

**POTENSI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn), DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), DAN DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe pentandra*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PENCEGAH
KANKER**

Nunung Kurniasih¹, Mimin Kusmiyati², Nurhasanah³, Riska Puspita Sari⁴, Riza Wafdan⁵
^{1,3,4,5}Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Gunung Djati, Jl. AH Nasution No 105, Bandung, 40614
²Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Bandung
nunung.kurniasih@uinsgd.ac.id

ABSTRAK

Kanker dapat dicegah menggunakan antioksidan, suatu senyawa yang bersifat imunomodulator yang dapat menguatkan sel-sel yang sehat untuk menghadang kanker. Senyawa aktif yang sudah berhasil diidentifikasi sebagai antikanker yang berasal dari tanaman antara lain adalah flavonoid glikosida, tanin, stigmasterol, dan *inhibitor histone deacetylase* (HDAC). Senyawa ini terdapat pada beberapa tanaman misalnya sirsak, binahong, benalu dan lain sebagainya. Sampel segar daun sirsak, binahong dan benalu dihaluskan, dimaserasi dengan metanol. Kemudian ekstrak metanol dipartisi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat sampai menghasilkan ekstrak air. Ekstrak air dipekatkan dan diskriming fitokimia kemudian diuji daya antioksidannya dengan metode DPPH ((1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan larutan kontrol berupa vitamin C. Ketiga ekstrak daun ini memiliki kandungan senyawa flavanoid, polifenol dan saponin. Diperoleh hasil IC₅₀ daun sirsak sebesar 6,23 ppm, daun binahong 3,30 ppm sedangkan pada daun benalu adalah 33,31 ppm. Ketiga daun ini memiliki potensi untuk mencegah kanker.

Kata kunci : daya antioksidan, daun sirsak, daun binahong, daun benalu, DPPH

Abstract

Cancer can be prevented using an antioxidant, a compound that is an immunomodulator that can strengthen the healthy cells to block the cancer. Active compounds that have been identified as anticancer derived from plants include flavonoid glycosides, tannins, stigmasterol, and inhibitors of histone deacetylase (HDAC). These compounds found in some plants such soursop, binahong, parasites and so forth. Samples of fresh soursop leaves, binahong and parasites mashed, macerated with methanol. Then the methanol extract was partitioned with n-hexane solvent and ethyl acetate to produce a water extract. Water extract was concentrated and then tested for their phytochemical screening of antioxidants with DPPH ((1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) with control solution in the form of vitamin C. These three leaf extract contains compounds flavonoids, polyphenols and

saponins. The results obtained IC50 soursop leaf at 6.23 ppm, 3.30 ppm whereas binahong leaf on leaf mistletoe was 33.31 ppm. This leaves three have the potential to prevent cancer.

Keywords: antioxidant power, soursop leaves, leaf binahong, mistletoe leaves, DPPH

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan sekelompok penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan dan perkembangan sel-sel yang tidak terkontrol dan abnormal (American Cancer Society, 2008). Kanker dapat disebabkan oleh faktor eksternal (infeksi, radiasi, zat kimia tertentu, tembakau) dan faktor internal (mutasi, hormon, kondisi sistem imun) yang memicu terjadinya proses karsinogenesis (pembentukan kanker).

Radikal bebas dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal di dalam tubuh. Sementara radikal eksogen berasal dari bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit.

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya, memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Sementara dalam jumlah berlebih mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit. Oleh karena itu, antioksidan dibutuhkan untuk dapat menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas.

Antioksidan bersifat imunomodulator, yaitu menguatkan sel-sel yang sehat untuk menghadang kanker. Mekanisme yang sudah berhasil diungkap adalah sitotoksik (penghambatan siklus pembelahan sel) dan induksi apoptosis

(merangsang proses bunuh diri sel kanker). Senyawa aktif yang sudah berhasil diidentifikasi sebagai antikanker yang berasal dari tanaman antara lain adalah flavonoid glikosida, tanin, stigmasterol, dan *inhibitor histone deacetylase* (HDAC).

Acetogenins pada daun sirsak dapat digunakan untuk melawan kanker dengan menghambat ATP (adenosina trifosfat) yang memberi energi pada sel kanker (Widyaningrum dkk, 2012). Dampaknya, mitosis atau pembelahan sel kanker terhambat. Daun sirsak bermanfaat menghambat sel kanker dengan menginduksi apoptosis, antidiare, analgetik, antidisentri, antiasma, *anthelmitic*, dilatasi pembuluh darah, menstimulasi pencernaan dan mengurangi depresi (McLaughlin, 2008).

Binahong merupakan salah satu sumber antioksidan yang berpotensi dalam menangkap radikal bebas (Yuswantina, 2009). Binahong juga memiliki daya hambat untuk

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis* pada jerawat (Rani, 2012).

Salah satu khasiat daun benalu adalah dapat melawan kanker dikarenakan senyawa aktifnya yaitu flavonoid, fenol dan triterpenoid. Dari beberapa senyawa aktif yang dikandung dalam benalu tersebut memiliki sifat antikanker (Artanti, 2010). Pada penelitian ini akan dibandingkan daya antioksidan ekstrak dari ketiga tanaman ini dengan menggunakan metode DPPH.

2. TEORI

2.1 Tanaman Sirsak

Sirsak (*Annona muricata* Linn) adalah tanaman yang mudah tumbuh di banyak tempat. Nama sirsak berasal dari bahasa Belanda yaitu *Zuurzak* yang berarti kantung yang asam (Thomas, A. N. S, 1992).

Sirsak termasuk tanaman tahunan. Selain morfologi di atas, sirsak diklasifikasikan menjadi (Widyaningrum, 2012):

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub Divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledonae
 Ordo : Polycarpiceae
 Famili : Annonaceae
 Genus : *Annona*
 Spesies : *Annona muricata* Linn
 Nama Umum : *Graviola* (Brazil),
Soursop (Inggris), *Guanabana* (Spanyol),
 Nangka Sabrang atau Nangka Belanda
 (Jawa), Nangka Walanda atau Sirsak
 (Sunda)

Sirsak sejauh ini dibudidayakan untuk dimanfaatkan buahnya karena kandungan gizinya yang tinggi seperti karbohidrat, vitamin C dan mineral (Rahmani, 2008). Menurut Widyaningrum (2012), buah berkhasiat mencegah dan mengobati diare, maag, disentri, demam, flu, menjaga stamina dan pelancar ASI. Bunga digunakan sebagai obat bronkhitis dan batuk. Biji digunakan untuk mencegah dan mengobati astrigent, karminatif,

penyebab muntah, mengobati kepala berkutu dan parasit kulit serta obat cacing. Kulit batang digunakan untuk pengobatan asma, batuk, hipertensi, obat parasit, obat penenang dan kejang. Akar digunakan untuk obat diabetes (khusus kulit akarnya), obat penenang dan kejang. Di antara bagian-bagian tanaman sirsak tersebut, daun juga bermanfaat sebagai obat penyakit jantung, diabetes dan antikanker yang merupakan senyawa antioksidan.



Gambar 1. Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Daun sirsak mengandung senyawa *acetogenin*, *annocatacin*, *annocatalin*, *annohexocin*, *annonacin*, *annomuricin*, *anomurine*, *anonol*, *caclourine*, *gentisic acid*, *gigantetronin*, asam linoleat dan *muricapentocin* (Widyaningrum, 2012).

2.2 Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Klasifikasi dari tanaman binahong adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivisio : Spermetophyta
 Divisio : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Hammelidae
 Ordo : Caryophyllales
 Familia : Basellaceae
 Genus : Anredera
 Spesies : *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis (Mus,2008).

Tanaman binahong adalah tanaman herbal yang berasal dari Cina. Tanaman ini tumbuh menjalar dan panjangnya dapat mencapai 5 meter, berbatang lunak berbentuk silindris dan pada sela-sela daun dan tangkai terdapat seperti umbi yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal dan mempunyai tangkai pendek, bersusun berselang-seling dan berbentuk

jantung. Panjang daun antara 5 - 10 cm dan mempunyai lebar antara 3 - 7 cm.

Seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan, mulai dari akar, batang, daun, umbi dan bunganya. Tanaman ini termasuk dalam famili *basellaceae*, masih banyak yang perlu digali sebagai bahan fitofarmaka. Di Indonesia tanaman ini sering digunakan sebagai hiasan gapura yang melingkar di atas jalan taman, namun belum banyak dikenal dalam masyarakat Indonesia. (Sumartiningsih, 2011)



Gambar 2. Daun Binahong

2.3. Tanaman Benalu (*Dendrophthoe pentandra*)

Tanaman benalu bagi para petani adalah hama yang merugikan karena tanaman parasit ini dapat membunuh pohon inangnya. Benalu tumbuh dari

dataran menengah sampai pegunungan dari ketinggian 800 meter sampai 2.300 meter di atas permukaan laut dan berbunga sekitar bulan Juni-September. Jenis tanaman benalu juga banyak ragamnya, tergantung dari jenis pohon inangnya, contohnya benalu mangga *Dendrophthoe pentandra* dengan klasifikasi sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Ordo : Santalales
 Famili : Loranthaceae
 Genus : *Dendrophthoe*
 Spesies : *Pentandra*



Gambar 3. Daun Benalu Mangga

Dari berbagai hasil penelitian, benalu mangga mengandung senyawa yang berperan sebagai zat antioksidan sehingga dapat mencegah penyakit tumor maupun penyakit kanker. Senyawa

tersebut adalah golongan flavonoid, yaitu kuersetin yang bersifat inhibitor terhadap enzim DNA topoisomerase sel kanker. Benalu mangga mengandung flavonoid kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tanin. Macam-macam benalu yang sering digunakan sebagai antioksidan diantaranya yaitu benalu yang berasal dari pohon mangga, dukuh, teh, dan petai.

2.4. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron di lingkaran orbital terluarnya sehingga jumlah elektronnya menjadi ganjil dan tidak stabil (Kusumadewi, 2002). Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya dan dapat membentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, jika terjadi di dalam tubuh

mahluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel. Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas yaitu kerusakan membran sel, protein, DNA dan lipid. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, atherosklerosis dan proses penuaan (Muhilal, 1991).

Radikal bebas terbentuk dalam tubuh melalui berbagai cara diantaranya akibat proses biokimiawi berupa hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan (inflamasi) dan paparan polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari. Contoh radikal bebas adalah superoksida (O_2^-), hidroksil (OH), nitroksida (NO), hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorit (HOCl) dan lain-lain. Radikal bebas

tersebut memiliki derajat kekuatan yang berbeda, namun radikal yang paling berbahaya adalah hidroksil (OH) karena memiliki reaktivitas yang paling tinggi (Putra, 2008; dalam Maryam, 2012).

2.5. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif (ROS; *Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas lainnya (L. Wang, *et.al.*, 2003; dalam Yuhernita 2011).

Senyawa antioksidan diantaranya adalah asam fenolik, flavonoid, karoten, vitamin E (tokoferol), vitamin C, asam urat, bilirubin dan albumin (Gheldof, *et.al.*, 2002; dalam Mega, dkk., 2010). Zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan.

Antioksidan memiliki fungsi utama sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Lipid peroksidasi merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan (Hernani dan Raharjo, 2005).

Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi, tetapi juga digunakan secara luas dalam industri makanan, industri petroleum, industri karet dan sebagainya (Tahir dkk, 2003). Berkaitan dengan fungsinya, senyawa antioksidan diklasifikasikan dalam lima tipe antioksidan yaitu (Maulida dan Naufal, 2010):

Tubuh manusia menghasilkan

senyawa antioksidan tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan *glutathione*, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan *glutathione* ini. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar (antioksidan eksogen).

Antioksidan dibagi menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH.Prx). Vitamin lebih dikenal sebagai antioksidan dibandingkan enzim. Antioksidan vitamin mencakup alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (vitamin C) yang banyak didapatkan dari tanaman dan hewan (Sofia, 2006; dalam Kunchahyo, 2007).

Reaksi radikal bebas dengan

antioksidan di dalam tubuh menghasilkan radikal senyawa antioksidan, contohnya radikal tokoferoksil yang terbentuk dari oksidasi tokoferol. Radikal tersebut cukup stabil sampai dapat direduksi oleh vitamin C atau enzim GSH untuk membentuk quinol sehingga tidak akan mengoksidasi asam lemak tak jenuh yang ada di sekitarnya (Packer, *et.al.*, 1979; dalam Muchtadi, 2012). Demikian juga bentuk teroksidasi vitamin C yaitu radikal bebas askorbil dan dehidroaskorbat dapat dibentuk kembali menjadi askorbat oleh GSH atau oleh enzim dehidroaskorbat reduktase (Diplock, *et.al.*, 1998; dalam Muchtadi, 2012).

Kemampuan untuk membentuk kembali antioksidan tersebut merupakan indikasi pentingnya senyawa antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas yang terbentuk dari antioksidan berpotensi sebagai prooksidan seperti halnya radikal bebas lain. Dalam kondisi biologis yang tidak normal, selalu ada potensi untuk

suatu radikal bebas antioksidan menjadi prooksidan apabila terdapat molekul reseptor untuk menerima elektron dan menimbulkan reaksi autooksidasi (Halliwell, *et.al.*, 1992; dalam Muchtadi, 2012).

Antioksidan berdasarkan sumber perolehannya ada dua macam yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan dan sering digunakan untuk makanan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat (PG), tetrabutyl hidroksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetik untuk tujuan komersial. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, senyawa antioksidan yang diisolasi dari

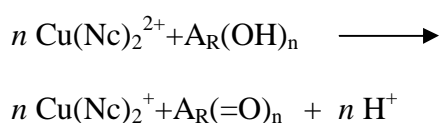
sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Rohdiana, 2001).

2.6. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), ABTS (TEAC) dan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH).

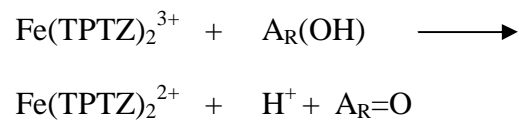
a. Metode CUPRAC

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 (Apak *et.al.*, 2007; dalam Widyastuti, 2010):



b. Metode FRAP

Metode FRAP menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besi-ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$ yang berwarna kuning dengan reaksi (Benzie & Strain, 1996; dalam Widyastuti, 2010):



c. Metode ORAC

Metode ORAC menggunakan senyawa radikal peroksil yang dihasilkan melalui larutan cair dari 2,2'-azobis-2-metil-propanimidamida. Antioksidan akan bereaksi dengan radikal peroksil dan menghambat degradasi pendaran zat warna (Teow dkk., 2007; dalam Hartanto, 2012). Kelebihan metode pengujian ORAC adalah kemampuannya dalam menguji antioksidan hipofilik dan lipofilik sehingga akan menghasilkan pengukuran lebih baik terhadap total aktivitas antioksidan. Kelemahan dari

metode ini adalah membutuhkan peralatan yang mahal dan hanya sensitif terhadap penghambatan radikal peroksil.

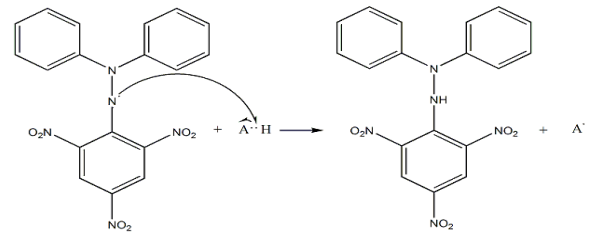
d. Metode ABTS (TEAC)

Metode ini menggunakan prinsip inhibisi yaitu sampel ditambahkan pada sistem penghasil radikal bebas dan pengaruh inhibisi terhadap efek radikal bebas diukur untuk menentukan total kapasitas antioksidan dari sampel (Wang dkk., 2004; dalam Hartanto, 2012). Metode TEAC menggunakan senyawa 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) sebagai sumber penghasil radikal bebas.

e. Metode DPPH

Uji peredaman warna radikal bebas DPPH adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH. Sumber radikal bebas dari metode ini adalah senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. Prinsip pengujiannya adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang

diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenilpikrilhidrazin yang ditunjukkan oleh perubahan warna (Molyneux, 2004; dalam Hartanto, 2012).



Gambar 4. Reaksi DPPH dengan Antioksidan

Metode DPPH mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan penangkapan radikal berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan elektron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Konsentrasi DPPH pada

akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Naik *dkk.*, 2003). Menurut Ariyanto (2006), tingkatan kekuatan antioksidan pada metode DPPH diklasifikasikan menjadi:

Tabel 1. Tingkatan Aktivitas Antioksidan pada Metode DPPH

Nilai	Tingkatan
$IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$	Sangat kuat
$IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$	Kuat
$IC_{50} 101-150 \mu\text{g/mL}$	Sedang
$IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$	Lemah

Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dalam metanol dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Selanjutnya

persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Andayani *dkk.*, 2008). Metode DPPH dipilih karena pengujiannya sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel.

3. BAHAN DAN METODE

Bahan sampel yang digunakan adalah daun sirsak yang diambil dari daerah Cibogo, Subang. Daun binahong dan daun benalu mangga dari Cibiru Bandung. Bahan-bahan lainnya yaitu metanol teknis, n-heksana redestilasi, etil asetat redestilasi, aquades, kloroform amoniakal, H_2SO_4 pekat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, $FeCl_3$, serbuk Mg, HCl 2 N, gelatin 1%, etanol, asam askorbat (vitamin C) dan

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

3.1.1 Preparasi Sampel

Daun sirsak, binahong dan benalu segar disiapkan masing-masing sebanyak 5 kg, dibersihkan dari kotoran dan debu yang menempel kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender.

3.1.2 Ekstraksi Senyawa (Maserasi)

Masing-masing daun yang telah halus dimaserasi dengan metanol dengan cara direndam selama 3x24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan atau pengocokan, kemudian disaring. Maserasi dilakukan sampai filtrat tidak berwarna atau minimal sampai 3 kali pengulangan. Filtrat berupa fraksi metanol yang telah didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*.

3.1.3 Metode Fraksinasi Partisi Cair-Cair

Ekstrak metanol pekat (ekstrak kasar) ditambahkan dengan aquades, selanjutnya dipartisi berturut-turut

dengan pelarut n-heksana dan etil asetat menggunakan corong pisah sampai didapatkan bagian yang bening. Bagian yang terlarut pada pelarut n-heksana, etil asetat dan air yang masing-masing telah terpisah kemudian diuji penapisan fitokimia dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air.

3.1.4 Uji Penapisan Fitokimia

Ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air yang telah dipekatkan kemudian diuji kandungan senyawanya dengan metode penapisan fitokimia sebagai berikut:

3.1.4.1 Identifikasi Senyawa Alkaloid

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL amoniak, dikocok dan disaring. Filtrat ditambahkan H₂SO₄ pekat sebanyak 3 – 5 tetes untuk menetralkan, kemudian dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam yang tidak berwarna selanjutnya dimasukkan ke

dalam tiga tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Mayer, pereaksi Wagner dan pereaksi Dragendorff sebanyak 4 – 5 tetes. Perubahan warna dan terbentuknya endapan berturut-turut berwarna putih keruh, kuning-merah lembayung dan jingga menunjukkan positif alkaloid.

3.1.4.2 Identifikasi Senyawa Flavonoid

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL ditambahkan sedikit serbuk Mg, HCl 2 N dan etanol sebanyak 4 – 5 tetes kemudian dikocok. Perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga menunjukkan positif flavonoid.

3.1.4.3 Identifikasi Senyawa Tanin

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL dipanaskan pada penangas air kemudian disaring. Filtrat ditambahkan gelatin 1%. Perubahan warna putih menunjukkan positif tanin.

3.1.4.4 Identifikasi Senyawa Polifenol

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL dipanaskan pada penangas air kemudian disaring. Filtrat ditambahkan

larutan FeCl₃. Perubahan warna hijau, biru kehijauan atau biru kehitaman atau adanya endapan menunjukkan positif polifenol.

3.1.4.5 Identifikasi Senyawa Saponin

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL ditambahkan air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa atau buih menunjukkan positif saponin.

3.1.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Menggunakan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH)

3.1.5.1 Absorbansi DPPH awal

Larutan DPPH dalam etanol dengan konsentrasi 50 ppm diambil sebanyak 4 mL kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm.

3.1.5.2 Absorbansi Sampel

Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dibuat dengan konsentrasi 10, 30, 50, 70 dan 90 ppm dilarutkan dengan etanol ke dalam labu ukur 10 mL.

Kemudian tiap-tiap konsentrasi diambil 2 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 50 ppm. Setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm. Tiap sampel dilakukan pengulangan dua kali (duplo). Sebagai standar digunakan vitamin C dengan perlakuan yang sama dengan sampel. Data absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi dihitung nilai aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{absorbansi DPPH awal} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH awal}} \times 100\%$$

Konsentrasi dan aktivitas antioksidan yang diperoleh kemudian dibuat grafik, dimana konsentrasi sebagai sumbu (x) dan aktivitas antioksidan sebagai sumbu (y). Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan rumus persamaan regresi yang diperoleh dengan persamaan umum yaitu:

$$y = ax + b$$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Senyawa (Maserasi) dan Fraksinasi Partisi Cair-Cair

Daun sirsak, binahong dan benalu segar masing-masing sebanyak 5 kg dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama ± 7 hari pada suhu ruang kemudian dihaluskan. Tujuan pengeringan yaitu untuk mematikan jaringan tumbuhan agar tidak terjadi oksidasi ataupun hidrolisis enzimatis dan mengeluarkan sebagian air dalam sampel (mengurangi kadar air) agar daun tidak berjamur dan memudahkan penguapan pelarut pada saat ekstrak dipekatkan. Adapun penggunaan suhu ruang yaitu untuk menghindari terjadinya degradasi senyawa-senyawa dalam sampel yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Daun dihaluskan dengan tujuan untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan kontak antara sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi.

Masing-masing daun yang telah kering diekstraksi dengan teknik maserasi selama tiga hari. Ekstraksi menggunakan pelarut metanol sebanyak ± 6 L melalui penambahan ± 2 L pelarut setiap harinya. Pada penelitian ini, ekstrak yang dihasilkan masih berwarna hijau, belum sampai bening. Ekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang lebih sedikit akan lebih efektif dibandingkan dengan ekstraksi satu kali dengan semua pelarut sekaligus, karena efisiensi ekstraksi akan meningkat dengan ekstraksi bertingkat (berulang) tetapi penambahan pelarut akan menambah matriks (pengotor). Dalam proses ekstraksi terjadi peristiwa difusi yaitu masuknya pelarut ke dalam sel sampel karena perbedaan tekanan. Pelarut yang masuk ke dalam sampel akan melarutkan senyawa bila kelarutan senyawa yang akan diekstrak sama dengan pelarut. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut akan meningkat dengan peningkatan suhu yang akan mempermudah penetrasi

pelarut ke dalam sel sampel. Namun penggunaan suhu yang tinggi akan menyebabkan kehilangan senyawa-senyawa tertentu yang tidak stabil pada keadaan tersebut. Oleh karena itu, ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi atau pada suhu ruang walaupun cara ini memiliki kelemahan yaitu membutuhkan banyak pelarut dan berlangsung dalam waktu yang cukup lama jika dibandingkan dengan ekstraksi pada suhu tinggi. Ekstrak metanol (ekstrak kasar) yang diperoleh berwarna hijau tua pekat. Ekstrak tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak berupa pasta yang lengket berwarna hitam kehijauan dan berbau khas. Warna hijau disebabkan adanya kandungan klorofil.

Ekstrak metanol ditambahkan dengan air. Pelarutan ekstrak menggunakan air kadang-kadang agak sulit dilakukan (kurang larut) karena ekstrak sangat kental dan lengket sehingga ada sebagian yang terbuang.

Partisi merupakan ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah, dilakukan dengan penambahan pelarut sampai diperoleh cairan (ekstrak) yang bening. Partisi bertujuan untuk memisahkan fraksi aktif dari ekstrak kasarnya, dimana fraksi aktif dipisahkan menggunakan pelarut air, etil asetat dan n-heksana yang tingkat kepolarannya berbeda. Pelarut yang digunakan untuk proses partisi harus bersifat sedikit larut atau tidak larut dalam air atau dalam bahan lain yang dapat menahan komponen organik yang diharapkan. Senyawa yang akan dipartisi harus bersifat lebih larut dalam pelarut organik dibandingkan dalam air. Ekstrak dari masing-masing fraksi kemudian dipekatkan dan selanjutnya ekstrak disebut sebagai fraksi kental. Adapun berat fraksi kental yang diperoleh dari masing-masing fraksi ditunjukkan pada

Tabel 2.

Tabel 2. Berat Fraksi Kental dari Ekstrak

Metanol

Sampel	Massa Hasil Maserasi (g)	Fraksi	Massa Hasil Evaporasi (g)
Daun Sirsak	52,50	Air	29,80
		Etil Asetat	1,92
		n-Heksana	1,46
Daun Binahong	52,64	Air	18,48
		Etil Asetat	12,63
		n-Heksana	17,68
Daun Benalu	54,16	Air	6,68
		Etil Asetat	8,10
		n-Heksana	6,45

Fraksi air dan etil asetat

menghasilkan ekstrak berwarna coklat, sedangkan fraksi n-heksana menghasilkan ekstrak berwarna hijau tua yang berasal dari klorofil. Ekstrak yang dihasilkan memiliki tekstur yang lebih halus dan seragam dibandingkan dengan ekstrak metanol. Ekstrak metanol dan fraksi air menghasilkan jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan etil asetat (pelarut semi polar) dan n-heksana (pelarut non polar). Hal ini menunjukkan bahwa sampel banyak mengandung komponen senyawa yang bersifat polar.

4.2 Penapisan Fitokimia

Daun sirsak belum diketahui secara detail kandungan senyawa fitokimianya. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif baik yang bersifat racun maupun manfaat, sehingga dapat diketahui potensi daun sirsak tersebut agar upaya pelestarian dan pemanfaatannya lebih baik dan lebih efektif. Penapisan fitokimia dilakukan untuk memperoleh data lebih awal mengenai kelompok senyawa metabolit sekunder atau kandungan kimia pada daun sirsak yang dinilai berkhasiat sebagai antioksidan. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, saponin, steroid dan triterpenoid. Berikut ini adalah hasil penapisan fitokimia pada masing-masing fraksi:

Tabel 3. Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Berbagai Sampel pada Fraksi Air

No	Golong	Sampel
----	--------	--------

No	an Senyawa	Daun Sirsak	Daun Binahong	Daun Benalu
1	Alkaloid	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Tanin	-	-	+
4	Polifenol	+	+	+
5	Saponin	+	+	+

Pelarut-pelarut yang digunakan pada uji ini terdiri atas air dan metanol yang bersifat polar, etil asetat yang bersifat semi polar dan n-heksana yang bersifat non polar. Hasil uji penapisan fitokimia pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa senyawa polifenol dan saponin larut dalam pelarut polar dan semi polar sesuai dengan struktur kedua senyawa tersebut yang banyak memiliki gugus OH yang dapat menyumbangkan elektron kepada radikal bebas. Begitupun pada senyawa flavonoid yang banyak memiliki gugus OH larut dalam pelarut polar kecuali pada metanol memberikan reaksi negatif karena kemungkinan konsentrasinya kecil sehingga tidak teridentifikasi. Flavonoid juga larut

dalam pelarut semi polar. Senyawa tanin termasuk ke dalam golongan senyawa polifenol sehingga cenderung bersifat polar, tetapi reaksi positif hanya ditunjukkan pada pelarut semi polar. Senyawa alkaloid menunjukkan reaksi positif dalam pelarut non polar, kemungkinan alkaloid ini berupa alkaloid bebas karena alkaloid dalam bentuk garam lebih larut dalam pelarut polar. Alkaloid juga memberikan reaksi positif dalam pelarut semi polar. Pada uji ini beberapa senyawa terlarut dalam pelarut yang sifatnya tidak sesuai, hal ini dapat terjadi akibat proses partisi yang kurang optimal karena pelarut yang digunakan adalah pelarut redistilasi yang kemungkinan masih mengandung matriks (pengotor) sehingga hasilnya kurang akurat atau reaksi pada saat penapisan fitokimia tidak sempurna. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa-senyawa fitokimia yang bersifat antioksidatif lebih banyak larut dalam

pelarut polar yaitu air dan semi polar yaitu etil asetat.

4.3 Aktivitas Antioksidan

Penapisan fitokimia pada berbagai fraksi menunjukkan terdapatnya golongan senyawa kimia yang bersifat antioksidan, sehingga pengujian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui fraksi dengan aktivitas antioksidan paling tinggi dari fraksi polar, semi polar dan non polar berdasarkan kemampuannya menangkap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan menurunkan intensitas warna DPPH tersebut.

Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) menunjukkan reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 514 nm dengan warna ungu gelap. DPPH menerima elektron dari antioksidan sehingga elektronnya berpasangan dan terjadi penghilangan warna ungu menjadi

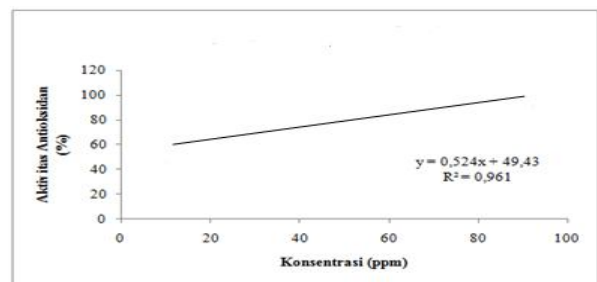
kuning yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambilnya. Uji DPPH dapat dianalisis melalui spektrofotometer UV-Vis dilihat dari intensitas warna yang dihasilkan. Pada metode ini absorbansi yang diukur adalah absorbansi larutan DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada fraksi air, etil asetat dan n-heksana serta vitamin C yang digunakan sebagai standar. Pengujian dilakukan dengan cara melarutkan vitamin C atau sampel dengan etanol, karena etanol dapat melarutkan hampir semua senyawa antioksidan. Adapun alasan campuran sampel dengan DPPH dibiarkan selama 30 menit yaitu agar larutan dapat terlarut sempurna dan warna yang dihasilkan lebih stabil.

4.3.1 Vitamin C

Pengujian absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan terhadap vitamin C sebagai standar, dibuat dengan berbagai konsentrasi kemudian diukur

serapan absorbansi pada panjang gelombang 514 nm dengan waktu reaksi 30 menit. Pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Absorbansi yang diperoleh dihitung % aktivitas antioksidannya. Adapun hubungan konsentrasi vitamin C dengan aktivitas antioksidan berdasarkan data absorbansi yang diperoleh ditunjukkan pada **Gambar 5** di bawah ini:



Gambar 5 Grafik Hubungan Konsentrasi Vitamin C dengan Aktivitas Antioksidan

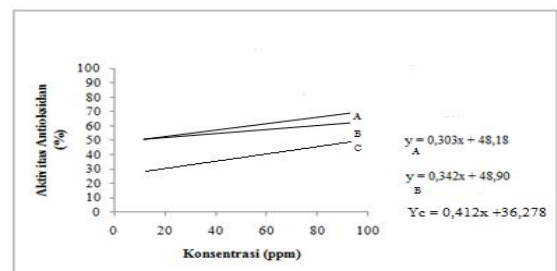
Gambar 5 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan yaitu semakin besar konsentrasi vitamin C maka semakin besar pula aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena elektron pada DPPH

menjadi berpasangan oleh keberadaan antioksidan vitamin C sebagai penangkap radikal bebas sehingga absorbansinya menurun secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron yang diambil. Berdasarkan rumus persamaan garis pada grafik di atas, diperoleh nilai IC_{50} untuk vitamin C yaitu 1,0878 ppm. Vitamin C (asam askorbat) digunakan sebagai standar antioksidan karena termasuk ke dalam antioksidan vitamin yang dapat mencegah oksidasi pada molekul berbasis cairan. Vitamin C merupakan antioksidan yang kuat karena dapat mendonorkan atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil. Vitamin C sangat efektif menangkal radikal O_2^- , H_2O_2 , OH^- dan 1O_2 serta dapat membersihkan spesies nitrogen oksida reaktif untuk mencegah terbentuknya nitrosamin. Radikal bebas askorbil dapat dibentuk kembali menjadi askorbat tereduksi dengan cara menerima atom hidrogen lain dan dapat mengalami

oksidasi lebih lanjut membentuk dehidroaskorbat.

4.3.2 Nilai IC_{50} Pada Sampel

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan rumus persamaan garis dari grafik hubungan antara konsentrasi dengan aktivitas antioksidan pada **Gambar 6**.

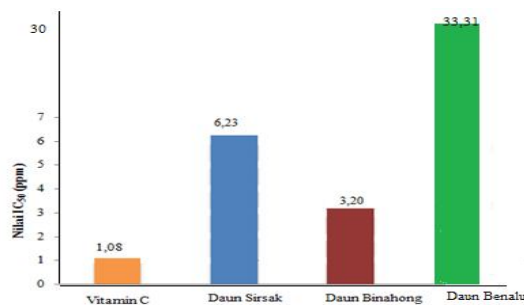


Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi Fraksi Air dari Ekstrak Daun Sirsak (A), Binahong (B) dan Benalu (C) dengan Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan rumus persamaan garis pada grafik di atas, diperoleh nilai IC_{50} untuk fraksi air pada ekstrak daun sirsak sebesar 6,23 ppm sedangkan pada

daun binahong adalah 3,20 ppm. Daun binahong memang populer di masyarakat sebagai tanaman obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit.

Perbandingan nilai IC_{50} dari ketiga sampel ditunjukkan oleh **Gambar 7** dimana tingkat aktivitas antioksidan pada vitamin C, daun sirsak dan daun binahong dan benalu sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Daya antioksidan daun binahong lebih tinggi daripada daun sirsak dan benalu, meskipun tidak setinggi vitamin C.



Gambar 7 Perbandingan Nilai IC_{50} pada Vitamin C, Daun Sirsak, Daun Binahong dan Daun Benalu

KESIMPULAN

1. Daun sirsak, binahong dan benalu mengandung senyawa flavanoid, saponin dan polifenol.
2. Daun sirsak, binahong dan benalu memiliki potensi sebagai antioksidan.
3. Pada fraksi air daya antioksidan daun binahong lebih tinggi dibandingkan daun sirsak.

DAFTAR PUSTAKA

Artanti, Nina. 2010. Evaluasi Aktivitas Antioksidan Berbagai Ekstrak Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) Yang Tumbuh Pada Inang Belimbing Dan Mangga. Puslit Kimia Lipi, Kawasan Puspipstek, Serpong.

McLaughlin JL. 2008. *Paw Paw and Cancer: Annonaceous Acetogenins from Discovery to Commercial Products*. *J Nat Prod.* 71:1311-1321.

Rani Nurwahyuni, 2012. *Uji Aktifitas Ekstrak Daun Binahong *Anredera cordifolia* (Ten) Steen Terhadap Pertumbuhan *Stahylcocus Epidermis* Pada Jerawat*. [Skripsi]. Bandung : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung.

Widyaningrum, Herlina. 2012. *Sirsak Si Buah Ajaib 10.000x Lebih Hebat dari Kemoterapi*. Yogyakarta: MedPress.

Yuswantina, Richa. 2009. *Uji aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Astat dan Etanol Rhizome Binahong Anredera cordifolia (Ten) Steenis dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidra-zil)*. [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.