

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Golongan metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun sirsak adalah flavonoid.
2. Ditinjau dari harga IC_{50} fraksi etanol ($0,142 \pm 0,011$ mg/ml) memiliki daya antioksidan lebih besar dari ekstrak etanolnya ($0,249 \pm 0,037$ mg/ml).

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan metode pemisahan senyawa antioksidan selain dengan menggunakan kolom kromatografi, misal dengan metode HPLC-preparatif.
2. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan metode penentuan daya antioksidan dari ekstrak dan fraksi-fraksi terpilih selain dengan menggunakan metode DPPH. Hal ini terutama ditujukan bagi senyawa antioksidan lipofilik, dimana penggunaan metode DPPH kurang begitu sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

Adewole, S. O. and Ojewole, J. A. O., 2009. Protective Effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines (AJTCAM)** 6(1), 30-41.

Albuquerque, U., P., Melo, J., G., Rodrigues, M., D., Nascimento, S., C., *et al.*, 2010. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. **Molecules** 15, 8534-8542.

Anonim, 1989. **Materia Medika Indonesia**. Ed. 2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 41-45.

Anonim, 1995. **Farmakope Indonesia**. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 7.

Anonim, 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 3-5, 10-21, 30-37.

Baskar, R., Rajeswari, V., and Kumar, T. S., 2007. *In Vitro* Antioxidant Studies in Leave of *Annona* Species. **Indian Journal of Experimental Biology** 45. 480-485.

Basma, A. Arra, Zuraini Zakaria, Lacimanan Yoga Latha, and Sreenivasan Sasidharan, 2011. Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of The Methanol Extracts of *Euphorbia hirta* L. **Asian Pasific Journal of Tropical Medicine**. 386-390

Cavin, A., Kurt, H., Wahjo, D., and Olivier, P., 1998. Antioxidant and Lipophylic Constituents of *Tinospora crispa*. **Planta Medica** 64. 393-396.

De sousa, O., V., Vieira, G., D., De pinho, J., J., R., G., Yamamoto, C., H., and Alves, M., S., 2010. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. **International Journal of Molecular Sciences** 11. 2067-2078.

Droge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiology Review**. 82. 47-95.

Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S., 1999. **Kimia Organik**. Jilid 2. Penerbit Erlangga, Jakarta.

Gupta, V. K. and Sharma, S. K., 2006. Plants as natural Antioxidants. **Natural Product Radiance** 5(4). 326-334.

Harborne, J. B., 1987. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. terjemahan P. Kosasih dan S. Iwang. Penerbit ITB, Bandung. 13-15.

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., and Williamson, E. M., 2004. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**. London. 109-115.

Hernani dan Rahardjo, M., 2005. **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**. Penebar Swadaya, Depok.

Jones, W. P. and Kinghorn, D., 2006. Extraction of Plant Secondary Metabolites, in: **Natural Product isolation**. Sarker, S. D., Latif, Z., and Gray, A. I., (Eds.), 2th Ed. Humana Press Inc, Totowa. 339-342.

Larson, R. A., 1997. **Naturally Occuring Antioxidants**. Lewis Publisher, Boca Raton, New York. 25-28.

Markham, K. R., 1988. **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**. Penerbit ITB, Bandung. 1-15, 27-30.

Marliana, S. D., Suryanti, V., dan Suyono, 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. **Biofarmasi** 3(1). 26-31.

Mulja, M. dan Suharman, 1995. **Analisis Instrumental**. Edisi 1. Airlangga University Press, Surabaya. 24-30.

Navarro, M. C., Montilla, M. P., Martin, A., Jimenez, J., and Utrilla, M. P., 1993. Free Radical Scavenging and Antihepatotoxic Activity of *Rosmarinus tomentosus*. **Planta Medica** 63(7). 312-314.

Pokorni, J., Yanisljeva, N., and Gordon, M., 2001. **Antioxidant in Food; Practical Applications**. CRC Press, New York.

Reynolds, E. S. and Proctor, P. H., 1984. Free Radicals and Disease in Man. **Physiology Chemistry of Physical Medicine**. 16. 175-95.

Robards, K., Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., and McDonald, S., 2001. Methods for Testing Antioxidant Activity. **The Analyst**. Volume 127. 183-198.

Sarker, S.D., Latif, Z., and Gray, A. I., 2006. **Natural Product Isolation**. 2th Ed. Humana Press Inc, Totowa. 7-20.

Sastrohamidjojo, H., 1991. **Kromatografi**. UGM Press, Yogyakarta.

Sastrohamidjojo, H., 1992. **Spektroskopi Inframerah**. Cetakan Pertama. Penerbit Liberti, Yogyakarta.

Suryohudoyo, P., 2000. **Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler**. CV. Sagung Setyo, Jakarta. 31-47.

Syamsuhidayat, 1991. **Inventaris Tanaman Obat Indonesia**. Jilid 1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 256.

Tandon, V., R., Verma, S., Singh, J., B., and Mahajan, A., 2005. Antioxidant and Cardiovascular Health. **JK Science** Volume 7 (2). 1-4.

Temple, N., J., 2000. Antioxidants and Disease : More Questions than Answer. **Nutrition Research** Volume 20 (3). 449-459.

Thomas, 1992. **Tanaman Obat Tradisional** Edisi 2. Kanisius, Jakarta.

Vani, T., Rajani, M., and Shishoo, C. J., 1997. Antioxidant Properties of the *Ayurvedic* Formulation Triphala and Constituent. **International Journal of Pharmacognosy** 35(5). 313-316.

Winarsi, dan Hery, M. S., 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Kanisius, Yogyakarta. 278-279.

Windono, T., Bodiono, R., Ivone, Valentina, S. dan Saputro, Y., 2000. Studi Hubungan Struktur Aktivitas Kapasitas Peredaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid Terhadap *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). **Artocarpus** Volume 4(2). 47-51.

Youngson, R., 2005. **Antioksidan : Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan**. terjemahan S. Purwoko. Arcan, Jakarta, 81-84.

LAMPIRAN A

Surat Keterangan Determinasi *Annona muricata* L.



YAYASAN WIDYA MANDALA SURABAYA
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
UNIT LAYANAN JASA DAN PENGUJIAN
FAKULTAS FARMASI
Jl. Dinoyo 42-44 Telp. (031) 5678478 Pes. 114 Fax. 5630169 Surabaya – 60265

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 005/LJ-FF/I/2013

Bersama ini menerangkan bahwa bahan yang dibawa oleh:

Nama : Diyan Maya Sari (NRP: 2443009118)
Instansi : Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya
Tanggal : 16 Januari 2013
Jenis bahan : Bahan segar (akar, batang, daun dan bunga)

Adalah memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Ranales
Suku : Annonaceae
Marga : *Annona*
Jenis : *Annona muricata* L.

Berdasarkan pustaka:

1. Backer, C.A, Vol 1. 1963. *Flora of Java*. Hal 116.
2. Bailey, L.H, Jilid I. 1950. *The Standard Cyclopedia of Horticulture*. Hal 3.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 18 Januari 2013

Mengetahui
Koordinator Layanan Jasa

Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt
NIK. 241.07.0609



Pemeriksa,

Sumi Wijaya, Ph.D., Apt
NIK. 241.03.0588

LAMPIRAN B

Langkah Kerja Skrining Kualitatif secara Fitokimia pada simplisia, ekstrak dan fraksi.

Golongan Senyawa	Langkah Kerja	Pereaksi	Hasil Positif	Pustaka
Alkaloid	Teteskan sampel kedalam kertas saring/ silika gel secukupnya, tetesi dengan pereaksi.	Ditetesi dengan pereaksi Dragendroff, amati perubahan warna yang terjadi.	Area penetesan sampel berwarna merah dibandingkan dengan area diluar sampel	(Jones <i>et al.</i> , 2006)
Flavonoid	3 ml sampel diekstraksi dengan aquadest panas (Lar.A). Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Kemudian tambahkan pereaksi.	Ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl ₃ . Amati perubahan warna yang terjadi.	Biru kehitaman	(Marliana dkk, 2005; Jones <i>et al.</i> , 2006)
Tanin	Larutan A (3 ml)	Ditambahkan pereaksi FeCl ₃ + larutan garam gelatin. Amati perubahan yang terjadi.	Hijau	
Saponin	Larutan A (3 ml)	Dikocok selama 30 detik, amati perubahan yang terjadi.	Timbul busa secara stabil (tidak hilang kurang lebih selama 30 detik)	(Jones <i>et al.</i> , 2006)

LAMPIRAN C

Langkah Kerja Alat Multiskan GO (Thermoscientific, Finland)

Pada penetapan daya antioksidan dengan metode DPPH digunakan alat Multiskan Go dengan langkah kerja sebagai berikut :

1. Nyalakan alat Multiskan Go dengan menekan tombol START/ON. Tunggu sampai alat siap digunakan.
2. Masukkan *96-wellplate* pada bagian depan alat untuk pembacaan.
3. Apabila ingin mengukur bagian tertentu dari plat maka dapat dilakukan dengan memilih titik awal dengan tekan tombol panah dan tekan tombol OK. Gerakkan kursor sampai bagian yang diinginkan kemudian tekan F1 untuk menerima pemilihan daerah yang akan diukur.
4. Apabila seluruh bagian plat diukur maka dapat dilakukan dengan menekan ALL atau dengan tekan F3 (pilih semua atau *Clear*). Pilih semua apabila ingin mengukur semua plat atau pilih *clear* untuk membersihkan plat.
5. Pilih dan tentukan parameter yang akan digunakan dalam pengukuran.
6. Tekan START/ON untuk pembacaan hasil pengukuran.

LAMPIRAN D

Perhitungan Rendemen Ekstrak

Berat serbuk simplisia daun sirsak = 1.000 gram

Volume etanol 96% untuk perkolasi = 12.91 ml

Berat cawan kosong = 215,11 g

Berat cawan isi = 360,65 g

Berat total ekstrak kental = 145, 55 g

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{145, 55 \text{ g}}{1.000 \text{ g}} \times 100\% = 14,56\%$$

LAMPIRAN E

Tabel 4.15. Profil KLT fraksi no 1-61 pada pengamatan UV 254 nm

No. vial	Harga Rf
1-12	0,99
13	0,75 ; 0,80
14	0,81 ; 0,92 ; 0,97
15	0,81 ; 0,92
16	0,81
17	0,39
18	0,38 ; 0,99
19-20	0,99
21-27	0,92
28-31	0,40 ; 0,92
32	0,40
33	0,38
34-35	0,34
36	0,27 ; 0,34
37-40	0,27
41-42	0,29 ; 0,93
43	0,25 ; 0,94
44-48	0,19 ; 0,94
49-60	0,95
61 (a)	Tidak terpisah
61 (b)	Tidak terpisah

Keterangan : - Fraksi no.vial 1-61(a) = dieluasi dengan fase gerak kloroform : etil asetat (5:5)

- Fraksi no.vial 61(b) = dieluasi dengan fase gerak kloroform : etanol (5:5)

LAMPIRAN F

Tabel 4.16. Profil KLT fraksi no 1-61 pada pengamatan UV 366 nm

No. vial	Rf	Warna	No. vial	Rf	Warna
1-11	0,99	Coklat	22-24	0,3	Kuning lemah
12	0,99	Merah		0,43	Kuning
13	0,83	Merah		0,83	Merah
14	0,90	Merah bata	25-27	0,3	Kuning lemah
15	0,86 ; 0,97	Merah		0,43	Kuning
16	0,71	Kuning	28	0,3	Kuning lemah
	0,86 ; 0,97	Merah		0,43	Kuning
17	0,71	Kuning	29-31	0,71	Merah
	0,86	Merah		0,3	Kuning lemah
	0,31	Kuning		0,43	Kuning
	0,39	Orange		0,71	Merah
18	0,5	Merah	32	0,86	Merah
	0,86	Merah		0,3	Kuning
	0,31	Kuning	0,43	Kuning	
	0,39	Orange	33-34	0,41	Kuning
	0,43	Kuning		0,61	Merah
	0,5	Merah	35-37	0,3	Ungu
0,81 ; 0,93	Merah	0,41		Kuning	
19	0,43	Kuning	38-39	0,61	Merah
	0,5	Merah		0,27	Kuning lemah
	0,81	Merah		0,3	Ungu
	0,93	Merah		0,5 ; 0,61	Merah
20	0,49	Kuning	40	0,27	Kuning lemah
	0,53	Merah		0,3	Ungu
	0,81	Merah	41-43	0,2	Merah
	0,93	Merah	44-60	0,14	Merah
21	0,43	Kuning	61(a)	Tidak terpisah	Merah
	0,83	Merah	61(b)	0,091	Merah

Keterangan : - Fraksi no.vial 1-61(a) = dieluasi dengan fase gerak kloroform : etil asetat (5:5)
 - Fraksi no.vial 61(b) = dieluasi dengan fase gerak kloroform : etanol (5:5)

LAMPIRAN G

Tabel 4.26. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH ekstrak etanol daun sirsak

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi (30')			Blanko (DPPH)	% AA		
	1	2	3		1	2	3
1	0.260	0.306	0.310	1.746	84.901	82.230	81.998
0.5	0.194	0.197	0.223	1.633	88.734	88.560	87.050
0.25	0.199	0.195	0.185	1.590	88.444	88.676	89.257
0.125	0.205	0.398	0.427	1.661	88.095	76.887	75.203
0.0625	1.082	0.632	0.983	1.818	37.166	63.298	42.915
0.03125	1.278	1.063	1.276	1.781	25.784	38.269	25.900
0.015625	1.650	1.272	1.094	1.742	4.181	26.132	36.469
0.0078125	1.613	1.385	1.920	1.835	6.330	19.570	0
0.0039063	1.833	1.475	1.749	1.765	0	14.344	0
0.0019531	1.718	1.797	1.704	1.646	0.232	0	1.045
0.0009766	1.445	1.499	1.516	1.708	16.086	12.950	11.963
0.0004883	1.559	1.469	1.540	1.743	9.466	14.692	10.569

Keterangan : % AA = Persentase aktivitas antioksidan
1, 2, 3 = Replikasi ke 1, 2, dan 3

LAMPIRAN H

Tabel 4.27. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH quercetin

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi (30')			Blanko (DPPH)	% AA		
	1	2	3		1	2	3
1	0.173	0.175	0.180	1.746	89.954	89.837	89.547
0.5	0.193	0.182	0.191	1.633	88.792	89.431	88.908
0.25	0.200	0.191	0.209	1.590	88.386	88.908	87.863
0.125	0.198	0.206	0.205	1.661	88.502	88.037	88.095
0.0625	0.358	0.389	0.308	1.818	79.210	77.409	82.114
0.03125	0.839	0.947	0.892	1.781	51.278	45.006	48.199
0.015625	1.125	1.271	1.238	1.742	34.669	26.190	28.107
				1.835			
				1.765			
				1.646			
				1.708			
				1.743			

Keterangan : % AA = Persentase aktivitas antioksidan
 1, 2, 3 = Replikasi ke 1, 2, dan 3

LAMPIRAN I

Tabel 4.28. Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan DPPH fraksi no.61

Konsentrasi mg/ml	Absorbansi (O')			Blanko (DPPH)	% AA		
	1	2	3		1	2	3
0.211	1.1000	0.9580	0.8610	1.753	36.121	44.367	50.000
0.1055	1.4410	1.4860	1.3240	1.636	16.318	13.705	23.113
0.05275	1.3630	1.4730	1.3660	1.605	20.848	14.459	20.674
0.026375	1.3760	1.5020	1.6070	1.697	20.093	12.776	6.678
0.013188	1.5330	1.4490	1.5130	1.824	10.976	15.854	12.137
0.006594	1.6090	1.6490	1.6050	1.774	6.562	4.239	6.794
0.003297	1.6320	1.5560	1.7080	1.748	5.226	9.639	0.813
0.001648	1.7380	1.8720	1.8940	1.834	0	0	0
0.000824	1.8180	1.8790	1.8470	1.772	0	0	0
0.000412	1.8900	1.7980	1.7930	1.661	0	0	0
0.000206	1.8630	1.6670	1.8290	1.717	0	3.194	0
0.000103	1.585	1.509	1.562	1.758	0	1.045	0

Keterangan : % AA = Persentase aktivitas antioksidan
1, 2, 3 = Replikasi ke 1, 2, dan 3

LAMPIRAN J

Tabel korelasi

DEGREES OF FREEDOM	5 %	1 %	DEGREES OF FREEDOM	5 %	1 %
1	.997	1.000	24	.388	.496
2	.950	.990	25	.381	.487
3	.878	.959	26	.374	.478
4	.811	.917	27	.367	.470
5	.754	.874	28	.361	.463
6	.707	.834	29	.355	.456
7	.666	.798	30	.349	.449
8	.632	.765	35	.325	.418
9	.602	.735	40	.304	.393
10	.576	.708	48	.288	.372
11	.553	.684	50	.273	.354
12	.532	.661	60	.250	.325
13	.514	.641	70	.232	.302
14	.497	.623	80	.217	.283
15	.482	.606	90	.205	.267
16	.468	.590	100	.195	.254
17	.456	.575	125	.174	.228
18	.444	.561	150	.159	.208
19	.433	.549	200	.138	.181
20	.423	.537	300	.113	.148
21	.413	.526	400	.098	.128
22	.404	.515	500	.088	.115
23	.396	.505	1000	.062	.081

LAMPIRAN K

Tabel index polaritas

Solvent	Refractive Index ^a	Viscosity, cP ^b	Boiling Point, °C	Polarity Index, P'	Eluent Strength, ϵ^0
Fluoroalkanes ^d	1.27-1.29	0.4-2.6	50-174	<-2	-0.25
Cyclohexane	1.423	0.90	81	0.04	-0.2
<i>n</i> -Hexane	1.372	0.30	69	0.1	0.01
1-Chlorobutane	1.400	0.42	78	1.0	0.26
Carbon tetrachloride	1.457	0.90	77	1.6	0.18
<i>i</i> -Propyl ether	1.365	0.38	68	2.4	0.28
Toluene	1.494	0.55	110	2.4	0.29
Diethyl ether	1.350	0.24	35	2.8	0.38
Tetrahydrofuran	1.405	0.46	66	4.0	0.57
Chloroform	1.443	0.53	61	4.1	0.40
Ethanol	1.359	1.08	78	4.3	0.88
Ethyl acetate	1.370	0.43	77	4.4	0.58
Dioxane	1.420	1.2	101	4.8	0.56
Methanol	1.326	0.54	65	5.1	0.95
Acetonitrile	1.341	0.34	82	5.8	0.65
Nitromethane	1.380	0.61	101	6.0	0.64
Ethylene glycol	1.431	16.5	182	6.9	1.11
Water	1.333	0.89	100	10.2	Large