4. PEMBAHASAN

Daun sirsak merupakan tanaman herbal yang mengandung senyawa antioksidan. Salah satu senyawa antioksidan yang terdapat dalam daun sirsak yaitu flavonoid dan total fenol. Berdasarkan Effendy (2006), proses ekstraksi merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven). Selama proses ekstraksi daun sirsak perlu mempertimbangkan beberapa faktor antara lain jenis pelarut, suhu, dan lama waktu ekstraksi, sehingga didapatkan senyawa antioksidan yang optimum dan dapat diaplikasikan dalam produk permen *hard candy*.

4.1. Ekstraksi Daun sirsak

Proses ekstraksi bertujuan untuk memisahan dan mengisolasi zat dari suatu zat dengan penambahan pelarut tertentu untuk mengeluarkan komponen campuran dari zat padat atau zat cair (Mandal *et al*., 2007). Berdasarkan penelitian Pratiwi (2010), proses ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain maserasi, remaserasi, perkolasi, dan reperkolasi. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan pemanasan. Proses pemanasan dapat mempercepat proses ekstraksi (Mandala *et al.*, 2007). Akan tetapi, suhu pemanasan perlu dikontrol sehingga tidak merusak senyawa yang terkandung dalam daun sirsak.

Tahap awal penelitian ini yaitu daun sirsak yang digunakan di *blender* dengan pelarut. Menurut Wasmund *et. al.*, (2006), semakin kecil ukuran partikel dan semakin besar luas kontak antara padatan dengan pelarut, maka proses ekstraksi menjadi lebih cepat dan optimal. Pada pelarut etanol juga mampu mengekstrak klorofil, hal ini dapat dilihat dari ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol berwarna hijau (Lampiran 1). Selanjutnya, proses ekstraksi dilakukan dengan pemanasan menggunakan *water bath*. Selama proses ekstraksi berlangsung dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* yang bertujuan untuk meningkatkan laju difusi *solute.* Pergerakan pelarut disekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan, serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut (Ansel, 1989).

Setelah proses ekstraksi selesai dilakukan pemekatan ekstrak daun sirsak dengan menggunakan *vaccum evaporator*. Berdasarkan Brennan (2006), proses evaporasi bertujuan untuk memekatkan larutan yang mengandung senyawa *non volatile solute* dan *volatile solvent* dengan cara menguapkan sebagai pelarutnya. Umumnya dalam proses evaporasi, larutan pekat merupakan produk yang diinginkan sedangkan uapnya diembunkan.

4.2. Kandungan Flavonoid dan Total Fenol dalam Ekstrak Daun Sirsak

Pada penelitian ini senyawa flavonoid dan fenol pada daun sirsak diekstrak menggunakan etanol dan aquades. Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses ekstraksi. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi jenis komponen aktif bahan yang terekstrak karena masing-masing pelarut memiliki selektivitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dari bahan (Perry, 1984). Farmakope Indonesia menetapkan bahwa cairan untuk mengekstrak antara lain air, etanol, dan eter atau etanol-air (Algariri *et al*., 2013).

Dari hasil penelitian ini, penggunaan pelarut etanol memberikan perbedaan yang nyata terhadap kandungan flavonoid dan total fenol. Kandungan flavonoid dan total fenol pada daun sirsak yang diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan flavonoid dan total fenol pada daun sirsak yang diekstrak dengan menggunakan pelarut aquades. Berdasarkan Effendy (2006), salah satu ciri penting pelarut yaitu tetapan dielektrik (D). Tetapan dielektrik pelarut merupakan besarnya gaya yang bekerja antara dua muatan itu dalam pelarut. Tetapan ini menentukan tingkat kemampuan melarutkan dari pelarut tersebut. Pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik rendah merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang non-polar dan pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik yang tinggi merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang polar. Selain itu adanya perbedaan keelektronegatifan di dalam ikatan kovalen akan menimbulkan perbedaan muatan parsia atom-atom penyusun molekul. Perbedaan ini mengakibatkan senyawa mempunyai dipol-dipol dan senyawa bersifat polar. Senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar. Senyawa golongan alkohol seperti etanol merupakan pelarut yang sangat baik

untuk mengekstraksi karena dapat mengekstraksi senyawa polar maupun nonpolar. Etanol memiliki dua gugus dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya dua gugus tersebut pada etanol yang berbeda tingkat kepolarannya. Sedangkan menurut Algariri *et al.*, (2013), aquades merupakan senyawa polar dan hanya dapat mengekstrak senyawa polar, sehingga komponen total fenol dan flavonoid memiliki kelarutan yang rendah dalam air.

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi (Harborne, 1996 dalam Hudaya, 2015). Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Selain itu, beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Rijke, 2005) Akan tetapi, proses pemanasan juga mampu mempercepat proses ekstraksi senyawa fenol dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak. Berdasarkan Soehendro (2015), kelarutan fenol dalam air berkisar antara suhu 0-65°C. Sehingga pada penelitian ini senyawa flavonoid dan fenol diekstrak dengan menggunakan pemanasan *water bath* suhu 40°C dan 60°C. Pemanasan ekstrak daun sirsak pada suhu 40°C dan 60°C memberikan pengaruh yang nyata terhadap kandungan flavonoid dan total fenol. Kandungan flavonoid dan total fenol daun sirsak yang dipanaskan pada suhu 60°C lebih tinggi dibandingkan kandungan flavonoid dan total fenol pada daun sirsak yang dipanaskan pada suhu 40°C. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wazir *et al*. (2011), bahwa suhu tinggi mampu melepaskan senyawa fenol sel dinding atau senyawa fenolik yang terikat disebabkan oleh rusaknya unsur-unsur sel, menyebabkan semakin banyak senyawa fenol yang terekstrak.

Dari hasil penelitian ekstraksi daun sirsak dengan pelarut etanol dan aquades serta perlakuan *waterbath* suhu 40°C dan 60°C, didapatkan bahwa semakin lama proses ekstraksi, total fenol dan kandungan flavonoid yang terekstrak semakin banyak, akan tetapi pada waktu tertentu total fenol dan kandungan flavonoid mengalami penurunan (Gambar 7 dan Gambar 8). Berdasarkan Trupti (2014), waktu ekstraksi merupakan waktu yang dibutuhkan pelarut untuk mencapai zat terlarut yang terdapat dalam sampel, mengikat zat terlarut dan membawanya ke dalam larutan. Suatu senyawa dapat terdifusi

dalam suatu larutan tergantung pada jenis pelarutnya. Total fenol ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol paling tinggi pada menit ke 45 perlakuan *water bath* suhu 60ºC yaitu sebesar 61,010±3,446 mg GAE/ g, sedangkan total fenol ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades paling tinggi pada menit ke 30 perlakuan *water bath* suhu 60ºC yaitu sebesar 25,206±1,328 mg GAE/ g (Tabel 1). Kandungan flavonoid ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol paling tinggi pada menit ke 45 perlakuan *water bath* suhu 60ºC yaitu sebesar 15,038±0.846 mg quersetin/ g, sedangkan kandungan flavonoid ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades paling tinggi pada menit ke 45 perlakuan *water bath* suhu 60ºC yaitu sebesar 7,185±0.073 mg quersetin/ g (Tabel 2). Seperti yang telah dijelaskan diatas, pelarut etanol mampu melarutkan senyawa flavonoid lebih banyak dibandingkan dengan pelarut aquades. Etanol bersifat polar sehingga dapat melarutan senyawa polar lainnya (Nurdin, 2010). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah larut pada pelarut polar. Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksi (OH). Flavonoid merupakan golongan aktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami (Gafur dkk, 2010).

4.3. Aktivitas Antioksidan dalam Ekstrak Daun Sirsak

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode 2,2-*diphenyl-1-picryl hydrazyl* (DPPH) yang diukur dengan spekrofotometer pada gelombang 515 nm. Senyawa DPPH yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar (Gurav *et al*., 2007). Produk yang memiliki senyawa antioksidan akan berpasangan dengan elektron dari radikal bebas, kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang terlepas (Espanda *et al.*, 1995). Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti lama lama ekstraksi, suhu ekstraksi, penyimpanan, cahaya, pengemasan dan senyawa kimia yang ada (Hendry & Houghton, 1996).

Berdasarkan penelitian Wicaksono (2015), proses pemanasan mampu mengekstrak lebih banyak senyawa antioksidan, akan tetapi proses pemanasan yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan dalam ekstrak daun sirsak dapat rusak pada suhu diatas 60ºC, sehingga pada penelitian ini ekstraksi daun

sirsak dilakukan dengan menggunakan suhu 40ºC dan 60ºC. Hasil penelitian nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan perlakuan *water bath* suhu 60ºC lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun sirsak dengan perlakuan *water bath* suhu 40ºC. Hal ini sesuai dengan pernyataan Margaretta (2011), suhu ektraksi yang rendah menyebabkan laju proses ekstraksi berjalan lebih lama, akan tetapi dengan meningkatkan suhu, difusi yang terjadi juga semakin besar, sehingga proses ekstraksi juga akan berjalan lebih cepat. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol paling dengan perlakuan *water bath* suhu 60ºC selama 30 menit yaitu sebesar 91.326±0.454%. sedangkan pada ekstrak daun sirsak dengan aquades paling tinggi dengan perlakuan *water bath* suhu 60ºC selama 30 menit yaitu sebesar 53,668±3,238%. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades. Hal ini disebabkan etanol memiliki sifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa polar dan nonpolar lebih banyak daripada pelarut air (Wasmund *et. al.,* 2006).

Berdasarkan hasil analisa korelasi antara total fenol, kandungan flavonoid, dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun sirsak didapatkan hasil total fenol berkorelasi sangat kuat (signifikansi 0,01) berbanding lurus dengan kandugan flavonoid dan total fenol pada kepercayaan 99% dan kandungan flavonoid juga berkorelasi sangat kuat (signifikansi 0,01) berbanding lurus dengan total fenol pada kepercayaan 99%. Berdasarkan Fowler *et al.* (2009), flavonoid merupakan senyawa yang tergolong dalam fenol dan bagian dari senyawa antioksidan. Sehingga apabila total fenol dan flavonoid pada ekstrak daun sirsak tinggi maka senyawa antioksidan dalam ekstrak daun sirsak juga tinggi.

4.4. *Hard Candy* dari Ekstrak Daun Sirsak Optimum

Dari hasil penelitian optimasi ekstrak daun sirsak didapatkan bahwa ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol perlakuan *water bath* suhu 60ºC selama 45 menit memiliki total fenol, kandungan flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang optimum. Ekstrak daun sirsak mudah diaplikasikan dalam produk pangan, salah satunya adalah permen *hard candy*. Pengujian total fenol, kandungan flavonoid, dan aktivitas antioksidan permen *hard candy* ekstrak daun sirsak dilakukan dengan merendam 0,5 gram permen *hard*

candy ekstrak daun sirsak yang telah dihancurkan ke dalam 5 ml etanol. Pada proses perendaman ini, etanol berfungsi untuk melarutkan senyawa organik yang terdapat di dalam sampel baik polar maupun non-polar (Andayani *et al*., 2008).

Berdasarkan hasil analisa karakteristik kimia pada permen *hard candy* ekstrak daun sirsak, total fenol dan kandungan flavonoid pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol menjadi permen *hard candy* berturut–turut sebesar 38.132±0,935 mg GAE/g dan 9,898±0,767 mg quersetin/ g. Menurut Liyana and Shahidi (2005), ada hubungan antara suhu dan senyawa fenolik, kandungan senyawa fenolik menurun seiring dengan peningkatan suhu yang lebih tinggi, hal ini disebabkan dekomposisi senyawa fenolik. Proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak menggunakan suhu tinggi (140ºC), sehingga kestabilan total fenol dan kandungan flavonoid menurun selama proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak. Berdasarkan Puspitasari (2016), menyatakan bahwa kandungan senyawa fenolik sangat sensitif, tidak stabil dan sangat rentan terhadap degradasi. Senyawa flavonoid juga mengalami penurunan selama proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak disebabkan karena pemanasan dengan suhu tinggi dapat merusak senyawa flavonoid. Hal tersebut sesuai dengan pernyatan Chang (2002), dimana proses pemanasan dapat membuat kadar total flavonoid berkurang sebesar 15– 78 %.

Pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol perlakuan *water bath* suhu 60ºC selama 45 menit memiliki aktivitas antioksidan sebesar 90,238±1.663%, setelah dibuat permen ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan sebesar 47,438±3,872%. Proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak menggunakan suhu 140ºC, sehingga kestabilan aktivitas antioksidan menurun selama proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak. Berdasarkan Riyawan (2015), perlakuan pemanasan dapat mempercepat oksidasi terhadap antioksidan yang terkandung dalam sistem bahan alam dan mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidan dengan tingkat yang berbeda dan sangat dipengaruhi oleh jenis komponen yang berperan dalam proses antioksidasi dan kandungan dalam bahan tersebut. Akan tetapi kandungan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak masih ada, sehingga masih memungkinkan untuk diaplikasikan dalam produk permen *hard candy*.