak larut dalam eter, sehingga eter dapat mengendapkan saponin (Marpaung & Romelan, 2018)

Endapan yang terbentuk dalam campuran dituang pada ketas saring untuk memisahkan endapan saponin dengan zat pengotor lain, kertas saring yang digunakan harus diketahui bobotnya untuk memudahkan dalam menghitung kadar saponin. Endapan di atas kertas saring dikeringkan kemudian ditimbang sampai bobot tetap. Bobot tetap adalah berat pada penimbangan setelah zat dikeringkan seama satu jam tidak berbeda lebih dari 0,5 mg dari berat zat ada penimbangan sebelumnya. Kemudian kertas saring dan bobot saponin ditimbang untuk mengetahui selisih bobot kertas saring sebelum dan sesudah penyaringan (Marpaung & Romelan, 2018). Kadar rata-rata saponin yang diperoleh dari ekstrak daun sirsak dalam tiga perlakuan melalui analisis gravimetri sebanyak 9,71%.

Analisis aktivitas antioksidan pada daun sirsak (*Annona muricata L.*) menggunakan metode peredaman terhadap DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl*) yang dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm (Aminah dkk, 2016). Alasan penggunaan Spektrofotometer UV-Vis yaitu dapat digunakan untuk menganalisis banyak

zat organik anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1%-3%, analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat (Hasibuan, 2015). Adapun metode ini bertujuan untuk menganalisis besarnya aktivitas senyawa yang terdapat pada tumbuhan berperan sebagai *scavenger* (penangkap) pada radikal bebas. Dalam metode ini digunakan DPPH sebagai senyawa radikal yang stabil. Keuntungan pengujian dengan metode DPPH dalam menganalisis aktivitas antioksidan adalah metode ini termasuk sederhana, relatif cepat, mudah, sensitif, dan sampel yang dibutuhkan sedikit (Haeria dkk, 2018).

Zat pembanding yang digunakan dalam penelitian ini yaitu vitamin C. Vitamin C digunakan sebagai senyawa pembanding dalam melakukan analisis aktivitas antioksidan karena penggunaan antioksidan alami yang bersifat aman dan vitamin C berpotensi menjadi antioksidan yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat dengan harga yang relatif murah dan juga mudah di dapat (Lung & Destiani, 2017).

Dilakukan uji kuantitatif mengetahui berapa kadar nilai IC<sub>50</sub> dari saponin ekstrak daun sirsak. Pada saponin ekstrak daun sirsak dibuat larutan stok 1000 ppm dan dilarutkan menggunakan metanol pa dikarenakan metanol tidak mempengaruhi dalam reaksi antara sampel uji sebagai antioksidan dengan DPPH sebagai radikal bebas (Syarif dkk, 2015). Dari larutan stok tersebut dibuat beberapa konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm. Sedangkan untuk konsentrasi pembanding adalah 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan 70 ppm.

Kemudian pada masing-masing konsentrasi dipipet 2 ml sampel dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Dan pengukuran absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum dengan panjang gelombang 517 nm. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH (Aminah dkk, 2016)

Berdasarkan tabel 4.4 dan 4.5 menunjukkan hasil perhitungan persen inhibisi saponin pada daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap DPPH pada konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm berturut-turut 22,02%, 32,32%, 50,85%, 56,61% dan 59,16%. Sedangkan pada vitamin C konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan 70 ppm perhitungan persen inhibisi berturut turut adalah 34,64%, 41,13%, 47,16%, 55,57% dan 60,14%. Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasinya suatu sampel. Terlihat semakin besar konsentrasi larutan ekstrak daun sirsak dan Vitamin C, semakin kecil nilai absorbansinya. Semakin kecil nilai absorbansinya maka akan semakin besar nilai persen inhibisi. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi larutan maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Adanya aktivitas antioksidan juga ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada larutan sampel mulai dari ungu pudar hingga warna kuning dari seri konsentrasi terendah hingga tertinggi. Mekanisme peredaman dan perubahan warna ini disebabkan karena terdapat senyawa antioksidan yang mampu menyumbangkan atom hidrogen terhadap radikal DPPH dan terjadi reduksi menghasilkan DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) suatu molekul yang stabil (Tristantini dkk, 2016).

Setelah mendapatkan nilai persen inhibisi pada larutan uji, selanjutnya dilakukan pembuatan grafik antara konsentrasi larutan (x) dan persen penghambatannya (y) lalu didapatkan persamaan regresi linier saponin daun sirsak dan Vitamin C pada gambar 4.1 dan 4.2. Penetapan nilai  $IC_{50}$  dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier. Penginputan data menggunakan *Microsoft excel* untuk mencari persamaan regresi linier. Nilai  $IC_{50}$  didapatkan dari persamaan regresi linier  $y = ax + b$ , dimana koefisien y adalah nilai IC yang telah ditetapkan yaitu 50. Sedangkan koefisien x adalah nilai  $IC_{50}$  atau konsentrasi dari ekstrak yang akan dicarinya.

Nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan akan diklasifikasikan menggunakan klasifikasi antioksidan menurut Molyneux untuk mengetahui kategori

antioksidan dari larutan saponin daun sirsak dan Vitamin C. Setelah melakukan perhitungan didapatkan nilai  $IC_{50}$  pada saponin daun sirsak sebesar 1,68 ppm dan vitamin C 3,28 ppm. Berdasarkan klasifikasi Molyneux tergolong dalam antioksidan sangat kuat. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Kurniasih dkk, 2015) daun sirsak yang di ekstrak menggunakan pelarut metanol metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu sebesar 6,23 ppm.