

Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Berdasarkan Teknik Pengolahan

Mega Yulia dan Riki Ranova

Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi

Detail Artikel

Diterima : 1 Januari 2019
Direvisi : 8 Oktober 2019
Diterbitkan : 30 Oktober 2019

Kata Kunci

Annona muricata Linn
Antioksidan
Daun Sirsak
Teh

Penulis Korespondensi

Name : Mega Yulia
Affiliation : Akademi Farmasi
Imam Bonjol Bukittinggi
Email : megayuriano@yahoo.com

ABSTRAK

Teh merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat setelah air. Berbagai macam jenis daun telah diolah menjadi teh oleh masyarakat seperti daun sirsak. Manfaat yang diharapkan dari mengonsumsi teh daun sirsak adalah sebagai sumber antioksidan yang dapat menangkal berbagai jenis penyakit karena adanya kandungan acetogenin. Untuk menghasilkan teh yang bermutu tinggi, penanganan pucuk pasca panen perlu dilakukan dengan teknik sebaik mungkin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak teh daun sirsak berdasarkan variasi teknik pengolahan teh. Pengolahan dilakukan dengan 3 (tiga) variasi teknik pengolahan teh yaitu teh hijau, teh hitam dan teh oolong. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metoda penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH (1,1-Difenil-2-pikrihidrazil). Hasil

penelitian menunjukkan bahwa persentase inhibisi teh hijau sebesar 42,776%, teh oolong 39,962%, dan teh hitam 43,902%. Aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada pengolahan teh hitam daun sirsak. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perbedaan teknik pengolahan teh tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

ABSTRACT

Tea is one drink that is widely consumed by people after water. Various types of leaves have been processed into tea by the people such as soursop leaves. The expected benefits of consuming soursop leaf tea is as a source of antioxidants that can ward off various types of diseases due to the presence of acetogenin. To produce high quality tea, handling after harvest needs to be done with the best possible technique. This study aims to determine the antioxidant activity of soursop leaf tea extract based on variations in tea processing techniques. Processing is done with 3 (three) variations of tea processing techniques, there are green tea, black tea and oolong tea. The antioxidant activity test was carried out by the method of capturing free radicals using DPPH (1,1-Diphenyl-2-pikrihidrazil). The results showed that the percentage of inhibition of green tea was 42.777%, oolong tea was 39.962%, and black tea was 43.902%. The highest antioxidant activity was found in the processing of soursop leaf is a black tea. From the results of this study can concluded there are differences in tea processing techniques do not affect the antioxidant activity

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah sebuah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Rosadi dkk, 2013). Radikal bebas merupakan bagian dari proses alami dalam tubuh. Selain sebagai hasil alami, radikal bebas juga dapat bersumber dari luar tubuh (polusi, asap rokok, radiasi, obat-obatan) (Young, 2001). Kadar radikal bebas yang diimbangi dengan antioksidan tidak akan berbahaya, tapi akan membahayakan jika kadar radikal bebas melampaui kadar yang dapat ditangani tubuh sehingga menyebabkan kerusakan. Kerusakan tersebut berdampak timbulnya penyakit pada tubuh. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis, yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata. Contoh penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas adalah diabetes mellitus, neurodegenerative disorders (Parkinson, Alzheimer dan Multiple sclerosis), kardiovaskular penyakit jantung (atherosclerosis dan hipertensi), penyakit saluran pernafasan (asma), katarak, rheumatoid arthritis dan berbagai jenis kanker (Phaniendra et al, 2015). Untuk itu tubuh membutuhkan suatu senyawa yang dapat menangkalkan efek buruk dari radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah dampak negatif yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Penelitian yang dilakukan oleh Santhoshkumar Muthu and Brindha Durairaj dari Department of Biochemistry, PSG College of Arts and Science, Coimbatore didapatkan hasil bahwa ekstrak hidroalkohol dari daun sirsak bisa menjadi pertimbangan sebagai sumber antioksidan untuk mencegah berbagai jenis penyakit manusia (Muthu and Durairaj, 2015). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk diketahui daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder antara saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan alkaloid (Rahman et al., 2017).

Seiring perkembangan IPTEK, variasi minuman saat ini terus berkembang, seperti minuman herbal berbahan baku daun sirsak yang dikemas dalam bentuk teh. Minuman ini mulai banyak diminati oleh masyarakat untuk kebugaran tubuh dan mengatasi keluhan penyakit. Jenis teh bervariasi tergantung dari teknik pengolahan yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak teh daun sirsak berdasarkan variasi pengolahan teh. Pengolahan dilakukan dengan 3 (tiga) variasi teknik pengolahan teh yaitu teh hijau, teh hitam dan teh oolong. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metoda penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat gelas biasa seperti tabung reaksi, erlenmeyer, dll. Satu set destilasi vakum, satu set alat *rotary evaporator* (DLAB RE100-Pro), Spektrofotometer UV-Vis (T-70), timbangan (Ohaus).



Gambar 1. Alat Rotary evaporator DLAB RE 100-Pro

Bahan dan zat adalah daun sirsak, aquadest, etanol destilasi, etanol p.a, pasir steril, DPPH (1,1-Difenil-2-pikrihidrazil), kloroform, amoniak, mayer, Besi (III) Klorida (FeCl_3), norit, asam asetat anhidrat, asam sulfat, HCl dan serbuk magnesium.

Pengambilan Sampel

Sampel segar daun sirsak diambil sebanyak 1,5 kg di Nagari Lasi, Kabupaten Agam, Sumatera Barat.

Pemeriksaan Kandungan Fitokimia

1. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan metode Culvernor-Fitzgerald, yaitu sampel sebanyak 2 gram dirajang halus gerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih, tambahkan 10 ml kloroform. Tambahkan 10 ml larutan kloroform-amoniak 0,05 N, lalu gerus dan saring ke dalam tabung reaksi, tambahkan 0,5 ml asam sulfat 2 N, kocok selama 2 menit dan biarkan sampai terjadi pemisahan. Ambil lapisan asam, pindahkan kedalam tabung reaksi lain, kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih atau endapan putih yang tidak dapat dituang.

2. Pemeriksaan Steroid, Terpenoid, dan Fenolik

Pemeriksaan dilakukan berdasarkan metoda simen *et al* yaitu sampel sebanyak 2 gram yang telah dirajang dididihkan dengan 25 ml etanol selama 15 menit, saring selagi panas dan filtratnya dikeringkan diatas penangas. Ekstrak yang didapat ditambahkan air suling dan kloroform masing-masing 5 ml, kocok dan biarkan sampai terbentuk lapisan 2 lapisan yaitu lapisan air dan kloroform. Lapisan air diambil 3 ml kemudian dikocok dalam tabung reaksi lain. Jika terbentuk busa yang bertahan selama 15 menit berarti positif Saponin. Pemeriksaan senyawa Fenolik dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes FeCl_3 pada 0,5 ml larutan air, reaksi akan positif jika terbentuk warna biru. Lapisan kloroform disaring dengan norit dalam plat tetes. Larutannya diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan mengering, setelah mengering tambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna merah berarti positif Steroid, sedangkan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif Terpenoid.

3. Pemeriksaan Flavonoid

Sampel sebanyak 2 gram dirajang halus, dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dididihkan dengan 5 ml etanol, dan saring selagi panas. Filtratnya diuapkan sampai

kering kemudian dilarutkan dengan aquadest, lalu tambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Jika terbentuk warna merah menunjukkan adanya senyawa Flavonoid.

Pengolahan Sampel

Masing-masing sampel daun sirsak dikerjakan dengan metoda pengerjaan teh hijau, teh hitam, teh oolong (Ajisaka, 2012).

a. Pengolahan teh hijau

Masing-masing sampel sebanyak 500 gram dipanaskan dengan uap selama 5 menit. Sampel kemudian dirajang dan digulung dengan cara yang sederhana yaitu daun sedikit demi sedikit di taruh diatas meja, kemudian digulung dengan telapak tangan selama 20 menit. Selanjutnya proses pengeringan dilakukan dengan cara disangrai dengan api sedang, kemudian hasil pengeringan ditimbang.

b. Pengolahan teh hitam

Masing-masing sampel sebanyak 500 gram dilayukan selama 24 jam dengan cara diangin-anginkan. Kemudian dirajang dan digulung selama 20 menit. Setelah proses penggulangan selesai, daun teh diletakkan di atas meja untuk menjalani proses fermentasi. Proses fermentasi berlangsung selama tiga hari, selanjutnya proses pengeringan dilakukan disangrai dengan api sedang, kemudian hasil pengeringan ditimbang.

c. Pengolahan teh oolong

Masing-masing sampel sebanyak 500 gram dilayukan selama 24 jam dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya dirajang dan digulung selama 20 menit. Setelah proses penggulangan daun teh diletakkan di atas meja untuk menjalani proses fermentasi. Proses fermentasi berlangsung selama satu hari, selanjutnya proses pengeringan dilakukan disangrai dengan api sedang, kemudian hasil pengeringan ditimbang.

Pembuatan Ekstrak

1. Ekstraksi dilakukan dengan metoda maserasi dimana masing-masing sampel ditimbang 250 gram, kemudian masukan ke dalam botol maserasi berwarna gelap, tambahkan pelarut sampai sampel terendam, perendaman dilakukan selama 5 hari dengan sesekali diaduk setiap hari untuk mempercepat proses pelarutan komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Ekstraksi dilakukan berulang-ulang kali sehingga sampel terekstraksi secara sempurna yang ditandai dengan pelarut pada sampel berwarna bening.
2. Masing-masing sampel yang telah direndam dengan pelarut tadi disaring dengan menggunakan kertas saring dan kapas untuk mendapatkan maserat murni yang tidak ada pengotornya. Kemudian ekstrak dikentalkan dengan *rotary evaporator*.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 5 mg DPPH kristal dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur sampai 250 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20 µg/ml (Molyneux, 2004).

2. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 20 µg/ml dan ditambahkan dengan 0,2 ml etanol dalam test tube. Setelah itu dibiarkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-600 (Molyneux, 2004), sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH.

3. Pembuatan sampel

Masing-masing sebanyak 1 mg sampel ditimbang dan dilarutkan dengan etanol hingga 10 ml dalam labu ukur, diamkan selama 30 menit sambil sekali-sekali diaduk. Kontrol pembanding digunakan ekstrak teh hijau dan teh hitam (*Camellia sinensis*) masing-masing sebanyak 1 mg.

4. Penentuan aktivitas antioksidan

Sampel dipipet sebanyak 0,2 ml ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 20 µg/ml didalam test tube. Campuran didiamkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Larutan ini kemudian diukur absorbsinya pada panjang gelombang maksimum. Sebagai pembanding teh hijau dan teh hitam dilakukan dengan pengerjaan yang sama, masing-masing dilakukan 3 kali pengerjaan.

5. Penentuan presentase Inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 \%$$

A1 = absorbansi kontrol

A2 = absorbansi sampel

Nilai 0 % berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya (Molyneux, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 : Hasil Pemeriksaan Kandungan Fitokimia dari Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Kandungan senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Mayer	(+)
Steroid	Asam asetat anhidrat, H ₂ SO ₄ (p)	(-)
Flavonoid	Hcl pekat, serbuk mg	(+)
Saponin	Hcl 2 N	(+)
Fenolik	FeCl ₃	(+)
Terpenoid	Asam anhidrat, H ₂ SO ₄ (p)	(+)

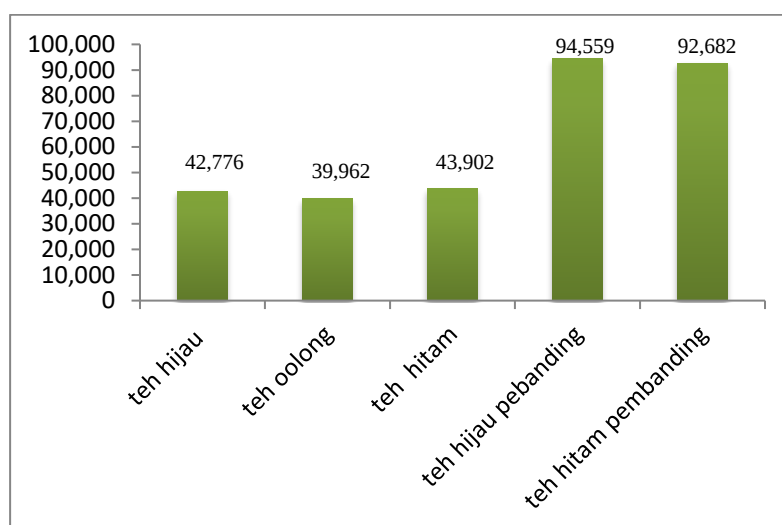
Keterangan :

(+) = Bereaksi

(-) = Tidak bereaksi

Tabel 2 : Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH

Teh daun sirak	% Inhibisi
Teh hijau	42,776%
Teh oolong	39,962%
Teh hitam	43,902%
Teh hijau pembanding	94,559%
Teh hitam pembanding	92,682%



Gambar 2. Diagram batang % inhibisi teh sirsak terhadap DPPH

Pada penelitian ini digunakan daun sirsak (*Annona muricata* Linn) yang diambil di Nagari Lasi, Kabupaten Agam Kota Bukittinggi seberat 1,5 kg. Pemilihan kondisi daun adalah daun yang sudah tua yaitu ditandai dengan warna hijau tua, tebal, dan daun agak kaku karena tulang daun yang bertekstur keras. Daun sirsak diolah dengan teknik pengolahan teh, yaitu pengolahan teh hijau, teh hitam, dan teh oolong.

Ekstraksi menggunakan metoda maserasi dengan pelarut etanol destilasi. Metoda ini dipilih karena mempunyai keuntungan selain menggunakan alat yang sederhana dan juga dapat menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia yang tidak tahan pemanasan maupun yang tahan pemanasan. Sampel direndam dengan etanol destilasi secara terukur di dalam botol kaca berwarna gelap sehingga tidak tembus cahaya, hal ini bertujuan untuk melindungi simplisia agar tidak teroksidasi. Perendaman dilakukan selama 5 hari dan diaduk sesekali, kemudian pelarut diganti, dan maserat disaring dengan menggunakan kapas agar maserat terbebas dari partikel-partikel dan endapan. Penyarian dilakukan sebanyak 3x dan setiap penambahan pelarut harus terukur.

Maserat yang telah dimaserasi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. *Rotary evaporator* digunakan untuk memperoleh ekstrak kental. Prinsip kerja dari *rotary evaporator* adalah memisahkan hasil maserat dengan pelarut menggunakan pemanasan dibawah titik didih pelarut, penurunan tekanan pada labu dan pemutaran dengan kecepatan tertentu sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi. Proses ini dilakukan sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu *rotary evaporator*.

Ekstrak kental yang diperoleh dari masing-masing pengolahan teh daun sirsak adalah sebanyak 31,43 gram untuk teh hijau, 14,60 gram teh hitam, 18,28 gram teh oolong, 28,28 gram teh hijau pibanding, dan 14,54 gram teh hitam pibanding.

Dari semua sampel yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metoda DPPH. Metode DPPH merupakan suatu uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas dari teh daun sirsak sebagai antioksidan serta prosedur pengukuran aktivitas antioksidan yang mudah dan dapat dilakukan dengan waktu yang singkat. Pengukuran panjang gelombang serapan maksimal dari larutan DPPH 20µg/ml menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang 517,0 nm dengan absorbansi 0,533.

Masing-masing sampel dan kontrol pibanding sebanyak 1 mg dilarutkan dengan etanol p.a hingga 10 ml dengan labu ukur didiamkan selama 30 menit sambil sekali-kali diaduk,

kemudian sampel dipipet sebanyak 0,2 ml ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 20µg/ml didalam test tube didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517,00 nm sehingga dapat dihitung persentase inhibisi. Untuk teh hijau didapatkan % inhibisinya sebesar 42,776% , teh oolong 39,962%, teh hitam 43,902%, teh hijau pembanding 94,559% dan teh hitam pembanding 92,682%. Dari data tersebut diketahui bahwa the daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas antioksidan dari the daun sirsak adalah acetogenin (Food, 2015)(Agu *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini didapatkan hasil aktivitas antioksidan dari teh hitam daun sirsak lebih tinggi, akan tetapi terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada pengolahan teh hijau dan teh oolong. Persentase inhibisi terbesar didapatkan pada teh hitam daun sirsak sebesar 43,902%. Tidak ada masalah dalam pengolahan teknik teh, karena hasil aktivitas antioksidan tidak berbeda jauh antara teh hitam, teh oolong dan teh hijau daun sirsak. Nilai aktivitas antioksidan teh daun sirsak berbeda jauh dengan nilai aktivitas antioksidan teh hijau pembanding, hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan dalam pemilihan daun, dimana teh hijau menggunakan teknik pemilihan pucuk daun atau daun muda, sedangkan teh sirsak yang digunakan adalah daun tua.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh nilai aktivitas antioksidan teh daun sirsak yang tertinggi didapatkan pada pengolahan teh hitam, walaupun berdasarkan teknik pengolahannya tidak menunjukan nilai aktivitas antioksidan yang jauh berbeda antara ketiga teknik tersebut sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan teknik pengolahan teh tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agu, K. C. *et al.* (2018) 'In vitro anticancer assessments of *Annona muricata* fractions and in vitro antioxidant profile of fractions and isolated acetogenin (15-acetyl guanacone)', *Journal of Cancer Research and Practice*. Elsevier Taiwan LLC, 5(2), pp. 53–66. doi: 10.1016/j.jcrpr.2017.12.001.
- Ajisaka (2012) *Teh Dahsyat Khasiatnya*. Surabaya: Stomata.
- Food, I. (2015) 'A comparative study on antioxidant properties , proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe *Annona muricata* (L .) fruit', 22(6), pp. 2381–2388.
- Molyneux, P. (2004) 'The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity', *Songklanakarini J.Sci. Technol*, 50(December 2003).
- Muthu, S. and Durairaj, B. (2015) 'Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activity of *Annona muricata*', 5(3), pp. 39–45.
- Phaniendra, A. and Babu, D. (2015) 'Free Radicals : Properties , Sources , Targets , and Their Implication in Various Diseases', 30(1), pp. 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Rahman, F. A. *et al.* (2017) 'Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L .) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668 Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu Steroid ', 3(1), pp. 1–7.
- Rosadi, T., Kusmiyati, M. and Wijayanti, F. (2013) 'Edisi Juli 2013 Volume VII No. 1', *uinsgd*, VII(1). Available at: <https://journal.uinsgd.ac.id/index.php/istek/article/view/242>.
- Young, I. and Woodside, J. (2001) 'Antioxidants in health and disease', *J Clin Pathon*, pp. 176–186. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11253127>.