

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK
(*Annona muricata L.*) SECARA KROMATOGRAFI KOLOM**



**DIYAN MAYA SARI
2443009118**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

2013

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) SECARA KROMATOGRAFI KOLOM** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta. Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

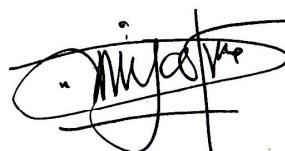
Surabaya, 4 Februari 2013



Diyan Maya Sari
2443009118

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh

Surabaya, 4 Februari 2013



DIYAN MAYA SARI
2443009118

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN
PADA EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*)
SECARA KROMATOGRAFI KOLOM**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi
di Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya

OLEH :
DIYAN MAYA SARI
2443009118

Telah disetujui pada tanggal 4 Februari 2013 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I



Sumi Wijaya, Ph.D., Apt

NIK. 241.03.0558

Pembimbing II



Henry Kurnia S, S.Si., M.Si., Apt

NIK. 241.97.0283

ABSTRAK

Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) secara Kromatografi Kolom

Diyan Maya Sari

2443009118

Telah dilakukan penelitian tentang identifikasi senyawa antioksidan dari daun sirsak (*Annona muricata L.*). Isolasi senyawa dari daun sirsak dilakukan dengan cara perkolasai menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode kolom kromatografi menggunakan variasi eluen yaitu kloroform dan etil asetat dengan berbagai perbandingan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl*). Berdasarkan hasil spektrum UV-vis, dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol mengandung senyawa flavonoid. Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai $0,249 \pm 0,037$ mg/ml. Sedangkan hasil dari fraksi menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya lebih besar dengan nilai $0,142 \pm 0,011$ mg/ml.

Kata kunci : daun sirsak, *Annona muricata*, antioksidan, kromatografi kolom, DPPH.

ABSTRACT

Fractionation and Identification of Antioxidant Compounds in Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves using Column Chromatography

Diyan Maya Sari
2443009118

The study about identification of antioxidant compound from *Annona muricata* leaves (soursop) was carried on. The research was conducted with percolation using ethanol 96% and fractionation by column chromatography method that used various solvents chloroform and ethyl acetate. Antioxidant activity was evaluated with the DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) assay. Based on the ultraviolet spectrum, it was concluded that the ethanol fraction was a flavonoids compound. The result of antioxidant activity assay showed that the ethanol extracts of soursop leaves has a antioxidant activity with IC₅₀ values of $0,249 \pm 0,037$ mg/ml. The result of the fraction that has the best antioxidant activity with IC₅₀ values of $0,142 \pm 0,011$ mg/ml.

Key words : *Annona muricata* leaves, antioxidant, column chromatography, DPPH.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia, hikmat, kasih, dan penyertaanNya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi yang berjudul “Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) pada Kromatografi Kolom” disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat bantuan dan kerjasama dari banyak pihak, baik dari dalam maupun luar universitas. Oleh karena itu penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu, diantaranya:

1. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt., selaku dosen pembimbing I dan Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran-saran dan mengajarkan banyak hal.
2. Dra Monica W. S., M.Sc., Apt., dan Lisa Soegianto M.Si., Apt., selaku tim dosen penguji.
3. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi, beserta seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan selama ini.
4. Lucia Hendriati, S.Si., M.Sc., Apt., selaku wali studi yang telah memberikan bantuan motivasi dan saran-saran selama ini.
5. Ketua laboratorium Formulasi Bahan Alam, Ketua Laboratorium Kimia Klinik dan Biokimia, Ketua Laboratorium Instrumen yang telah

memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan dan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.

6. Seluruh staf Tata Usaha dan Laboran Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah membantu pada proses penelitian ini.
 7. Ayah, Ibu, dan keluargaku yang telah memberikan cinta, semangat, doa dan dukungan baik secara moril, spiritual dan materiil yang tak ternilai harganya.
 8. Aida, Endang, dan Diga selaku teman seperjuangan dalam penggerjaan skripsi hingga skripsi ini selesai.
 9. Seluruh teman-teman angk. 2009 yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam penyelesaian penelitian ini.
- Akhir kata penyusun mengharapkan naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat dan penyusun juga meminta kritik dan saran yang membangun untuk lebih menyempurnakan penulisan skripsi ini.

Surabaya, Februari 2013

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB	
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Rumusan Masalah	4
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Hipotesa Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan tentang Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	6
2.2. Tinjauan tentang Ekstrak	8
2.3. Tinjauan tentang Radikal Bebas	11
2.4. Tinjauan tentang Antioksidan	12
2.5. Tinjauan tentang Flavonoid	14
2.6. Tinjauan tentang Isolasi	16
2.7. Tinjauan tentang Identifikasi Golongan Senyawa	18
2.8. Tinjauan tentang Metode Analisa Daya Antioksidan.	22
3 METODE PENELITIAN	25
3.1. Bahan dan Alat	25
3.2. Metode Penelitian	26

BAB		Halaman
3.3.	Rancangan Penelitian	27
3.4.	Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan	31
3.5.	Penetapan Daya Antioksidan	32
3.6.	Skema Kerja	33
4	HASIL PERCOBAAN DAN BAHASAN	34
4.1.	Hasil Pemeriksaan Tanaman	34
4.2.	Hasil Standarisasi Simplisia	35
4.3.	Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak	37
4.4.	Hasil Standarisasi Ekstrak	37
4.5.	Hasil Penentuan Fase Gerak	38
4.6.	Hasil KLT Ekstrak Etanol	45
4.7.	Hasil Kromatografi Kolom	46
4.8.	Identifikasi Golongan Senyawa	51
4.9.	Hasil Uji Daya Antioksidan dengan DPPH 0,2%	62
5	KESIMPULAN DAN SARAN	68
5.1.	Kesimpulan	68
5.2.	Saran	68
	DAFTAR PUSTAKA	69
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Rentangan serapan spektrum UV-Vis flavonoid	20
2.2. Penafsiran spektrum AlCl ₃	21
3.1. Jenis-jenis eluen yang digunakan	29
4.1. Hasil pemeriksaan organoleptis simplisia.....	35
4.2. Hasil pemeriksaan susut pengeringan dan kadar abu.....	35
4.3. Hasil skrining fitokimia simplisia.....	36
4.4. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun sirsak	37
4.5. Hasil pemeriksaan kadar air dan kadar abu ekstrak etanol daun sirsak	38
4.6. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirsak.....	38
4.7. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : kloroform.....	40
4.8. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : etil asetat	41
4.9. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : etanol	42
4.10. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak kloroform : etil asetat	43
4.11. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak kloroform : etanol	44
4.12. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak etanol : etil asetat	45
4.13. Profil KLT ekstrak etanol daun sirsak pada berbagai fase gerak dengan disemprot DPPH 0,2%	46
4.14. Hasil fraksinasi kromatografi kolom	47
4.15. Profil KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 254 nm.....	77
4.16. Profil KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 366 nm.....	78

Tabel	Halaman
4.17. Hasil uji daya antioksidan fraksi terkumpul dari kromatografi kolom	51
4.18. Hasil skrining fitokimia fraksi terkumpul	52
4.19. Profil KLT fraksi terkumpul dengan berbagai fase gerak pada pengamatan UV 254 nm	53
4.20. Profil KLT fraksi terkumpul dengan berbagai fase gerak pada pengamatan UV 366 nm	54
4.21. Profil KLT fraksi terkumpul pada berbagai fase gerak dengan penampak noda AlCl_3	55
4.22. Profil KLT fraksi terkumpul pada berbagai fase gerak dengan disemprot pereaksi DPPH	56
4.23. Data spektrum UV-Vis senyawa pada ekstrak etanol daun sirsak dengan penambahan pereaksi geser	58
4.24. Data spektrum UV-Vis senyawa pada fraksi no.61 dengan penambahan pereaksi geser.....	60
4.25. Identifikasi puncak spektrum IR	62
4.26. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan (% AA) ekstrak etanol daun sirsak	79
4.27. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan (% AA) quercetin	80
4.28. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan (% AA) Fraksi no.61	81
4.29. Hasil penentuan IC_{50} berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak	64
4.30. Hasil penentuan IC_{50} berbagai konsentrasi quercetin	65
4.31. Hasil penentuan IC_{50} berbagai konsentrasi fraksi no.61	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1.. Tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	7
2.2. Struktur umum DPPH	23
2.3. Reaksi peredaman radikal bebas	23
4.1. Tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	34
4.2. Skrining simplisia.....	36
4.3. Skrining ekstrak etanol daun sirsak	39
4.4. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : kloroform pada UV 254 nm dan UV 366 nm	40
4.5. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : etil asetat pada UV 254 nm dan UV 366 nm	41
4.6. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak heksan : etanol pada UV 254 nm dan UV 366 nm	42
4.7. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak kloroform : etil asetat pada UV 254 nm dan UV 366 nm	43
4.8. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak kloroform : etanol pada UV 254 nm dan UV 366 nm	44
4.9. Hasil pengamatan KLT ekstrak etanol daun sirsak dengan fase gerak etanol : etil asetat pada UV 254 nm dan UV 366 nm	45
4.10. Hasil pemisahan KLT ekstrak etanol daun sirsak pada berbagai fase gerak dengan disemprot DPPH 0,2%	46
4.11. Hasil pemisahan KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 254	48
4.12. Hasil pemisahan KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 366 nm	49

Gambar	Halaman
4.13. Hasil uji daya antioksidan fraksi dengan no.vial 1-61 setelah disemprot DPPH (<i>1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl</i>)..	50
4.14. Skrining fitokimia fraksi-fraksi ekstrak etanol daun sirsak	52
4.15. Hasil pemisahan KLT dari fraksi terkumpul dengan berbagai fase gerak pada pengamatan UV 254 nm	53
4.16. Hasil pemisahan KLT dari fraksi terkumpul dengan berbagai fase gerak pada pengamatan UV 366 nm	54
4.17. Hasil pemisahan KLT dari fraksi terkumpul pada berbagai fase gerak dengan penampak noda AlCl_3	55
4.18. Hasil pemisahan KLT dari fraksi terkumpul pada berbagai fase gerak dengan disemprot pereaksi DPPH	56
4.19. Spektrum UV-Vis ekstrak etanol daun sirsak.....	57
4.20. Spektrum UV-Vis ekstrak etanol daun sirsak dengan pereaksi geser NaOAc	58
4.21. Spektrum UV-Vis fraksi no. 61	59
4.22. Spektrum UV-Vis fraksi no. 61 dengan pereaksi geser AlCl_3	60
4.23. Hasil spektrum Inframerah fraksi no.61	61
4.24. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak dengan persen aktivitas antioksidan	64
4.25. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi querçetin dengan persen aktivitas antioksidan	65
4.26. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi Fraksi no. 61dengan persen aktivitas antioksidan.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Surat Keterangan Determinasi <i>Annona muricata</i> L	73
B Langkah Kerja Skrining Kualitatif secara Fitokimia	74
C Langkah Kerja Alat Multiskan GO (Thermoscientific, Finland)	75
D Perhitungan Rendemen Ekstrak	76
E Profil KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 254 nm	77
F Profil KLT fraksi no.vial 1-61 pada pengamatan UV 366 nm.....	78
G Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH ekstrak etanol daun sirsak	79
H Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH quercetin	80
I Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH fraksi no.61	81
J Tabel korelasi.....	82
K Tabel Index Polaritas	83