

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS PADA KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN MANGGA (*Mangifera indica* L.) DAN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)

Endah Kurniawati^{1*}, Fajar Setyo Wibowo², Rita Rusmeilina³
^{1*,2,3}Program Studi Farmasi (S-1), Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta
Email: ^{1*}endahae@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang bermanfaat dalam melawan kanker dan proses lain yang berpotensi mengarah pada penyakit-penyakit degeneratif seperti diabetes dan penyakit jantung. Antioksidan bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas menjadi bentuk non radikal. Banyak tanaman, termasuk buah dan sayur, merupakan antioksidan alami karena kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan terhadap aktivitas tanaman sebagai antioksidan. Mangga dan sirsak merupakan salah satu tanaman yang tersebar luas di Indonesia. Daun mangga dan daun sirsak mengandung banyak zat aktif salah satunya adalah senyawa fenol yang menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antidiabetes. Kombinasi kedua tanaman tersebut berpotensi untuk dikembangkan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun mangga dan daun sirsak dapat diamati dari aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan metode DPPH dengan pembandingan vitamin C. Nilai IC₅₀ digunakan sebagai parameter aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan metode DPPH. Kombinasi ekstrak daun mangga dan sirsak menunjukkan adanya aktivitas sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas penangkapan radikal bebas menunjukkan aktivitas kombinasi dua ekstrak tersebut lebih rendah dibandingkan dengan standar vitamin C yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 35,50 ppm. Namun kombinasi kedua ekstrak tersebut memiliki potensi dikembangkan sebagai antioksidan. Kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak dengan perbandingan 75:25 memiliki nilai IC₅₀ paling baik yaitu sebesar 94,96 ppm, diikuti perbandingan 50:50 dengan nilai IC₅₀ 140,36 ppm, dan perbandingan 25:75 dengan nilai IC₅₀ sebesar 207,79 ppm.

Kata kunci: Mangga, sirsak; penangkapan radikal, DPPH

ABSTRACT

Antioxidant has the activity to fight cancer and other potential degenerative diseases like diabetic, and heart attack. Antioxidant acts by neutralizing the free radical substances into the non radical one. Many plants, include fruits and vegetables, are natural antioxidants because of fenolic and flavonoids components that have activities as antioxidants. Mango and soursop are one of those plants available in Indonesia. Mango leaves and soursop leaves are parts of plants that contain a lot of active ingredients especially phenols that has antioxidant, antiinflammation and antidiabetic activities. Combination of both plants has potentials as antioxidants. Antioxidant activity through free radical scavenging activity of combination of mango leaves and soursop leaves are observed by using DPPH methods with ascorbic acid as the standard. Combination extracts show potency to be explored as antioxidant. Compared with the standard, combination extracts show weaker radical scavenging activity. Combination 75:25 of extract mango leaves and soursop leaves show the best IC₅₀ value 35,50 ppm. Then it is followed by combination 50:50 and 25:75 with IC₅₀ value 140,36 ppm and 207,79 ppm respectively.

Keywords: *Mango, Soursop, Radical scavenging, DPPH*

LATAR BELAKANG

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat diproduksi secara endogen (metabolisme sel normal) maupun eksogen (disebabkan oleh faktor paparan dari aktivitas merokok, alkohol, radiasi ataupun dari lingkungan). Dalam sistem biologis tubuh, akumulasi keberadaan radikal bebas dalam jumlah yang berlebihan tersebut disebut dengan stres oksidatif (Kurutas, 2016). Kondisi stres oksidatif tersebut menyebabkan radikal bebas yang sangat reaktif, untuk bereaksi dan mengganggu DNA, RNA, dan memacu oksidasi lipid dan protein dalam sel. Pada akhirnya, peristiwa tersebut dapat memacu terjadinya penyakit kronis ataupun degeneratif (Xu *et al.*, 2017). Antioksidan dapat berperan dalam peningkatan kualitas kesehatan dan pencegahan penyakit degeneratif. Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh dari radikal bebas (Sultana *et al.*, 2012). Antioksidan bekerja dengan cara menetralisasi radikal bebas menjadi bentuk non radikal. Antioksidan terbagi dua berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik banyak digunakan karena stabilitas yang baik, dan mudah diperoleh. Akhir-akhir ini, antioksidan alami banyak dikembangkan sebagai alternatif antioksidan karena pertimbangan masalah keamanan antioksidan sintetik dalam jangka panjang. Sebagian besar antioksidan alami yang diperoleh, berasal dari tanaman seperti buah, sayur-sayuran, herba, bunga dan rempah-rempah. Antioksidan alami dari tanaman tersebut utamanya berasal dari kandungan polifenol (asam fenolat, flavonoid, antosianin), karotenoid, dan vitamin (vitamin E dan vitamin C). (Lourenço *et al.*, 2019).

Mangga dan sirsak adalah tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Baik daun mangga maupun daun sirsak banyak mengandung komponen fenolik dan flavonoid (Marjoni *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2020). Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antioksidan paling poten dibandingkan dengan ekstrak etil asetat, yang ditunjukkan dari kemampuan ekstrak menangkal radikal bebas, dengan nilai IC_{50} sebesar 35,51 ppm (Qorina *et al.*, 2019). Ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica*) menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $79,09 \pm 0,42\%$ (Udem *et al.*, 2018). Berdasarkan hal tersebut, terkait adanya kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan pada masing-masing tanaman, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas penangkapan radikal bebas pada kombinasi ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica* L.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.). Aktivitas penangkapan radikal bebas diuji dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan ditetapkan aktivitasnya dalam nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC_{50}).

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik (Ohaus), bejana maserasi, *moisture analyzer* (Ohaus), *magnetic stirrer and hot plate* (Ika®), spektrofotometer UV-Vis (Genesys), dan alat-alat gelas yang lazim digunakan dalam analisis kimia. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun mangga, daun sirsak (diperoleh dari desa Purwosari, Mlati, Sleman), etanol 70%, metanol *p.a* (Merck), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), vitamin C, dan akuades.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Daun Mangga dan Daun Sirsak

Sebanyak 2 kg daun basah mangga dan sirsak dikeringkan selama dua hari dalam oven suhu 50 °C. Selanjutnya simplisia kering dihaluskan dengan mesin giling.

Sebanyak 200 gram serbuk daun mangga kering dan daun sirsak kering masing-masing ditimbang dan dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 2 liter dan dilakukan remaserasi sampai larutan bening. Hasil maserasi diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh, dihitung rendemennya dengan cara :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak akhir}}{\text{Bobot simplisia awal}} \times 100\%$$

Karakterisasi Ekstrak

- a. Pengamatan organoleptis ekstrak
Meliputi penggunaan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk (padat, serbuk, kental, cair) dan warna.
- b. pH
Pengujian pH dilakukan dengan cara dibuat larutan 1% ekstrak yang dilarutkan dalam air dan disaring kemudian larutan diukur dengan indikator pH.
- c. Susut pengeringan
Pengukuran susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan *moisture analyzer*. Sebanyak 1 gram ekstrak diletakkan dalam pan aluminium kemudian alat diatur pada suhu 105°C dan dicatat susut pengeringan yang terukur sampai bobot tetap (*Mbah et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Mangga dan Daun Sirsak

- a. Pembuatan larutan DPPH (0,1 mM)
Sebanyak 3,94 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 100 mL metanol *pa*. Larutan DPPH yang diperoleh selanjutnya diukur *operating time* dan panjang gelombang maksimumnya.
- b. Pembuatan larutan standar vitamin C
Sebanyak 10,0 mg vitamin C dilarutkan dalam 10 mL metanol *pa*. Selanjutnya, konsentrasi larutan dibuat pada rentang 10; 20; 30; 40, dan 50 ppm.
- c. Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak.
Sebanyak 100 mg ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak, masing-masing dilarutkan dalam 100 mL metanol *pa* sebagai larutan stok. Selanjutnya dari larutan stok tersebut, konsentrasi larutan masing-masing ekstrak dibuat pada rentang 50; 100; 150; 200, dan 250 ppm. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak yang digunakan adalah 25:75; 50:50, dan 75:25. Perbandingan kombinasi tersebut dilakukan pada ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak konsentrasi 50; 100; 150; 200, dan 250 ppm.
Untuk kombinasi ekstrak dengan perbandingan 25:75, diambil 50 µL ekstrak etanol daun mangga dan 150 µL ekstrak etanol daun sirsak. Untuk kombinasi ekstrak dengan perbandingan 50:50, diambil 100 µL ekstrak etanol daun mangga dan 100 µL ekstrak etanol daun sirsak. Untuk kombinasi ekstrak dengan perbandingan 75:25, diambil 150 µL ekstrak etanol daun mangga dan 50 µL ekstrak etanol daun sirsak.
- d. Uji penangkapan radikal bebas DPPH
Penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH dilakukan sebagaimana dalam Badejo dkk (2014) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 200 µL larutan ditambah 2,0 mL larutan DPPH dan divorteks. Campuran diinkubasi pada suhu kamar dan dalam ruang yang gelap selama 20 menit sebagai *operating time* dan dibaca absorbansinya pada λ maksimum 514 nm. Blangko yang digunakan adalah metanol *pa*. Pengujian direplikasi dua kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Mangga dan Daun Sirsak

Hasil karakterisasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak dapat dilihat pada tabel 1. Karakterisasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak meliputi organoleptis (bentuk dan warna), pH dan susut pengeringan. Ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak memiliki pH cukup asam, yaitu 4 untuk daun mangga dan 5 untuk daun sirsak.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Mangga dan Daun Sirsak

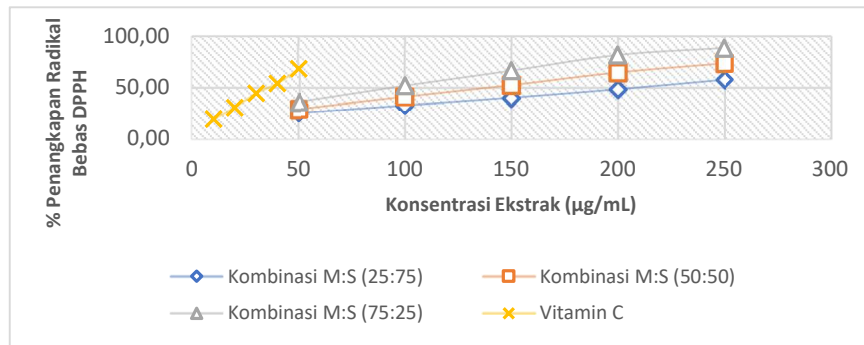
Karakteristik Ekstrak	Hasil	
	Ekstrak daun mangga	Ekstrak daun sirsak
Organoleptis	Ekstrak kental berwarna hijau kecoklatan	Ekstrak kental berwarna coklat
pH	4	5
Susut pengeringan	1,29%	1,58%

Susut pengeringan menggambarkan indikator besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Batas maksimum susut pengeringan menurut Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak lebih dari 10%. Jika bahan tidak mengandung minyak atsiri atau sisa pelarut organik menguap, maka susut pengeringan identik dengan kadar air. Kandungan air < 10% dapat menghambat reaksi enzimatik serta melindungi dari tumbuhnya mikroba. Ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak hasil maserasi secara berurutan memiliki nilai % susut pengeringan sebesar 1,29% dan 1,58%. Baik ekstrak etanol daun mangga maupun ekstrak etanol daun sirsak memenuhi persyaratan susut pengeringan ekstrak.

Serbuk daun mangga dan daun sirsak diekstraksi menggunakan etanol 70%. Pelarut etanol 70% dipilih karena merupakan pelarut universal, sehingga dapat melarutkan sebagian besar senyawa terutama senyawa flavonoid dan fenolik yang terdapat pada daun mangga dan daun sirsak kering. Sehingga senyawa yang memiliki kepolaran berbeda juga dapat terekstraksi dalam etanol. Ekstrak kental yang didapatkan yaitu daun mangga sebanyak 32,55 gram dan daun sirsak 16,2 gram. Ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak yang diekstraksi menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 16,3% dan 8,1%. Rendemen dipengaruhi oleh kadar air. Semakin besar kadar air ekstrak, semakin besar rendemen yang diperoleh.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga dan Daun Sirsak

Gambar 1 menunjukkan nilai % penangkapan radikal bebas untuk kombinasi ekstrak mangga dengan ekstrak daun sirsak dan vitamin C. Dari gambar tersebut diperoleh informasi bahwa, semakin besar konsentrasi kombinasi ekstrak maupun konsentrasi vitamin C yang digunakan, semakin besar kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat radikal bebas. Vitamin C sebagai standar memerlukan kadar yang lebih kecil dibandingkan ekstrak untuk memperoleh kisaran % penangkapan radikal yang sama. Tabel 2 menunjukkan nilai IC₅₀ kombinasi dua ekstrak dan vitamin C yang diukur dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH. IC₅₀ menunjukkan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin poten aktivitas senyawa tersebut sebagai antioksidan. Artinya senyawa tersebut, dengan konsentrasi rendah sudah mampu menghambat 50% radikal bebas.



Gambar 1. Hubungan Antara Aktivitas Antioksidan Metode Penangkapan Radikal Bebas DPPH dengan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangga, Ekstrak Etanol Daun Sirsak, dan Vitamin C. (M = Ekstrak Etanol Daun Mangga, S = Ekstrak Etanol Daun Sirsak)

Secara keseluruhan, dari data nilai IC_{50} , maka vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar ($IC_{50} = 35,50$ ppm). Selanjutnya, kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak (75:25) menunjukkan aktivitas antioksidan paling baik setelah vitamin C ($IC_{50} = 94,96$ ppm). Sementara, kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak (25:75) menunjukkan aktivitas antioksidan paling rendah ($IC_{50} = 207,79$ ppm). Jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun mangga tunggal (100%) dan ekstrak etanol daun sirsak tunggal (100%), maka ekstrak etanol daun mangga 100% ($IC_{50} = 83,73$ ppm) menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling baik diantara nilai IC_{50} ekstrak tunggal maupun kombinasi kedua ekstrak tersebut. Meskipun demikian, adanya penambahan ekstrak etanol daun mangga pada ekstrak daun sirsak mampu menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak tunggal (100%).

Tabel 2. Nilai IC_{50} dari Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH pada Ekstrak Etanol Daun Mangga, Daun Sirsak dan Vitamin C. (M= Ekstrak Etanol Daun Mangga, S = Ekstrak Etanol Daun Sirsak)

Bahan	$IC_{50} \pm SD$ (ppm)
Vitamin C	$35,50 \pm 1,17$
S (100%)	$300,04 \pm 12,58$
M:S (25%:75%)	$207,79 \pm 13,74$
M:S (50%:50%)	$140,36 \pm 9,33$
M:S (75%:25%)	$94,96 \pm 3,64$
M (100%)	$83,73 \pm 11,80$

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan, tetapi aktivitas tersebut lebih rendah dibandingkan vitamin C. Dari tiga kombinasi yang diuji, kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak dengan perbandingan 75:25 memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas paling baik dengan nilai IC_{50} sebesar $94,96$ µg/mL.

Saran

Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan lebih lanjut untuk kombinasi ekstrak etanol daun mangga dan daun sirsak menggunakan metode lain seperti FRAP dan ABTS.

DAFTAR PUSTAKA

- Badejo, A. A., Damilare, A., & Ojuade, T. D. (2014). Processing effects on the antioxidant activities of beverage blends developed from *Cyperus esculentus*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Moringa oleifera* extracts. *Preventive Nutrition and Food Science*, 19(3). <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.3.227>
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. In *Nutrition Journal* (Vol. 15, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 22). <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>
- Marjoni, M. R., Nofita, D., Rahmi, N., Saifullah, & Najla, N. A. (2018). Phenolics compounds, flavonoids, and antioxidant activity methanol extract of arum manis leaves (*Mangifera indica* L. Var. *Arumanis*). *International Journal of Green Pharmacy*, 12(3).
- Mbah, C. C., Builders, P. F., Akuodor, G. C., & Kunle, O. O. (2012). Pharmaceutical characterization of aqueous stem bark extract of *bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4), 637–644. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i4.15>
- Nguyen, M. T., Nguyen, V. T., Minh, L. V., Trieu, L. H., Cang, M. H., Bui, L. B., Le, X. T., & Danh, V. T. (2020). Determination of the phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids content, and antioxidant activity of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(6). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/736/6/062011>
- Qorina, F., Arsianti, A., Fithrotunnisa, Q., & Tejaputri, N. A. (2019). Phytochemistry and antioxidant activity of soursop (*Annona muricata*) leaves. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(Special Issue 6), 1–6. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s6.33524>
- Sultana, B., Hussain, Z., Asif, M., & Munir, A. (2012). Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Science*, 77(8). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02807.x>
- Udem, G. C., Dahiru, D., & Etteh, C. C. (2018). In vitro Antioxidant Activities of Aqueous and Ethanol Extracts of *Mangifera indica* Leaf, Stem-Bark and Root-Bark. *Pharmacognosy Communications*, 8(3), 119–124. <https://doi.org/10.5530/pc.2018.3.25>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. Bin. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>