

# Analisis Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pelarut Kulit Batang Tumbuhan “At Anonse” (*Annona reticulata* L.)

Noviana Mery Obenu\*<sup>1</sup>, Emilia Juliyanti Bria<sup>1</sup>, Maria Magdalena Kolo<sup>1</sup>, Jenrigo Klaumegio Mere<sup>1</sup>, Anastasia Tse<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia

\*alamat email korespondensi: [noviobenu3@gmail.com](mailto:noviobenu3@gmail.com)

## Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi untuk melawan radikal bebas dan melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan. Sumber antioksidan dapat berasal dari dalam dan luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan terpenoid. Berdasarkan hasil eksplorasi dan identifikasi tumbuhan *Annona reticulata* L. juga dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tumbuhan dan aktivitas antioksidannya. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan metanol sedangkan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol adalah golongan triterpenoid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Aktivitas antiosidan kedua ekstrak pelarut tersebut tergolong dalam kategori sedang dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat sebesar 177,1325  $\mu\text{g/mL}$  dan metanol sebesar 235,4198  $\mu\text{g/mL}$ .

**Kata Kunci:** Analisis Fitokimia; *Annona reticulata* L.; DPPH

## Abstrak

Antioxidants are substances that work to fend off free radicals and shield cells from the damage they cause. Antioxidants can be found both inside and outside of the body. Plants that contain secondary metabolites such as phenolic chemicals, flavonoids, alkaloids, tannins, steroids, and terpenoids can provide antioxidants that come from outside the body. An additional purpose for *Annona reticulata* L. is as a medicinal plant, according

to the results of the exploration and identification. The purpose of this study was to identify the secondary metabolites present in plant extracts and their antioxidant activity. The antioxidant activity test was performed using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, and the extraction was performed using the maceration method using ethyl acetate and methanol. Triterpenoids, tannins, saponins, phenolics, flavonoids, and alkaloids were the classes of substances found in the ethyl acetate and methanol extracts, according to the analysis's findings. The IC<sub>50</sub> values for the two solvent extracts—177.1325 g/mL for ethyl acetate and 235.4198 g/mL for methanol—were used to classify the antioxidant activity as moderate.

**Keyword:** Phytochemical analysis, *Annona reticulata* L.; DPPH

## I. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi [1] dan berfungsi melawan radikal bebas serta melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan. Selain itu, antioksidan juga berperan dalam pencegahan penyakit dalam tubuh [1]. Sumber antioksidan dapat berasal dari dalam dan luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh bersumber dari tanaman yang mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai penyakit [2].

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan dan tidak memiliki peran secara langsung dalam pertumbuhan serta perkembangan tumbuhan

tersebut tetapi memiliki sifat aktif terhadap suatu penyakit [2] [1][3]. Senyawa metabolit sekunder dapat diisolasi dari organ-organ bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji [1]. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan sangat bervariasi antara satu spesies dengan spesies lainnya [4].

Tumbuhan *Annona reticulata* L. termasuk dalam famili *Annonaceae*, umumnya merupakan pohon kecil yang dikenal di Indonesia sebagai tumbuhan nona atau mulwo. Tumbuhan mulwo juga dikenal dengan nama “*Apel custard*” dalam bahasa Inggris dan “*Sharifa*” dalam bahasa Hindia [5]. Pulau Timor, khususnya di Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU), mengenal tumbuhan ini dengan nama “*At anonse*”.

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diketahui terkandung dalam famili

*Annonaceae* yakni alkaloid, steroid, flavonoid, terpenoid, tanin, fenol, asam amino, dan glikosida. Penelitian terdahulu yang sudah dilakukan oleh Zaman dan Pathak (2013)[6], melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. mengandung senyawa alkaloid, tanin dan fenolik. Koto et al., (2018) [7], juga telah melakukan penelitian analisis fitokimia kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. menggunakan pelarut *n*-heksana dan melaporkan mengandung senyawa tanin, alkaloid dan fenolik. Sedangkan Bharadwaj et al., (2019) [8], melaporkan bahwa ekstrak metanol akar tumbuhan *Annona reticulata* L. mengandung senyawa alkaloid, asetogenin, karbohidrat, flavonoid, tanin, dan protein. Menurut Chavan et al. (2020)[9], hasil yang diperoleh dalam penelitian studi potensi ekstrak etanolik daun *Annona reticulata* L. menunjukkan adanya senyawa alkaloid, protein, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan karbohidrat.

Berdasarkan hasil eksplorasi dan identifikasi tumbuhan obat yang dilakukan oleh Obenu et al. (2021) [10] salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah tumbuhan *Annona reticulata* L. Tumbuhan ini oleh masyarakat setempat dimanfaatkan sebagai obat untuk mengobati penyakit diare dan malaria dengan

menggunakan bagian daun. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidannya.

## II. METODE PENELITIAN

### 2.1 Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Kulit batang *Annona reticulata* L. diambil dari pohon kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel, lalu dicuci hingga bersih dan ditiriskan. Kulit batang yang sudah bersih selanjutnya ditimbang kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan ( $\pm$  3 hari) hingga kering. Selanjutnya kulit batang kering tumbuhan ini ditimbang dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus.

Serbuk halus kulit batang selanjutnya ditimbang sebanyak 170 gram kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 1000 mL, kemudian didiamkan selama 3 x 24 jam pada suhu ruang dan selanjutnya disaring dan diperoleh ekstrak etil asetat. Residu yang diperoleh diremaserasi lagi menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam kemudian disaring sehingga mendapatkan ekstrak metanol. Ekstrak etil asetat dan metanol selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* bertekanan rendah sehingga menghasilkan ekstrak pekat etil asetat dan

metanol. Kedua ekstrak pekat ini selanjutnya ditimbang dan dilanjutkan ke tahapan selanjutnya.

## 2.2 Analisis Fitokimia

### a) Uji Triterpenoid

Diambil 10 tetes sampel ekstrak dimasukkan ke dalam plat tetes kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 3 tetes asam sulfat pekat selanjutnya dikocok larutan tersebut secara perlahan dan dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya diperhatikan perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna merah atau ungu menandakan positif mengandung senyawa triterpenoid.

### b) Uji Tanin

Dimasukkan 10 tetes sampel ekstrak ke dalam plat tetes, ditambahkan 5 tetes air panas dan 5 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % dan diperhatikan perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menandakan positif mengandung senyawa tanin.

### c) Uji Saponin

Dimasukkan 0,5 mL sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas, lalu didinginkan kemudian dikocok selama 10 detik lalu diamati. Jika terbentuk busa ( $\pm 1-10$  cm) dan tidak kurang dari 10 menit serta tidak hilang dengan penambahan

HCl 2 N maka menunjukkan adanya senyawa saponin.

### d) Uji Fenolik

Dimasukkan 10 tetes sampel ekstrak ke dalam plat tetes lalu tambahkan larutan NaOH 10 % 10 tetes. Diperhatikan perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna merah menandakan positif mengandung senyawa fenolik.

### e) Uji Flavonoid

Dimasukkan 10 tetes sampel ekstrak ke dalam plat tetes kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl pekat dan 3-4 pita logam Mg lalu dikocok perlahan kemudian diperhatikan perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna merah, jingga, atau ungu menandakan positif senyawa flavonoid.

### f) Uji Alkaloid

1. Pembuatan larutan dan pereaksi untuk uji alkaloid

#### *Pembuatan larutan kloroform beramonia*

Sebanyak 1 mL ammonia pekat 28 % ditambahkan ke dalam 250 mL kloroform. Kemudian, campuran dikeringkan dengan menambahkan 2,5 gram natrium sulfat anhidrat dan campuran disaring.

#### *Pembuatan pereaksi Meyer*

Senyawa  $\text{HgCl}_2$  sebanyak 1,5 gram dilarutkan dengan 60 mL akuades. Ditempat lain

dilarutkan KI sebanyak 5 gram dalam 10 mL akuades. Kedua larutan yang telah dibuat kemudian dicampur dan diencerkan dengan akuades sampai volume 100 mL dan disimpan dalam botol gelap.

#### *Pembuatan pereaksi Wagner*

Padatan KI sebanyak 2 gram dan iodine sebanyak 1,3 gram dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 100 mL kemudian disaring. Pereaksi ini juga disimpan dalam botol gelap.

#### *Pembuatan pereaksi Dragendorff*

Bismut subnitrat sebanyak 1 gram dilarutkan dalam campuran 10 mL asam asetat glasial dan 40 mL akuades. Ditempat lain 8 gram KI dilarutkan dalam 20 mL akuades. Kedua larutan ini dicampur dan kemudian diencerkan sampai volume 100 mL. Selanjutnya disimpan dalam botol gelap dan hanya dapat digunakan selama beberapa minggu setelah dibuat.

## 2. Uji Alkaloid

Bahan tumbuhan sebanyak 5-10 gram diekstraksi dengan kloroform beramonia lalu disaring kemudian dimasukkan 0,5-1 mL asam sulfat 2 N dan dikocok sampe terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan dimasukkan pada tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan dua tetes pereaksi meyer, tabung kedua ditambahkan 2 tetes

pereaksi wagner, tabung ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorff kemudian diamati hasilnya. Alkaloid dikatakan positif apabila terjadi endapan putih pada tabung reaksi pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua serta ketiga.

### g) Steroid

Diambil 10 tetes sampel ekstrak dimasukkan ke dalam plat tetes kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 3 tetes asam sulfat pekat lalu dikocok larutan secara perlahan dan dibiarkan selama 5 menit dan diamati. Perhatikan perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna biru atau hijau positif senyawa steroid.

## 2.3 Uji Aktivitas Antioksidan

### a) Pembuatan Larutan Uji

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan ekstrak etil asetat dan metanol. Disiapkan 1000 mg ekstrak etil asetat dan metanol, masing-masing ekstrak ditambah 1000 mL metanol p.a. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50, 125, 250, dan 500 ppm.

### b) Pembuatan Larutan stok DPPH 50 ppm

Dibuat larutan stok DPPH 50 ppm dengan cara ditimbang padatan DPPH sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a sehingga diperoleh larutan DPPH 50 ppm.

### c) Pembuatan Larutan Kontrol

Dibuat larutan kontrol dengan cara 2 mL metanol p.a ditambah 1 mL DPPH 50 ppm sehingga diperoleh larutan kontrol, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan kontrol yang telah diinkubasi diukur nilai absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda = 517$  nm.

d) Penentuan nilai  $IC_{50}$

Ekstrak etil asetat dan metanol diambil sebanyak 2 mL dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditambah larutan DPPH 2 mL dengan pengujian dilakukan sebanyak 2 kali. Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sampel yang telah diinkubasi diukur nilai absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda = 517$  nm.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Preparasi sampel merupakan proses persiapan sampel sebelum dilakukan analisis. Ada beberapa tahapan dalam proses preparasi sampel yaitu: persiapan sampel, pencucian, penimbangan, pengeringan dan pengecilan ukuran sampel. Tahap pencucian sampel dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada kulit batang sampel. Selanjutnya sampel dicacah dan dilakukan pengeringan. Hal tersebut didukung oleh penelitian (Obenu 2019)[4], yang menyatakan bahwa pengeringan dilakukan untuk

mengurangi kadar air sehingga terhindar dari mikroba. Proses pengeringan dilakukan dengan cara dikering anginkan pada suhu ruang agar senyawa yang terkandung didalam sampel tidak rusak. Sampel yang telah kering ditimbang lagi dan diperoleh hasil sebanyak 695 gram. Pengecilan ukuran sampel dilakukan dengan tujuan yaitu dapat memperbesar luas permukaan. Hal ini disebabkan karena semakin luas permukaan sampel maka akan memperbesar kontak antara pelarut dan sampel sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih cepat dan maksimal[4]

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya[11]. Metode ekstraksi terbagi menjadi dua bagian yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Penelitian ini digunakan ekstraksi dingin yakni maserasi. Metode ini tidak melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi, sehingga dapat terhindar dari rusaknya struktur senyawa yang akan diekstrak [11][3]. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia sebanyak 170 gram menggunakan pelarut etil asetat dan metanol sebanyak 1000 mL. Penggunaan pelarut etil asetat dan metanol dalam proses maserasi memiliki tujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa berdasarkan prinsip *like dissolve like* pada suatu pelarut[12].

Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam kemudian diremaserasi. Semakin lama suatu simplisia direndam dengan pelarut organik maka semakin maksimal senyawa-senyawa metabolit sekundernya terekstrak. Hal ini disebabkan karena sampel akan mengalami pemecahan dinding sel dan membran sel sebagai akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sel akan terlarut dalam pelarut organik [12]. Remaserasi dilakukan dengan tujuan untuk menarik kandungan senyawa yang masih tertinggal pada saat maserasi pertama. Remaserasi juga dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Setelah dilakukan partisi secara cair-cair selanjutnya ekstrak dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga menghasilkan ekstrak kental[13].

### 3.2 Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu sampel[14][15][16]. Hasil analisis fitokimia ekstrak etil asetat dan metanol pada kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. di sajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Analisis Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Dan Metanol Kulit Batang Tumbuhan *Annona reticulata* L.

No	Nama Senyawa	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
1	Triterpenoid	+	+
2	Tanin	+	+
3	Saponin	+	+
4	Fenolik	+	+
5	Flavonoid	+	+
6	Alkaloid	+	+
7	Steroid	-	-

Sumber : Hasil Penelitian (2022)

Hasil Analisis fitokimia ekstrak etil asetat dan metanol selanjutnya dibandingkan dengan hasil analisis fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. yang dilakukan oleh Zaman & Pathak (2013)[6] yang ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Analisis Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan *Annona reticulata* L.

No	Nama Senyawa	Ekstrak Metanol
1	Alkaloid	-
2	Flavonoid	-
3	Steroid	-
4	Saponin	-
5	Tanin	+
6	Fenolik	+
7	Triterpenoid	-

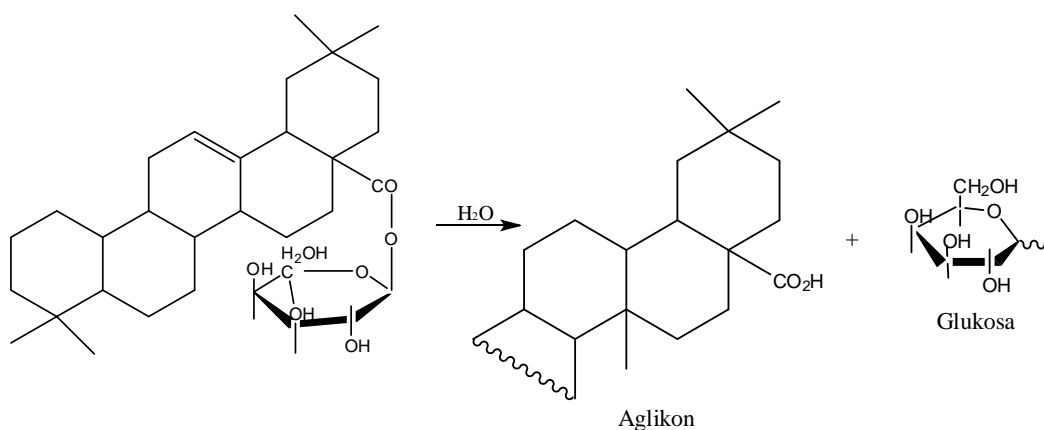
Berdasarkan hasil analisis fitokimia yang telah dilakukan terlihat bahwa hampir semua

senyawa metabolit sekunder terkandung didalam sampel kulit batang *Annona reticulata* L. dibandingkan penelitian oleh Zaman dan Pathak (2013) [6] yang hanya memiliki 2 senyawa metabolit sekunder dengan lokasi pengambilan sampel di Sivasaga, India. Adanya perbedaan golongan senyawa tersebut disebabkan karena letak geografis dari suatu daerah tempat tumbuh tumbuhan tersebut (Obenu, 2019) [4]. Daerah TTU merupakan daerah yang memiliki musim kemarau yang panjang sehingga kemungkinan tumbuhan memproduksi senyawa metabolit sekunder lebih banyak dari daerah lain [3][11]. Hal tersebut di dukung oleh penelitian Setyorini dan Yusnawan (2017) [17] yang menyatakan bahwa produksi senyawa metabolit sekunder disebabkan oleh kondisi perubahan lingkungan pada suatu daerah. Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak etil asetat dan metanol pada kulit batang tumbuhan

*Annona reticulata* L. diuraikan sebagai berikut:

a) Saponin

Saponin merupakan senyawa bahan alam yang termasuk dalam bentuk glikosida dan tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi. Sifat dari senyawa saponin yaitu memiliki sifat seperti sabun sehingga ketika dilarutkan ke dalam air maka akan terbentuk busa atau buih. Hasil pengujian saponin dari ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. menunjukkan bahwa terdapat senyawa saponin dengan adanya busa yang stabil selama 10 menit. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain[18]. Reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**



**Gambar 1.** Perkiraan Reaksi Pembentukan Saponin [18]



b) Fenolik

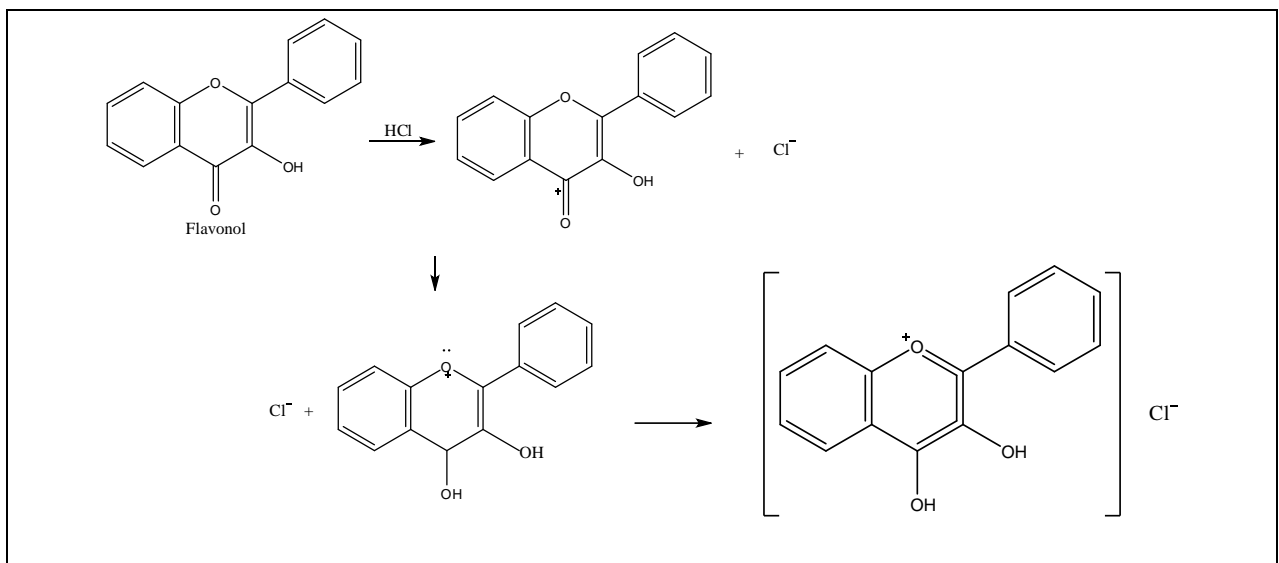
Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik dan memiliki satu atau lebih gugus hidroksi ( $\text{OH}^-$ ) serta banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi [19][15] Hasil uji ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. positif adanya senyawa fenolik pada ekstrak karena terjadi perubahan warna dari coklat tua menjadi warna merah. Hal ini didukung oleh peneliti Bettuzi *et al.*, (2006)[20] yang menyatakan bahwa perubahan warna tersebut disebabkan karena adanya adanya gugus hidroksil di dalam senyawa fenolik yang dapat mendonorkan atom hidrogen melalui mekanisme transfer elektron.

c) Flavonoid

Hasil uji skrining pada ekstrak kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. positif

mengandung flavonoid. Hasil pengujian flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna jingga pada ekstrak etil asetat dan metanol yang menunjukkan senyawa flavon. Menurut Widyawati (2017) [21], Penambahan HCl pada metode ini untuk memberikan suasana asam yang ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi jingga sampai merah.

Mekanisme reaksi pada **Gambar 2.** menunjukkan bahwa pengujian ekstrak menggunakan HCl dimana HCl akan bereaksi dengan gugus karbonil pada flavon yang mengalami resonansi, kemudian akan terbentuk ikatan baru yaitu pelepasan ikatan rangkap dan pembentukan gugus hidroksil. Reaksi yang terjadi merupakan pembentukan ikatan baru dimana adanya HCl yang mampu melarutkan flavon.

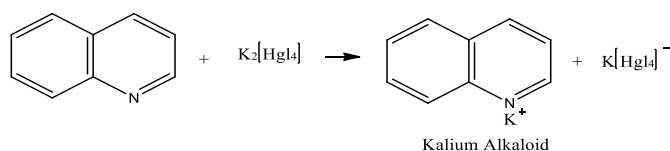


**Gambar 2.** Perkiraan Reaksi Uji Flavonoid [18]

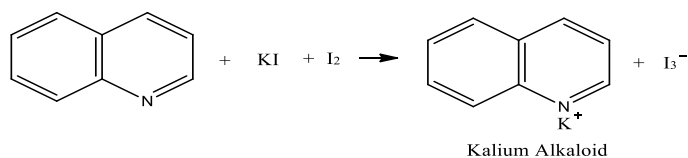
## d) Alkaloid

Analisa alkaloid digunakan 5 mL ekstrak kemudian ditambah 1 mL asam sulfat 2 N. senyawa alkaloid pada tanaman umumnya ditemukan dalam bentuk garam yang bersifat larut dalam air sehingga pada identifikasi golongan senyawa alkaloid dilakukan penambahan asam sulfat 2 N. Dilakukan penambahan pereaksi pengendapan yaitu Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Penambahan pereaksi tersebut, alkaloid akan bereaksi dengan nitrogen sehingga membentuk endapan. Hasil identifikasi menunjukkan positif pada ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. yang ditunjukkan oleh warna larutan yang menjadi keruh. Uji

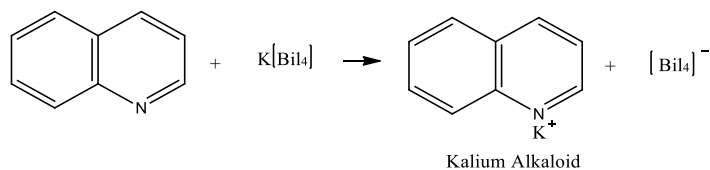
alkaloid menggunakan reagen mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih dan endapan tersebut adalah kompleks Kalium-alkaloid. Hasil uji positif alkaloid dengan penambahan reagen wagner pada ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Uji alkaloid ekstrak metanol dan etil asetat kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. menunjukkan hasil positif dengan reagen dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning[18][14][22]. Perkiraan reaksi uji mayer, wagner dan dragendorff ditunjukkan pada **Gambar 3, 4 dan 5**.



**Gambar 3.** Perkiraan Reaksi Uji Meyer [18]



**Gambar 4.** Perkiraan Reaksi Uji Wagner [18]



**Gambar 5.** Perkiraan Reaksi Uji Dragengdorff [18]

## e) Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrasil*) [23][22]. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH karena dapat mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas, mudah, cepat, sederhana dan mempunyai tingkat sensitivitas tinggi. DPPH adalah senyawa radikal yang dapat digunakan sebagai indikator proses reduksi senyawa antioksidan[24]. Setelah DPPH bereaksi dengan antioksidan, warna

ungu DPPH akan berkurang dan berubah menjadi kuning. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning ini disebabkan karena adanya reaksi yang menyebabkan berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya proses penghambatan. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. serta asam askorbat sebagai kontrol positif disajikan pada **Tabel 3** di bawah ini

**Tabel 3.** Hasil perhitungan nilai absorbansi, % Inhibisi, dan IC<sub>50</sub> Ekstrak Etil Asetat dan Metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. serta Asam Askorbat

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Absorbansi Rata-Rata	% Inhibisi	Nilai IC <sub>50</sub>
		I	II			
Ekstrak Etil Asetat	50	0,609	0,616	0,6125	29,55 %	177,1325 µg/mL
	125	0,479	0,494	0,4865	44,04 %	
	250	0,314	0,32	0,317	63,54 %	
	500	0,063	0,066	0,0645	92,58%	
Ekstrak Metanol	50	0,706	0,717	0,7115	18,17%	235,4198 µg/mL
	125	0,562	0,573	0,57	34,44%	
	250	0,407	0,386	0,365	54,39%	
	500	0,09	0,078	0,084	90,33%	
Ekstrak Asam Askorbat	0,5	0,537	0,513	0,525	31,37%	1,8186 µg/mL
	1,25	0,433	0,433	0,438	43,25%	
	2,5	0,291	0,293	0,292	61,83%	
	5	0,084	0,079	0,0815	89,73%	

Sumber : Hasil penelitian (2021)

DPPH oleh antioksidan melalui proses donor hidrogen untuk membentuk DPPH stabil [25]. Tingkat aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dapat digolongkan berdasarkan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*) didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi [25].

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan pada **Tabel 3** terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka nilai % penghambatan semakin naik. Nilai tingkat % penghambatan (inhibisi) meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang menghambat radikal bebas DPPH melalui proses donor hidrogen membentuk DPPH stabil. Hal ini juga disertai dengan adanya perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning.

Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan *Annona reticulate* L. sebesar 177,1325  $\mu\text{g/mL}$  dan 235,4198  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan nilai  $IC_{50}$  asam askorbat yakni 1,8616  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan kategori penentuan kekuatan aktivitas antioksidan nilai  $IC_{50}$  oleh Nasution *et al.* (2015) [27] kedua ekstrak ini berada pada kisaran 101-250  $\mu\text{g/mL}$  sehingga digolongkan dalam tingkat aktivitas sedang. Jika dibandingkan antara

nilai  $IC_{50}$  vitamin C dan ekstrak maka nilai  $IC_{50}$  vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak. Hal tersebut dikarenakan vitamin C merupakan zat atau senyawa tunggal sedangkan pada ekstrak masih gabungan antara komponen-komponen senyawa metabolit sekunder.

Berdasarkan hasil uji antioksidan yang telah dilakukan dibandingkan dengan penelitian oleh Jamkhane *et al.* (2016) [5]. Dimana, nilai  $IC_{50}$  pada kedua ekstrak tergolong sedang tetapi juga berpotensi sebagai antioksidan. Sedangkan pada penelitian Jamkhane *et al.* (2016) [5] nilai  $IC_{50}$  tergolong kuat. Perbedaan golongan nilai  $IC_{50}$  disebabkan oleh bagian tumbuhan sampel yang digunakan.

Berdasarkan hasil analisis fitokimia, diduga golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dalam ekstrak adalah senyawa flavonoid dan fenolik. Menurut Rahmadani (2021) [27], senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen. Ion hidrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki elektron, sehingga dalam elektron radikal yang terdapat pada atom nitrogen dalam senyawa DPPH berikatan dengan ion hidrogen dan menghasilkan DPPH yang tereduksi [27]. Sedangkan senyawa fenolik diduga berperan dalam memberikan aktivitas

antioksidan dengan mekanisme sekunder, yakni sebagai penangkap radikal bebas [28].

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa: Senyawa metabolit sekunder ekstrak pelarut yang terkandung di dalam kulit batang tumbuhan *Annona reticulata* L. di Kabupaten TTU adalah senyawa triterpenoid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Aktivitas antioksidan pada kedua ekstrak baik etil asetat maupun metanol tergolong sedang dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etil asetat sebesar 177,1325 µg/mL dan metanol sebesar 235,4198 µg/mL.

#### V. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Universitas Timor melalui LPPM yang telah mendukung penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] P. S. W. and D. B. S. Machindra J. Chavana, "Analgesic and anti-inflammatory activities of the sesquiterpene fraction from *Annona reticulata* L. bark," *Nat. Prod. Res.*, Vol. 26, N, pp. 1515–1518, doi: 10.1016/j.sajb.2019.06.006.
- [2] N. M. Obenu, R. E. Y. Adu, and Y. A. A. Bria, "Ekstraksi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Non Polar Kulit Batang Tumbuhan ' At Anonse ' (*Annona reticulata* L.)," *Inovasi Penelitian dan Pembelajaran Kimia dalam Era New Normal*, 2022, pp. 118–125.
- [3] T. Ersam, *KIMIAWI MAKROMOLEKL TUMBUHAN ARTOCARPUS*. Surabaya: ITS PRESS, 2012.
- [4] N. M. Obenu, "Ekstraksi dan Identifikasi Komposisi Metabolit Fraksi Diklorometana dan Aquades Ektrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)," *J. Saintek Lahan Kering*, vol. 2, no. 1, pp. 17–19, 2019, doi: 10.32938/slk.v2i1.717.
- [5] P. G. Jamkhande, A. S. Wattamwar, A. D. Kankudte, P. S. Tidke, and M. G. Kalaskar, "Assessment of *Annona reticulata* Linn. leaves fractions for invitro antioxidative effect and antimicrobial potential against standard human pathogenic strains," *Alexandria J. Med.*, vol. 52, no. 1, pp. 19–25, 2016, doi: 10.1016/j.ajme.2014.12.007.
- [6] K. Zaman and K. Pathak, "Pharmacognostical and Phytochemical Studies of *Annona Reticulata* Linn," *J. Pharmacogn. Phytochem. Pharmacogn.*, vol. 1, no. 5, pp. 477–482, 2013.
- [7] K.-T.-N. Ngbolua *et al.*, "Phytochemistry and Bioactivity of

- Annona reticulata* L. (Annonaceae): A Mini-review,” *South Asian Res. J. Nat. Prod.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–11, 2018, doi: 10.9734/SARJNP/2018/39633.
- [8] R. Bharadwaj, J. Haloi, and S. Medhi, “Topical delivery of methanolic root extract of *Annona reticulata* against skin cancer,” *South African J. Bot.*, vol. 124, pp. 484–493, 2019, doi: 10.1016/j.sajb.2019.06.006.
- [9] C. Akshay, C. Rohankumar, M. Swapnali, D. Srushti, and P. Subhash, “Study of Anthelmintic Potential of Ethanolic Extract of *Annona Reticulata* Linn Leaves,” *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 5, pp. 1352–1360, 2020, doi: 10.20959/wjpps20205-16092.
- [10] N. Obenu and E. Juliyanti Bria, “Ethnobotany Medicinal Plants of Dawan Ethnic in North Central Timor Regency,” *Biotropika J. Trop. Biol.*, vol. 9, no. 3, pp. 246–252, 2021, doi: 10.21776/ub.biotropika.2021.009.03.09 .
- [11] A. N. Kristanti, N. S. Aminah, M. Tanjung, and B. Kurniadi, *BUKU AJAR FITOKIMIA*, I. Surabaya: Airlangga University Press, 2008.
- [12] N. Amaliah, P. Salempa, and M. Muharram, “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Metanol Batang Belajang Susu (*Scindapsus pictus* Hassk.),” *Chem. J. Ilm. Kim. dan Pendidik. Kim.*, vol. 21, no. 1, p. 78, 2020, doi: 10.35580/chemica.v21i1.14841.
- [13] L. Malangngi, M. Sangi, and J. Paendong, “Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.),” *J. MIPA*, vol. 1, no. 1, p. 5, 2012, doi: 10.35799/jm.1.1.2012.423.
- [14] Rahmi, N. Herawati, and I. Dini, “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn),” *J. Chem.*, vol. 17, no. 1, pp. 98–107, 2016.
- [15] A. R. Wahid and S. Safwan, “Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.),” *Lambung Farm. J. Ilmu Kefarmasian*, vol. 1, no. 1, p. 24, 2020, doi: 10.31764/lf.v1i1.1208.
- [16] G. Nogueira da Silva Avelino Oliveira Rocha, L. M. Dutra, V. P. Lorenzo, and J. R. Guedes da Silva Almeida, “Phytochemicals and biological properties of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae): A systematic review from 1971 to 2020,” *Chemico-Biological Interactions*, vol. 336, no.

- January. Elsevier B.V., p. 109390, 2021, doi: 10.1016/j.cbi.2021.109390.
- [17] S. D. Setyorini, “Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang sebagai Respon Cekaman Biotik,” *Iptek Tanam. Pangan*, vol. 11, no. 2, pp. 167–174, 2017.
- [18] A. M. Kopon, A. B. Baunsele, and E. G. Boelan, “Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Asal Pulau Timor,” *Akta Kim. Indones.*, vol. 5, no. 1, p. 43, 2020, doi: 10.12962/j25493736.v5i1.6709.
- [19] Faskalia and M. A. Wibowo, “Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas, Antioksidan Dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol Pada Akar Dan Kulit Batang Soma (*Ploiarium alternifolium*),” *Jkk*, vol. 3, no. 3, pp. 1–6, 2014.
- [20] S. Bettuzzi, M. Brausi, F. Rizzi, G. Castagnetti, G. Peracchia, and A. Corti, “Chemoprevention of human prostate cancer by oral administration of green tea catechins in volunteers with high-grade prostate intraepithelial neoplasia: A preliminary report from a one-year proof-of-principle study,” *Cancer Res.*, vol. 66, no. 2, pp. 1234–1240, 2006, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1145.
- [21] A. F. Hafid, N. Puliansari, N. S. Lestari, L. Tumewu, A. Rahman, and A. Widyawaruyanti, “Skrining Aktivitas Antimalaria Beberapa Tanaman Indonesia Hasil Eksplorasi Dari Hutan Raya Cangar, Batu-Malang, Jawa Timur,” *J. Farm. Dan Ilmu Kefarmasian Indones.*, vol. 3, no. 1, p. 7, 2017, doi: 10.20473/jfiki.v3i12016.7-11.
- [22] R. Y. Kurang and B. Adang, “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrylhidrazyl (DPPH),” *PARTNER*, vol. 23, no. 1, p. 567, 2018, doi: 10.35726/jp.v23i1.299.
- [23] F. R. Mondong, “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb),” *J. MIPA*, vol. 4, no. 1, p. 81, 2015, doi: 10.35799/jm.4.1.2015.6910.
- [24] P. Molyneux, “Molineux 07-DPPH,” *Songklanakar J. Sci. Technol*, vol. 26, pp. 211–219, 2004.
- [25] R. Mutiara, M. J. Djangi, and N. Herawati, “Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*),” *J. Chem.*, vol. 17, no. 2,

- pp. 52–62, 2016.
- [26] P. A. Nasution, R. Batubara, and Surjanto, “Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat Terhadap Teh Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi,” *Peronema - For. Sci. Journal.*, vol. 4, no. 1, pp. 10–18, 2015.
- [27] D. dan N. Rahmadani, “Potensi Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi N-Heksana Terhadap Penangkapan Radikal Bebas Potential Antioxidants Of Ethlacetate Fraction And N-Hexana Fraction Of Ethanol Extract Of Java Acid Fruit (*Tamarindus Indica* L.) On Free Radical Capture Prog,” *Farmasainkes*, vol. 1, no. 1, pp. 28–37, 2021.
- [28] W. Budilaksono, S. Wahdaningsih, and A. Fahrurroji, “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil),” *J. Mhs. Farm. Fak. Kedokt. UNTAN*, vol. 1, no. 1, pp. 1–11, 2014.