

Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode DPPH

Fika Seta Rikantara^{a,1*}, Marsah Rahmawati Utami^{a,2}, Ahsanal Kasasiah^{a,3}

^aUniversitas Singaperbangsa Karawang, Teluk jambe timur, Karawang, 41361

¹fika.setra18045@student.unsika.ac.id*; ²marsah.Rahmawati@fikes.unsika.ac.id ; ³ahsanal.kasasiah@fkes.unsika.ac.id

*fika.setra18045@student.unsika.ac.id

INFO ARTIKEL

Diterima :

23-05-2022

Direvisi :

31-05-2022

Disetujui :

01-06-2022

Kata kunci:

Antioksidan;

Daun Sirsak ;

Daun Pepaya;

DPPH;

Spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRAK

Pada era modern ini pola hidup masyarakat telah mengalami perubahan yang berdampak buruk pada kesehatan, selain itu kondisi lingkungan yang memburuk seperti banyaknya polusi juga akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas dapat dicegah oleh senyawa antioksidan. Salah satu sumber antioksidan alami yaitu sirsak (*Annona muricata* L.) dan pepaya (*Carica papaya* L.). Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan nilai aktivitas antioksidan kombinasi daun sirsak dan daun pepaya. Sampel daun sirsak dan daun pepaya dikombinasi dengan variasi perbandingan ((1:0) (0:1) (1:1) (1:2) dan (2:1)) dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/mL sedangkan vitamin C sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Tiap seri konsentrasi ditambahkan DPPH 40 ppm dan diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC₅₀ yang didapatkan untuk ekstrak daun sirsak (1:0) sebesar 11,484 µg/mL, nilai IC₅₀ ekstrak daun pepaya (0:1) sebesar 53,668 µg/mL, nilai kombinasi ekstrak daun sirsak (1:1) ekstrak daun pepaya sebesar 25,666 µg/mL, nilai IC₅₀ kombinasi ekstrak daun sirsak (1:2) ekstrak daun pepaya sebesar 50,305 µg/mL, dan nilai IC₅₀ kombinasi ekstrak daun sirsak (2:1) ekstrak daun pepaya sebesar 16,552 µg/mL sedangkan nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 3,365 µg/mL. Hasil penelitian untuk seri kombinasi meningkatkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun pepaya namun akan menurunkan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak.

Key word:

Antioxidant;;

Soursop leaves;

Papaya leaves;

DPPH;

Spectrophotometry UV-

Vis.

ABSTRACT

In this modern era, people's lifestyles have undergone changes that have a negative impact on health, in addition to deteriorating environmental conditions such as the amount of pollution will also cause the formation of free radicals. Free radicals can be prevented by antioxidant compounds. One of the sources of natural antioxidants are soursop (*Annona muricata* L.) and papaya (*Carica papaya* L.). This study was conducted to obtain the value of the antioxidant activity of the combination of soursop leaves and papaya leaves. Soursop leaf and papaya leaf samples were combined with various comparisons ((1:0) (0:1) (1:1) (1:2) and (2:1)) with concentrations of 20, 40, 60, 80 and 100 µg/mL while vitamin C as a comparison was made with concentrations of 2, 4, 6, 8, and 10 µg/mL. Each concentration series was added with 40 µg/mL DPPH and incubated for 30 minutes, then the absorbance was measured using Visible Spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The IC₅₀ value obtained for soursop leaf extract (1:0) was 11,484 g/mL, the IC₅₀ value of papaya leaf extract (0:1) was 53,668 g/mL, the combination value of soursop leaf extract (1:1) papaya leaf extract was 25,666 µg/mL, the IC₅₀ value of the combination of soursop leaf extract (1:2) extract papaya leaves of

50,305 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the IC_{50} value of the combination of soursop leaf extract (2:1) ext. papaya leaf shelf is 16,552 $\mu\text{g}/\text{mL}$ while the IC_{50} value of vitamin C is 3,365 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The results for the combination series increased the antioxidant activity of the ethanol extract of papaya leaves but decreased the antioxidant activity of the soursop leaf extract.

This is an open access article under the CC-BY-SA license.



Pendahuluan

Pada era modern ini pola hidup masyarakat telah mengalami perubahan yang berdampak buruk pada kesehatan, seperti mengkonsumsi makanan *junk food*, kurangnya olahraga, istirahat yang tidak teratur, kebiasaan merokok dan minum minuman beralkohol. Selain itu kondisi lingkungan yang memburuk seperti banyaknya polusi juga akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Arnanda & Nuwarda, 2019).

Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti kanker (Phaniendra, et al., 2015). Kanker merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Badan kesehatan dunia WHO (*World Health Organization*) menyebutkan kanker sebagai salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia (Kemenkes RI, 2019).

Data dari GLOBOCAN (*Global Burden of Cancer*) yang dirilis oleh WHO (*World Health Organization*) menyebutkan bahwa jumlah kasus dan kematian akibat kanker sampai dengan tahun 2018 sebesar 18,1 juta kasus dan 9,6 juta kematian di tahun 2018. Kematian akibat kanker diperkirakan akan terus meningkat hingga lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030 (Kemenkes RI, 2019).

Perkembangan penyakit kanker yang terjadi akibat akumulasi radikal bebas dapat dicegah oleh senyawa antioksidan. Antioksidan membantu menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dengan mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh (Rahmi, 2017).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan sintetik semakin berkurang karena dapat

menimbulkan akibat negatif pada kesehatan (kerusakan hati) dan dapat menimbulkan zat karsinogen sehingga penggunaannya digantikan oleh antioksidan alami (Surya, 2017). Antioksidan alami adalah senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan alam (Ramadhan & Sudarsono, 2013).

Antioksidan alami dimungkinkan dapat menghasilkan potensi aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika digunakan secara kombinasi (Lingga, 2012). Beberapa sumber tanaman yang mengandung antioksidan dan telah diuji aktivitas antioksidannya adalah daun sirsak dan daun pepaya. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung acetogenins yang dapat digunakan untuk melawan sel kanker dengan menghambat ATP (*adenosina trifosfat*) yang memberi energi pada sel kanker (Widyaningrum & Herlina, 2012). Daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung acetogenins sebagai zat antikanker dan juga mengandung sitokinin yang bermanfaat memperkuat sistem kekebalan tubuh manusia untuk melawan sel kanker (Mardiana, 2012).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Naspiah, Masruhim dan Fitriani (2013) mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 7,65 ppm, 15,3 ppm, 22,95 ppm, 30,6 ppm, 38,25 ppm diperoleh nilai IC_{50} berada dibawah 50 ppm, yaitu 23,6 ppm, dimana nilai IC_{50} dibawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Bulla, Cunha, dan Nitbani (2020) mengenai uji aktivitas antioksidasi senyawa alkaloid daun pepaya dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm diperoleh nilai IC_{50} berada dibawah 50 ppm, yaitu 34 ppm dan 10,4 ppm, dimana nilai IC_{50} dibawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan tanaman yaitu dengan menggunakan metode radikal bebas DPPH. Tujuan metode ini adalah sebagai

parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan efek 50% (IC_{50}). Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat, ketika elektron menjadi berpasangan, absorbansi akan menurun. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Rahmi, 2017).

Berdasarkan permasalahan di atas penulis melakukan penelitian dengan judul "Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode DPPH". Keduanya tanaman ini sama-sama memiliki aktivitas sebagai antioksidan, yang diharapkan dapat menjadi sumber informasi baru yang efektif digunakan untuk menangkal radikal dengan kombinasi kedua ekstrak tersebut.

Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kantong plastik, plastik klip, gunting, mortir, stamper, alat tuis, toples kaca, penggaris, neraca analitik (OHAUS), tabung reaksi (IWAKI), rak tabung reaksi, labu ukur (OHAUS), oven, pengaduk kaca, spatula, corong kaca, gelas ukur (OHAUS), gelas kimia (DURAN), kuvet, cawan uap, *rotary vacuum evaporator* (BUCHI), spektrofotometer UV-Vis, vortex (Thermo Scientific).

Bahan-bahan penelitian yang digunakan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang berasal dari Desa Cipeundeuy, Kecamatan Cipeundeuy, Kabupaten Subang, Provinsi Jawa Barat. Sampel diambil secara purposif yaitu tanpa membandingkan tanaman yang sama dengan daerah lain. DPPH (Himedia), Vitamin C (asam askorbat) (Merck), etanol 70% (Brataco), aquadest (Brataco).

Jalannya Penelitian

Pengambilan dan Pengumpulan sampel

Proses penyiapan sampel merujuk pada penelitian Haeria (2013). Dimana sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diambil dari daerah Desa Cipeundeuy, Kecamatan Cipeundeuy, Kabupaten Subang, Provinsi Jawa Barat.

Proses Pengolahan Sampel

Penyiapan sampel

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diambil dilakukan sortasi basah terhadap kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing yang terbawa pada saat daun dikumpulkan seperti tanah, kerikil, dan rumput, sehingga dapat mengurangi pengotor yang terbawa dalam bahan uji. Setelah dicuci daun tersebut dikeringkan dijemur menggunakan sinar matahari sampai kering, kemudian simplisia yang sudah dikeringkan dihaluskan sampai menjadi serbuk dan siap dibuat ekstrak.

Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel mengacu pada proses penelitian Susanty dan Bachmid F. (2016). Serbuk simplisia daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh masing-masing ditimbang sebanyak 200 g. Masing-masing serbuk simplisia yang telah ditimbang kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Masukkan masing masing serbuk simplisia ke dalam maserator, kemudian ditambah pelarut etanol 70% sebanyak 600 mL lalu diaduk hingga semua serbuk terbasahi dan dibiarkan selama 1 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Larutan ekstrak disaring menggunakan corong *buchner*, residu yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak tiga kali dengan pelarut dan perlakuan yang sama.

Evaporasi sampel

Larutan ekstrak yang didapatkan dari hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan dipasangkan kedalam alat rotary vacuum evaporator. Ditambahkan dengan air suling pada wadah air hingga batas yang telah ditentukan. Disaat yang sama dinyalakan pompa vakum serta mengatur alat rotary vacuum evaporator pada suhu 47°C, tekanan 20 Psi dengan putaran 150 rpm. Proses evaporasi sampel dihentikan pada saat mulai terlihat batas garis tebal pada dasar labu dan larutan sudah dalam keadaan kental berwarna kecoklatan. Larutan ekstrak dipanaskan dalam waterbath sehingga dapat diperoleh ekstrak pekat daun sirsak dan daun pepaya. Proses selanjutnya dengan menimbang ekstrak pekat yang didapatkan.

Penentuan Karakterisasi

Penentuan Karakterisasi Penentuan hasil karakterisasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica*

papaya L.) meliputi rendemen, bentuk, warna, bau dan rasa.

Pembuatan Larutan DPPH 40 µg/mL

Serbuk DPPH Sebanyak 10 mg ditimbang, dimasukkan ke dalam labu 100 mL kemudian dilarutkan dalam Etanol p.a hingga volume 100 mL (100 µg/mL). Larutan DPPH (konsentrasi 100 µg/mL) dipipet sebanyak 10 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL, dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sampai garis tanda (konsentrasi 40 µg/mL) (Sinala dan Dewi, 2019).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pembuatan dan pengukuran kurva baku (blanko)
Memipet sebanyak 2 mL larutan DPPH 40 ppm lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL etanol 96% kemudian dikocok hingga homogen, diinkubasi kisran ± 30 menit, selanjutnya diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang rentang 400 nm – 800 nm. Hasil yang didapatkan akan diperoleh panjang gelombang maksimum dan nilai absorbansi larutan standar DPPH 40 ppm (Sinala dan Dewi, 2019 ; Nurisyah, et. al, 2020).

Pembuatan dan pengukuran larutan pembanding vitamin C

Sebanyak 2,5 mg vitamin C ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 25 mL dengan etanol 96%, lalu volumenya dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda (konsentrasi 100 ppm). Larutan induk baku vitamin C dipipet sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL dan 2,5 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL (untuk mendapatkan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Tiap-tiap larutan dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditutupi dengan aluminium foil dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 40 ppm. Larutan diinkubasi selama ±30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Salim, 2018 ; Sinala dan Dewi, 2019).

Pembuatan dan pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

Sebanyak 25 mg sampel ditimbang kemudian masing-masing dilarutkan dalam labu tentukur 25 mL dengan metanol, lalu volumenya dicukupkan dengan etanol p.a sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm). Pembuatan larutan uji tunggal ekstrak daun sirsak dan ekstrak pepaya.

Larutan induk baku ekstrak dipipet sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL (untuk mendapatkan konsentrasi campuran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm), kemudian ambil 2 ml dari masing-masing konsentrasi, lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH 40 ppm. Pembuatan larutan uji kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan perbandingan 1:1. Larutan induk baku masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL, 1,25 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL (untuk mendapatkan konsentrasi campuran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm), lalu volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai garis tanda dan dihomogenkan, kemudian ambil 2 ml dari masing-masing konsentrasi, lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH 40 ppm. Pembuatan larutan uji kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan perbandingan 1:2 dan 2:1.

Larutan induk baku kedua ekstrak dipipet masing-masing sebanyak 0,17:0,33 mL, 0,33:0,67 mL, 0,5:1 mL, 0,67:1,33 mL, 0,83:1,67 mL untuk larutan uji dengan perbandingan 1:2 dan dipipet masing-masing sebanyak 0,33:0,17 mL, 0,67:0,33 mL, 1:0,5 mL, 1,33:0,67 mL, 1,67:0,83 mL untuk larutan uji dengan perbandingan 2:1. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL (untuk mendapatkan konsentrasi campuran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm), lalu volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai garis tanda dan dihomogenkan, kemudian ambil 2 ml dari masing-masing konsentrasi, lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH 40 ppm. Setelah itu larutan dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit.

Analisis Data

Perhitungan rendemen (Susanty dan Bachmid F., 2016):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Besarnya aktivitas antioksidan menurut Sayuti dan Yenrina (2015), dihitung dengan menggunakan rumus.

$$\% \text{Aktivitas DPPH} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya

(sumbu Y). Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoleh harga IC_{50} yaitu konsentrasi bahan uji yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal DPPH selama 30 menit.

Analisis Efektivitas Kombinasi Ekstrak Data dari hasil pengukuran menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis dianalisis menggunakan perangkat lunak CompuSyn untuk menentukan nilai Combination Index (CI) yang digunakan sebagai parameter interaksi kombinasi antar kedua ekstrak pada rentang sinergis sampai dengan antagonis, dimana data yang dimaksudkan adalah konsentrasi sebagai dosis dan absorbansi sebagai efek pada perangkat lunak CompuSyn (Chou, 2006)

Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi maserasi dan karakterisasi

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi. Penggunaan metode maserasi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat pada sampel (daun sirsak dan daun pepaya) dengan pelarut etanol 70%. Ekstraksi maserasi terjadi proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi rendah akan terdesak keluar. Pelarut etanol 70% yang memiliki konsentrasi lebih tinggi akan masuk ke dalam inti sel daun sirsak dan daun pepaya melewati dinding sel sehingga dinding sel dan membran sel terpecah. Hal ini mengakibatkan metabolit sekunder dalam sitoplasma yang ada di dalam sel akan keluar dan terlarut dalam pelarut etanol 70 % sehingga konsentrasi larutan di dalam sel lebih tinggi dari pada di luar sel dan terjadi proses difusi (Suriyawati, 2018).

Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang banyak digunakan dan paling sederhana dibandingkan metode yang lain, hanya merendam sampel dalam pelarut yang sesuai. Sampel dibuat dalam serbuk dalam tujuan memperluas bidang sentuhan antara etanol dan serbuk simplisia, maka penyaringan akan lebih efektif (Suriyawati, 2018)

Ekstraksi dilakukan 3 kali pengulangan setiap 24 jam sekali untuk mendapatkan ekstrak yang lebih banyak. Proses penyaringan menggunakan corong *buchner* sehingga didapat residu dan filtrat. Filtrat hasil penyaringan dipisahkan dengan menggunakan *rotary vacuum*

evaporator. Prinsip *rotary vacuum evaporator* yaitu proses pemisahan antara senyawa dan pelarutnya dengan adanya pemanasan dan penurunan tekanan pada sistem sehingga pelarut dapat menguap pada suhu yang lebih rendah titik didihnya. Hasil karakterisasi dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) didapatkan berupa rendemen sebesar 11,43% berbentuk ekstrak pekat, berwarna hijau kehitaman, berbau khas dan rasa pahit. dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan berupa rendemen sebesar 9,688% berbentuk ekstrak pekat, berwarna coklat kehitaman, berbau khas dan rasa pahit. Hasil karakterisasi ekstrak pekat daun sirsak dan daun pepaya ditunjukkan pada Tabel 1, Tabel 2 dan Tabel 3

Tabel 1. Nilai rendemen hasil ekstraksi maserasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

Sampel	Bobot sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
Daun Sirsak	200	22,869	11,434%
Daun Pepaya	200	19,377	9,688%

Tabel 2. Hasil karakteristik ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

No	Spesifikasi	Deskripsi
1	Rendemen%	11,434%
2	Bentuk	Ekstrak Pekat
3	Warna	Hijau kehitaman
4	Bau	Khas
5	Rasa	Pahit

Tabel 3. Hasil karakteristik ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

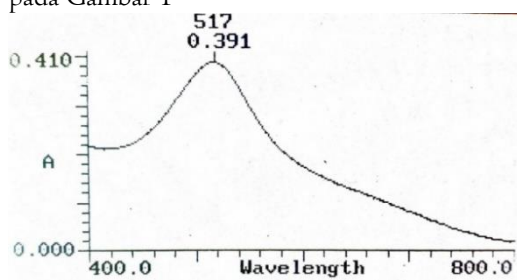
No	Spesifikasi	Deskripsi
1	Rendemen%	9,688%
2	Bentuk	Ekstrak Pekat
3	Warna	Coklat kehitaman
4	Bau	Khas
5	Rasa	Pahit

Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH (blanko)

Penentuan aktivitas antioksidan berfungsi untuk mengetahui panjang gelombang (λ) yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan, pada panjang gelombang maksimum agar kepekaanya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan. Selain itu, panjang

gelombang maksimum untuk perubahan setiap satuan konsentrasi memiliki serapan yang paling besar, bentuk kurva absorpsi datar dan memenuhi hukum Lambert-beer. Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm (Lailah, 2014).

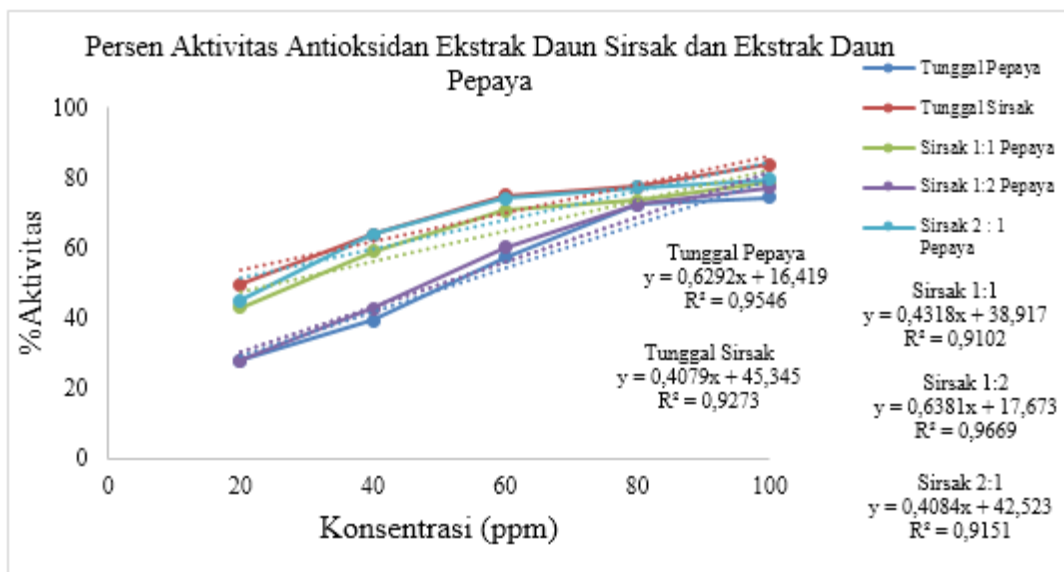
Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 µg/mL dalam etanol p.a dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa larutan DPPH dalam etanol p.a menghasilkan serapan maksimum sebesar 0,391 pada panjang gelombang 517 nm. Data hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH 40 µg/mL dalam etanol p.a dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Spektrum Serapan DPPH 40 ppm

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*)

Pengujian antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 517 nm selama waktu kestabilan dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Prinsip metode ini adalah senyawa DPPH yang tidak bereaksi dengan antioksidan (sisa) akan terbaca sebagai nilai absorpsi pada panjang gelombang sinar tampak 517 nm dalam pelarut yaitu etanol p.a dan dapat dilihat secara fisik melalui perubahan warna dari ungu menjadi ungu muda, merah muda atau kuning muda. Larutan kontrol DPPH digunakan pada pengukuran potensi antioksidan sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel (Fajriyatus, 2017). Selain itu, larutan kontrol berfungsi untuk mengetahui absorpsi radikal DPPH yang tidak direduksi oleh sampel. Semakin besar selisih absorpsi, maka semakin besar aktivitas antioksidan sampel. Hasil Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya sebagaimana terlihat pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak ekstrak tunggal dan kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*)

Larutan DPPH setelah ditambah dengan masing-masing kombinasi ekstrak dan diinkubasi selama 30 menit mengalami perubahan warna, yaitu dari ungu menjadi ungu muda dan kuning muda. Perubahan warna yang terjadi dari ungu tua menjadi ungu muda menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada senyawa uji. Semakin

banyak senyawa DPPH yang terstabilkan oleh senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel maka akan semakin rendah intensitas warnanya atau memudar sehingga nilai absorbansinya juga semakin kecil, jika absorpsi rendah maka nilai %aktivitas semakin tinggi (Mabruroh, 2011). Berdasarkan Gambar 2

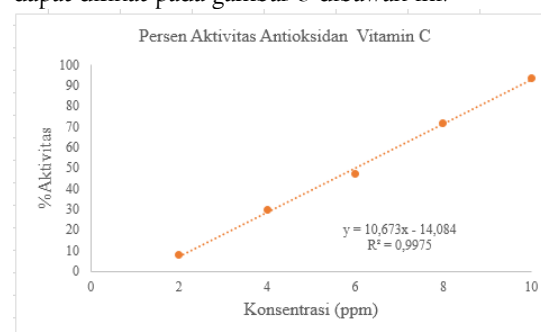
menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin besar kemampuan sampel dalam menangkal radikal bebas. Hal ini sesuai yang diutarakan Rahayu dan Facriyah (2010) semakin banyak atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa metabolit sekunder pada senyawa DPPH maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH.

Perbandingan variasi formulasi daun sirsak dan daun pepaya memberikan pengaruh signifikan pada aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan adanya jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda dan berdasarkan Gambar 2 ekstrak daun sirsak memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dari pada ekstrak daun pepaya yang ditentukan dengan nilai IC_{50} . Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Naspiah, Masruhim dan Fitriani (2013) mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 7,65 ppm, 15,3 ppm, 22,95 ppm, 30,6 ppm, 38,25 ppm diperoleh nilai IC_{50} berada dibawah 50 ppm, yaitu 23,6 ppm, dan penelitian yang dilakukan oleh Bulla, Cunha, dan Nitbani (2020) mengenai uji aktivitas antioksidasi senyawa alkaloid daun pepaya dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm diperoleh nilai IC_{50} berada dibawah 50 ppm, yaitu 34 ppm. Sehingga kombinasi ekstrak dengan formulasi daun sirsak lebih banyak, memberikan aktivitas antioksidan yang kuat sedangkan kombinasi ekstrak dengan formulasi daun sirsak dan daun pepaya sama atau lebih banyak mengandung daun pepaya cenderung memberikan aktivitas antioksidan yang lebih lemah. Hasil persen aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan dalam sampel yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkal radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka akan semakin tinggi nilai aktivitas (Widyasanti, Rohdiana, dan Ekatama 2016)

Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C

Vitamin C yang lebih dikenal dengan nama asam askorbat adalah suatu nutrien yang sangat penting untuk kehidupan, untuk menjaga kesehatan dan memiliki peranan penting dalam menangkal berbagai penyakit serta vitamin yang larut dalam air. Vitamin C juga merupakan antioksidan terlarut air paling dikenal yang sangat efektif dalam menangkal

radikal bebas dan aktif dalam proses Reactive Oxygen Species (ROS) (Ameliya, et. al., 2018). Vitamin C mempunyai peran sebagai senyawa antioksidan alami dengan aktivitas terlarut dalam air tinggi, tetapi karena sifatnya hidrofilik sehingga efektivitas dalam menstabilkan lemak dan minyak berkurang (Wijayati, et. al., 2016). Dalam penelitian ini, vitamin C digunakan sebagai larutan perbandingan untuk aktivitas antioksidan dengan beberapa variasi konsentrasi yakni 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Aktivitas antioksidan vitamin C dari vitamin C dapat dilihat pada gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3. Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Hasil ini memperlihatkan bahwa semakin kecil konsentrasi vitamin C maka semakin kecil pula persen aktivitas antioksidan yang didapatkan. Tetapi ketika nilai suatu aktivitas antioksidan yang semakin besar dengan konsentrasi yang besar pula maka komponen partikel vitamin C yang dibutuhkan dalam mengoksidasi DPPH sebagai radikal bebas semakin banyak.

Perhitungan IC_{50} ekstrak ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan Vitamin C

Salah satu parameter yang telah diperkenalkan baru-baru ini untuk interpretasi hasil dari metode DPPH adalah nilai IC_{50} . IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang menyebabkan hilangnya 50% dari aktivitas DPPH (warna) (Molyneux, 2004)

Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH, dengan konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/mL}$) sebagai absis dan nilai persen peredaman sebagai ordinat.

Tabel 4 Hasil persamaan regresi linier dan nilai IC₅₀ dari ekstrak daun sirsak tunggal dan ekstrak daun pepaya tunggal beserta kombinasinya (1:1; 1:2; 2:1) dan pembanding

Larutan uji	IC ₅₀ (µg/mL)	Kategori
Ekstrak tunggal daun sirsak	11,484	Sangat Kuat
Ekstrak tunggal daun pepaya	53,668	Kuat
Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Ekstrak Daun Pepaya (1:1)	25,666	Sangat Kuat
Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Ekstrak Daun Pepaya (1:2)	50,305	Kuat
Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Ekstrak Daun Pepaya (2:1)	18,308	Sangat Kuat
Vitamin C	3,365	Sangat Kuat

Tabel 5. Tingkat kekuatan antioksidan

No	Kategori	Konsentrasi (ppm)
1	Sangat Kuat	<50
2	Kuat	50-100
3	Sedang	100-250
4	Lemah	250-500
5	Tidak Aktif	>500

(Sing, *et al.*, 2017)

Hasil pada Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak tunggal, kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya (1:1; 1:2; 2:1) dan pembanding memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda satu dengan yang lain. Ekstrak daun sirsak tunggal memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 11,484 µg/mL, ekstrak tunggal daun pepaya memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 53,668 µg/mL, kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan perbandingan 1:1 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 25,666 µg/mL, kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 50,305 µg/mL, kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan perbandingan 2:1 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 16,552 µg/mL dan Vitamin C memiliki aktivitas

antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,365 µg/mL. Perbedaan nilai IC₅₀ pada masing-masing ekstrak etanol ataupun kombinasi ekstrak etanol disebabkan oleh adanya distribusi jenis dan jumlah senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan (Huliselan *et al.*, 2015).

Hasil Analisis Efektivitas Kombinasi Ekstrak

Nilai Combination Index (CI) adalah ukuran kuantitatif dari tingkat interaksi obat dalam rentang sinergis dan antagonis untuk menentukan titik akhir efek pengukuran tertentu, dimana nilai CI < 1, = 1, > 1 mengindikasikan efek sinergis, aditif dan antagonis (Chou, 2006). Data dari aplikasi *CompuSyn* diperoleh dengan mensubstitusikan data hasil pengukuran DPPH dan kombinasi ekstrak dengan alat spektrofotometri, yang dimaksudkan konsentrasi sebagai dosis dan absorbansi sebagai efek sehingga didapat nilai CI. Nilai Combination Index (CI) dari kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 yang dianalisis menggunakan perangkat lunak *CompuSyn* dapat dilihat pada Tabel 6

Table 6. Nilai Combination Index (CI) menggunakan perangkat lunak CompuSyn

EDS : EDP	Nilai CI	Deskripsi
1:1	0,95	Aditif
1:2	1,13	Sedikit antagonis
2:1	0,830	Sinergis menengah

Keterangan:

EDS : Ekstrak Daun Sirsak

EDP : Ekstrak Daun Pepaya

CI : Combination Index

Tabel 7. Tabel deskripsi efektifitas kualitatif berdasarkan rentang nilai Combination index (CI)

Rentang Nilai Kombinasi	Indeks Deskripsi	Simbol
<0,10	Sinergis sangat kuat	+++++
0,10-0,30	Sinergis kuat	++++
0,30-0,70	Sinergis	+++
0,70-0,85	Sinergis menengah	++
0,85-0,90	Sedikit Sinergis	+

Tabel 7. Tabel deskripsi efektifitas kualitatif berdasarkan rentang nilai Combination index (CI)

0,90-1,10	Aditif	±
1,10-1,20	Sedikit antagonis	-
1,20-1,45	Antagonis menengah	--
1,45-3,30	Antagonis	---
3,30-10,	Antagonis kuat	----
>10	Antagonis sangat kuat	-----

(Chou, 2006)

Kombinasi EDS dan EDP berdasarkan Tabel 6, dapat dilihat bahwa kombinasi EDS dan EDP dengan perbandingan 1:1 menghasilkan nilai CI sebesar 0,95, kombinasi EDS dan EDP dengan perbandingan 1:2 menghasilkan nilai CI sebesar 1,13 dan kombinasi EDS dan EDP dengan perbandingan 2:1 menghasilkan nilai CI sebesar 0,830. Berdasarkan hasil analisis dengan aplikasi CompuSyn diketahui bahwa kombinasi EDS dan EDP dengan perbandingan (2:1) memberikan efek sinergis menengah. Sinergisme adalah efek kooperatif antioksidan atau antioksidan dengan senyawa lainnya untuk menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan dari jumlah masing-masing aktivitas antioksidan. Pada kombinasi EDS dan EDP (1:2) memberikan efek sedikit antagonis, pengaruh sedikit antagonis yang berarti memberikan efek penurunan terhadap aktivitas antioksidannya dalam meredam radikal bebas DPPH sedangkan pada kombinasi EDS dan EDP (1:1) memberikan efek aditif bila dikombinasikan yang berarti penggunaan kedua ekstrak tersebut secara bersamaan dengan perbandingan 1:1 memiliki pengaruh peningkatan aktivitas antioksidannya dari salah satu atau kedua ekstrak yang dikombinasikan (Hidayat, et. al., 2014).

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun Pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ perbandingan (1:1) sebesar 25.639 µg/mL, (1:2) sebesar 50.661 µg/mL dan (2:1) sebesar 16.561 µg/mL. Seri kombinasi (2:1) ekstrak etanol daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun Pepaya (*Carica papaya* L.) meningkatkan aktivitas

antioksidan dari ekstrak etanol daun Pepaya namun akan menurunkan aktivitas antioksidan ekstrak daun Sirsak.

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun pepaya dengan pelarut yang bervariasi serta metode ekstraksi yang bervariasi untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak tersebut.

Daftar Pustaka

- Ameliya, R., Nazaruddin, Handito D. (2018). Pengaruh Lama Pemanasan Terhadap Vitamin C, Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Sirup Kersen (*Muntingia calabura* L.). Pro Food Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 4(1), 289-297.
- Arnanda and Nuwarda (2019). Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. Farmaka 17(2) 236-243
- Bulla, Cunha, and Nitbani (2020). Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Kultivar Lokal. Chem. Notes 2020, 1(1), 58-68.
- Chou, T. C. (2006). Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. Pharmacol Rev. Vol. 58(3) : Hal. 621-681.
- Fajriyatus S, D. 2017. Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rimpang kunyit putih (*Curcuma longa* L.) dan (*Lophatherum gracile* B.) menggunakan metode DPPH serta identifikasi golongan senyawa aktifnya. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Haeria. (2013). Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Griff). JF FIK UINAM, 1(1), 1-9.
- Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T. H., dan Yonathan, K. A. (2014). Aktivitas Antioksidan dan Antitrigliserida Ekstrak Tunggal Kedelai, Daun Jati Belanda serta Kombinasinya. Bionatura-Jurnal Ilmu-

- ilmu Hayati dan Fisik. Vol. 16 (2) : Hal. 89-94.
- Huliselan, Y., dan Defny S.W. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etilasetat, dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron Squamatum Vahl*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi* 2015;4(3):155-163.
- Kementerian Kesehatan RI. (2019). *Beban kanker di Indonesia*. Jakarta : Kemenkes RI.
- Lailah, N., 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat. Skripsi. Malang : UIN Malang
- Mabruroh, I.A. 2011 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) dan Identifikasinya. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Mardiana L. (2012). *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Cetakan Pertama. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radicals Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
- Naspiah, Nisa, Muhammad Amir Masruim, & Victoria Yulita Fitriani., (2013). Uji Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Mucrita Linn*) Terhadap DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Indonesian Journal of Applied Sciences* 3(2): 62–65.
- Nurisyah, Asyikin, A., Cartika, H. (2020). Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etil Asetat Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Yang Ditetapkan Dengan Metode DPPH. *Media Farmasi*, XVI(2), 215-221. DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v16i2.1818>
- Phaniendra, A., D. B. Jestadi and L. Periyasamy. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30(1), pp. 11-26.
- Rahmi, H., (2017). Review : Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. Vol. 2(1) : Hal.34 – 38
- Ramadhan, E & Sudarsono. (2013). Penangkapan Radikal 2, 2 Dipenil - 1 - Pikril Hidrazil (DPPH) Buah Pepaya (*Carica pepaya L*) Tua Dan Muda. *Jurnal Tradisional Medicine*. Volume 18 (3): Halaman 167 – 172.
- Salim, R. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1- diphenil- 2-picrylhidrazil). *Jurnal Katalisator*. 3(2), 153-161.
- Sayuti, K & Yenrina, R., (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang : Andalas University Press. Hal. 32-38.
- Sinala, S. dan Dewi S.T.R. (2019). Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Dari Ekstrak Etanol Propolis Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Media Farmasi*, XV(1), 91-96. DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.820>.
- Suryawati, N., (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kombinasi kunyit putih (*Curcuma Zedoaria Rosc.*) dan buah pare (*Momordica Charantia L.*) menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil). Skripsi. Malang : Fakultas sains dan teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Susanty dan Bachmid F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal KONVERSI*, 5(2), 87 -93.
- Widyasanti, Rohdiana, and Ekatama (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Fortech I(1)* 1-9.
- Wijayati, N., Rohmah, S.A., Supartono. (2016). Sintesis Ester-C Sebagai Senyawa Antioksidan Menggunakan Biokatalis Enzim Lipase/Zeolit Alam. *Journal Kimia Riset*, 1(1), 7-13.