

4. PEMBAHASAN

4.1. Ekstrak Daun Sirsak

Dalam proses ekstraksi, salah satu faktor yang memiliki pengaruh signifikan terhadap mutu ekstrak adalah metode yang digunakan untuk mengekstraksi suatu senyawa. Maserasi merupakan salah satu metode yang juga banyak digunakan. Maserasi sendiri adalah metode ekstraksi sederhana dengan cara bahan simplisia dihaluskan menjadi serbuk kasar dan kemudian dilarutkan dalam bahan pengeskrak. Dalam proses ekstraksi menggunakan metode maserasi sederhana, diperlukan proses perendaman bahan dengan pelarut selama kurang lebih 24 jam dan perlu dilakukan proses pengadukan (Husnah, 2009). Cara ini terbilang cukup lama dan kurang efektif dalam pemrosesannya. Karena itu dilakukan modifikasi dalam metode maserasi ini dengan pemancaran gelombang ultrasonik (sonikasi) terhadap sampel daun sirsak, sehingga didapatkan hasil yang lebih optimum dengan proses yang lebih efisien. Metode sonikasi ini menggunakan gelombang ultrasonik akustik lebih dari 20 kHz, dimana gelombang ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* sehingga aman diaplikasikan dalam proses pengekstrasian. Kelebihan metode ini adalah waktu ekstraksi yang lebih singkat, hasil rendemen kasar meningkat, dan tidak menggunakan proses pemanasan sehingga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas (Handayani *et al.*, 2016). Hal ini terbukti dengan hasil rendemen dari ekstraksi daun sirsak dengan perlakuan *sonicator* menggunakan pelarut etanol selama 45 menit yaitu sebesar 5.06% dan perlakuan *sonicator* menggunakan pelarut aquades selama 60 menit yaitu sebesar 2.80%. Hasil ini lebih besar jika dibandingkan dengan rendemen dengan metode maserasi dalam penelitian yang dilakukan Erayadi *et al.*(2017) dengan hasil rendemen ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol adalah sebesar 4.90% dan dengan pelarut aquades sebesar 1.38%.

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. Selanjutnya, proses ekstraksi dilakukan dengan sonikasi menggunakan *sonicator*. 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. Pada pelarut

etanol juga mampu mengekstrak klorofil, hal ini dapat dilihat dari ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol berwarna hijau (Lampiran 1). Menurut Song Ai & Yunia (2011), klorofil merupakan pigmen yang memberikan warna hijau pada berbagai makhluk hidup yang memiliki kemampuan fotosintesis. Klorofil memiliki sifat fisik yaitu menyerap dan memantulkan cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda. Selain itu menurut Dwidjoseputro (1994) klorofil merupakan jenis zat yang bersifat larut dalam pelarut organik, yang berarti klorofil akan mudah larut dalam pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut aquades. Etanol sering digunakan dalam proses pengekstrasian klorofil karena selain lebih aman, etanol juga memberikan nilai *recovery* sangat baik dan bisa mendapatkan klorofil yang lebih murni (Bianca, 1993).

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. Penentuan jenis pelarut yang akan digunakan untuk proses ekstraksi menjadi salah satu faktor yang penting, karena pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan menentukan jenis komponen aktif bahan yang terekstrak. Hal ini disebabkan setiap pelarut memiliki kemampuan 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).

Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah kandungan dari ekstraksi flavanoid dan total fenol dengan menggunakan pelarut etanol memberikan perbedaan yang nyata terhadap kandungan flavanoid dan total fenol yang diekstrak dengan menggunakan pelarut aquades. Ekstrak daun sirsak yang diekstraksi dengan pelarut etanol, kandungan flavonoid dan total fenolnya lebih tinggi dibandingkan pada ekstrak daun sirsak 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 parsial 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.

Dari hasil penelitian ekstraksi daun sirsak dengan pelarut etanol dan aquades serta perlakuan *sonicator*, 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 8 dan Gambar 9). 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 *sonicator* yaitu sebesar 59.064 ± 1.656 mg GAE/ g, sedangkan total fenol ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades paling tinggi pada menit ke 60 perlakuan *sonicator* yaitu sebesar 33.931 ± 0.663 mg GAE/ g (Tabel 3). Kandungan flavonoid ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol paling tinggi pada menit ke 45 perlakuan *sonicator* yaitu sebesar 18.813 ± 0.387 mg quersetin/ g, sedangkan kandungan flavonoid ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades paling tinggi pada menit ke 60 perlakuan *sonicator* yaitu sebesar 6.518 ± 0.103 mg quersetin/ g (Tabel 2).

Polaritas pelarut akan sangat berpengaruh terhadap peningkatan kelarutan senyawa fenol dan flavanoid. Prinsip dasar dari ekstraksi dengan menggunakan pelarut adalah *like dissolve like*, yaitu hanya senyawa yang memiliki polaritas yang sama dengan pelarut yang akan terekstrak (Widarta. & I Wayan Arnata, 2017). Etanol bersifat semipolar sehingga dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar (Nurdin, 2010). Senyawa flavonoid pada umumnya merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah larut pada pelarut polar. Namun ada beberapa senyawa flavanoid seperti *isoflavan*, *flavon*, *flavanol* dan *flavanon* yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar (Doloksaribu, 2009). Dapat disimpulkan karena senyawa flavanoid dan fenol yang terkandung didalam daun sirsak

memiliki kecenderungan polaritas yang sama dengan polaritas etanol dibandingkan dengan polaritas aquades, sehingga dalam pelarut etanol senyawa-senyawa flavanoid maupun fenol akan lebih mudah larut, sedangkan dalam pelarut aquades membutuhkan waktu untuk komponen-komponen tersebut dapat larut. Ditambah beberapa komponen ada yang bersifat non-polar sehingga komponen ini akan ikut terlarut dalam pelarut etanol sehingga kenaikan kadar flavanoid dan fenol lebih cepat dibanding dengan dalam aquades. Pada gambar 8 dan gambar 9 dapat dilihat bahwa pada pelarut etanol pada menit ke 60 baik total fenol maupun flavanoid sudah tidak ada lagi peningkatan kandungan senyawa, begitu juga pada pelarut aquades pada menit ke 90 dan ke 120 sudah tidak ada lagi peningkatan total fenol dan flavanoid. Hal ini dapat disebabkan karena larutan sudah memasuki titik jenuh sehingga tidak dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan yang lebih tinggi lagi. Faktor yang dapat menyebabkan hal ini terjadi adalah proses kavitasi dalam metode ekstraksi ultrasonik berkurang atau terudiksi dikarenakan meningkatnya tekanan uap. Tekanan uap ini meningkat terjadi karena selama proses pengestraksian dengan metode ultrasonik suhu larutan akan meningkat dan saat suhu mengalami kenaikan jumlah gelembung dalam larutan juga akan meningkat (Handayani *et al.*, 2016).

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 spektrofotometer 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).

Lama waktu dan suhu ekstraksi sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, hal ini disebabkan sifat senyawa yang memiliki kemampuan antioksidan akan sangat sensitif terhadap lingkungan dan juga tidak tahan terhadap panas (Handayani *et al.*, 2016). Karena itu sangat penting dalam menentukan metode pengestraksian, dimana dapat ditentukan metode dengan proses waktu yang lebih cepat dan tanpa adanya proses pemanasan berlebih adalah metode yang terbaik dan efektif dalam mendapatkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan

yang lebih tinggi. Dengan menggunakan metode ultrasonik proses pengekstraksian tidak membutuhkan pemanasan dan proses juga lebih cepat.

Hasil penelitian nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan menggunakan pelarut ethanol dengan perlakuan *sonicator* lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut ethanol paling tinggi dengan perlakuan *sonicator* adalah menit ke 45 yaitu sebesar $89.032 \pm 0.264\%$. sedangkan pada ekstrak daun sirsak dengan aquades paling tinggi dengan perlakuan *sonicator* adalah menit ke 60 yaitu sebesar $60.719 \pm 1.905\%$. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut ethanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades. Hal ini disebabkan ethanol memiliki sifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa polar dan nonpolar lebih banyak daripada pelarut air yang hanya dapat mengekstrak senyawa polar saja (Wasmund *et. al.*, 2006).

Ekstrak daun sirsak baik pada pelarut ethanol maupun aquades masing-masing mengalami penurunan aktivitas antioksidan setelah dilakukan proses ekstraksi 60 menit pada pelarut ethanol, dan menit 90-120 menit pada pelarut aquades. Penurunan yang dialami cukup signifikan. Aktivitas antioksidan sendiri dipengaruhi oleh beberapa factor, salah satunya yaitu cahaya (Hendry & Houghton, 1996). Cahaya merupakan radiasi elektromagnetik, mempunyai energi yang besarnya berbanding terbalik dengan panjang gelombang. Penurunan aktivitas yang terjadi mungkin disebabkan cahaya yang merupakan panjang gelombang yang mampu menaikkan elektronik molekul, selanjutnya mengakibatkan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak, menyerap energi besar sehingga mendegradasi komponen yang berperan sebagai antioksidan (Klaudi *et al.* 2011). Hal ini terjadi karena selama proses pengekstraksian, sampel tidak dibungkus dengan aluminium foil ataupun media lainnya yang mampu menghalangi cahaya langsung.

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%. Begitu juga dengan aktivitas antioksidan berkorelasi kuat baik dengan total fenol maupun flavanoid. 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 *sonicator* selama 45 menit memiliki total fenol, kandungan flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang optimum. Sedangkan dengan pelarut aquades pada menit ke 60 didapati hasil yang paling 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 $44,365 \pm 0,913$ mg GAE/g dan $9,160 \pm 0,129$ mg quersetin/ g, dan ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades menjadi permen *hard candy* berturut-turut $29,849 \pm 0,231$ mg GAE/g dan $0,806 \pm 0,164$ 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 oleh dekomposisi senyawa fenolik. Proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak menggunakan suhu tinggi (140°C), 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 pernyataan Chang (2002), dimana proses pemanasan dapat membuat kadar total flavonoid berkurang sebesar 15– 78 %.

Pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol perlakuan *sonicator* selama 45 menit memiliki aktivitas antioksidan sebesar $89.032 \pm 0.264\%$, setelah dibuat permen ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan sebesar $41,051 \pm 1,868\%$. Sehingga besar penurunan aktivitas

antioksidan pada pelarut etanol adalah 47.980%. Pada ekstrak daun sirsak dengan pelarut aquades perlakuan *sonicator* selama 60 menit memiliki aktivitas antioksidan sebesar $72.748 \pm 1.669\%$, setelah dibuat permen ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan sebesar $9,421 \pm 1,031\%$. Sehingga besar penurunan aktivitas antioksidan pada pelarut aquades sebesar 63.327%. Proses pembuatan permen ekstrak daun sirsak menggunakan suhu 140°C , 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*.

