

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perhatian terhadap pemanfaatan tanaman obat saat ini semakin meningkat, seiring dengan upaya untuk mewujudkan masyarakat yang sehat. Tanaman obat sudah lama dikenal dan digunakan secara tradisional oleh masyarakat, pemanfaatan tumbuhan sebagai obat erat kaitannya dengan kemampuannya dalam mensintesis beragam senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis tertentu di dalam tubuh. Secara alami, senyawa-senyawa tersebut bukanlah diproduksi untuk tujuan pengobatan manusia, melainkan sebagai bentuk mekanisme pertahanan diri tanaman terhadap organisme pengganggu seperti serangga, jamur, maupun hewan herbivora. Hingga saat ini, sekitar 12.000 senyawa kimia telah berhasil diisolasi dari tumbuhan, dan jumlah tersebut diperkirakan baru mencakup sekitar 10% dari total potensi senyawa kimia yang mungkin terkandung di dalamnya. Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah srikaya (*Annona squamosa* L.)¹.

Srikaya (*Annona squamosa* L.) merupakan tanaman yang sering dijumpai di Indonesia. Buah srikaya kaya akan kandungan nutrisi seperti karbohidrat, vitamin C, serat, mineral dan senyawa metabolit sekunder. Berbagai bagian dari tanaman srikaya telah dilaporkan mengandung berbagai metabolit sekunder antara lain mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, dan fenolik yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antidiabetik². Daun tanaman srikaya banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengatasi penyakit pencernaan, penyakit kulit dan diabetes mellitus³.

Penanganan diabetes mellitus umumnya dilakukan melalui konsumsi obat-obatan dalam jangka waktu panjang. Namun, penggunaan obat sintesis tersebut tidak jarang menimbulkan berbagai efek samping pada tubuh. Karena itu, diperlukan metode pengobatan alternatif yang lebih aman, salah satunya dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase, yaitu enzim yang berfungsi menguraikan karbohidrat menjadi gula sederhana, seperti glukosa. Inhibisi terhadap enzim ini dapat memperlambat proses penyerapan glukosa, sehingga mampu mencegah terjadinya lonjakan kadar gula darah (hiperglikemia) setelah mengonsumsi makanan³.

Tanaman srikaya (*Annona squamosa* L.) diketahui mengandung senyawa fenolik pada hampir seluruh bagian tanamannya. Fenolik merupakan golongan metabolit sekunder yang berperan sebagai agen antioksidan sekaligus berpotensi menurunkan kadar glukosa darah. Bagian tanaman srikaya yang umumnya tidak dikonsumsi, seperti biji, kulit buah, dan daun, justru memiliki kandungan fenolik yang tinggi, menjadikannya berpotensi dan dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami sekaligus inhibitor enzim α -glukosidase³.

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa yang berperan sebagai donor elektron. Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam efek merugikan dari oksidan. Mekanisme kerjanya dengan cara memberikan satu elektronnya kepada molekul oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat.

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas⁴. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Werdiningsih dan Zahro (2020) ekstrak daun srikaya memiliki kemampuan antioksidan dengan nilai IC₅₀ adalah 60.437 ppm⁵.

Berbagai metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, serta tanin ditemukan dalam daun srikaya. Senyawa-senyawa ini mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Secara umum senyawa flavonoid dan Fenolik dikenal bersifat polar, tanin dan alkaloid cenderung bersifat semi polar, sedangkan saponin dan terpenoid diklasifikasikan sebagai senyawa non polar. Dilihat dari polaritasnya maka dapat dilakukan tahap fraksinasi. Fraksinasi adalah teknik pemisahan suatu senyawa dari campurannya menjadi beberapa fraksi (bagian) berdasarkan perbedaan sifat fisika maupun kimianya, seperti tingkat kepolaran, kelarutan, titik didih, atau ukuran molekul. Salah satu teknik fraksinasi yang banyak digunakan adalah fraksinasi cair-cair dengan menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dan memiliki perbedaan tingkat kepolaran. Melalui fraksinasi bertingkat dengan pelarut yang bervariasi polaritasnya, dapat diperoleh ekstrak dengan komposisi berbeda sesuai sifat senyawa yang tertarik. Pendekatan ini umumnya dijadikan dasar untuk memperkirakan kepolaran senyawa metabolit sekunder yang dipisahkan⁶.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Swantara (2022) senyawa flavonoid berhasil diisolasi dari ekstrak daun srikaya diduga merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol dengan dugaan struktur senyawa 5,3',4'- trihidroksiflavonol⁷. Dari penelitian yang telah dilakukan Mustanir (2021) ekstrak daun srikaya mengandung senyawa fenolik golongan diphenol dengan struktur senyawa 4,4'-((p-Phenylene)diisopropylidene) diphenol⁸. Penelitian Abdul Azeem (2024) menunjukkan ekstrak daun srikaya mengandung senyawa alkaloid golongan anonaine, terpenoid golongan α pinene dan β pinene⁹.

Daun srikaya diketahui juga mengandung senyawa annonain. Annonain merupakan salah satu senyawa alkaloid yang terkandung dalam daun srikaya, yang diketahui memiliki sifat fisiologis toksik serta rasa yang pahit. Penelitian yang dilakukan oleh Novianti (2019) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun srikaya menunjukkan aktivitas toksik dengan kemampuan menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium sp*¹⁰.

Faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman berperan penting dalam menentukan kadar metabolit sekundernya. Kondisi geografis seperti iklim, suhu, kandungan mineral, jenis tanah, kelembapan, ketinggian dan paparan cahaya matahari dapat memengaruhi biosintesis senyawa bioaktif pada tumbuhan. Penelitian mengenai ekstrak daun srikaya sebelumnya telah dilakukan oleh Werdiningsih & Zahro (2020) di daerah Kediri⁵ dan Swantara (2022) di daerah Seminyak, Bali⁸ yang masing-masing memiliki kondisi ekologi berbeda. Dalam penelitian ini, sampel daun srikaya diambil dari daerah Kapalo Hilalang, Kabupaten Padang Pariaman, Sumatera Barat. Perbedaan lokasi tumbuh ini memungkinkan adanya variasi kadar metabolit sekunder yang terekstraksi, sehingga hasil penelitian dapat memberikan gambaran perbandingan yang lebih komprehensif mengenai potensi daun srikaya dari berbagai daerah.

Berdasarkan penjelasan tersebut, penulis melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan, toksisitas, kandungan fenolik total fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air dari daun srikaya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang yang telah telah dipaparkan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya?
2. Bagaimana kandungan fenolik total fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya?
3. Apakah fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya memiliki aktivitas antioksidan?
4. Apakah fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya memiliki efek toksisitas?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya.
2. Menentukan kandungan fenolik total fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya.
3. Menentukan aktivitas antioksidan fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya.
4. Menentukan efek toksisitas fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air daun srikaya.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran mengenai kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, serta efek toksisitas dari fraksi heksana, etil asetat, dan metanol-air daun srikaya. Temuan penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan ilmu Kimia Organik Bahan Alam, sekaligus menjadi sumber informasi bagi masyarakat mengenai kandungan kimia dan bioaktivitas dari ketiga fraksi ekstrak daun srikaya tersebut.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.)

Tanaman srikaya memiliki batang berbentuk silindris dengan permukaan agak kasar serta bercabang, dengan tinggi mencapai 3–5 meter dan diameter batang sekitar 26 cm. Daunnya bertangkai tunggal, tersusun secara berseling, dengan helaian berbentuk elips memanjang dan ujung yang tumpul. Buah srikaya berbentuk bulat, berwarna hijau, dan permukaannya khas dengan tonjolan-tonjolan menyerupai benjolan¹¹. Srikaya merupakan tanaman berkayu berukuran kecil, yang umumnya tumbuh pada lahan berbatu dan kering dengan paparan sinar matahari langsung. Tanaman ini mulai menghasilkan buah setelah mencapai umur 3 hingga 5 tahun.

Klasifikasi srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai berikut¹² :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Magnoliales</i>
Family	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona squamosa</i> L.



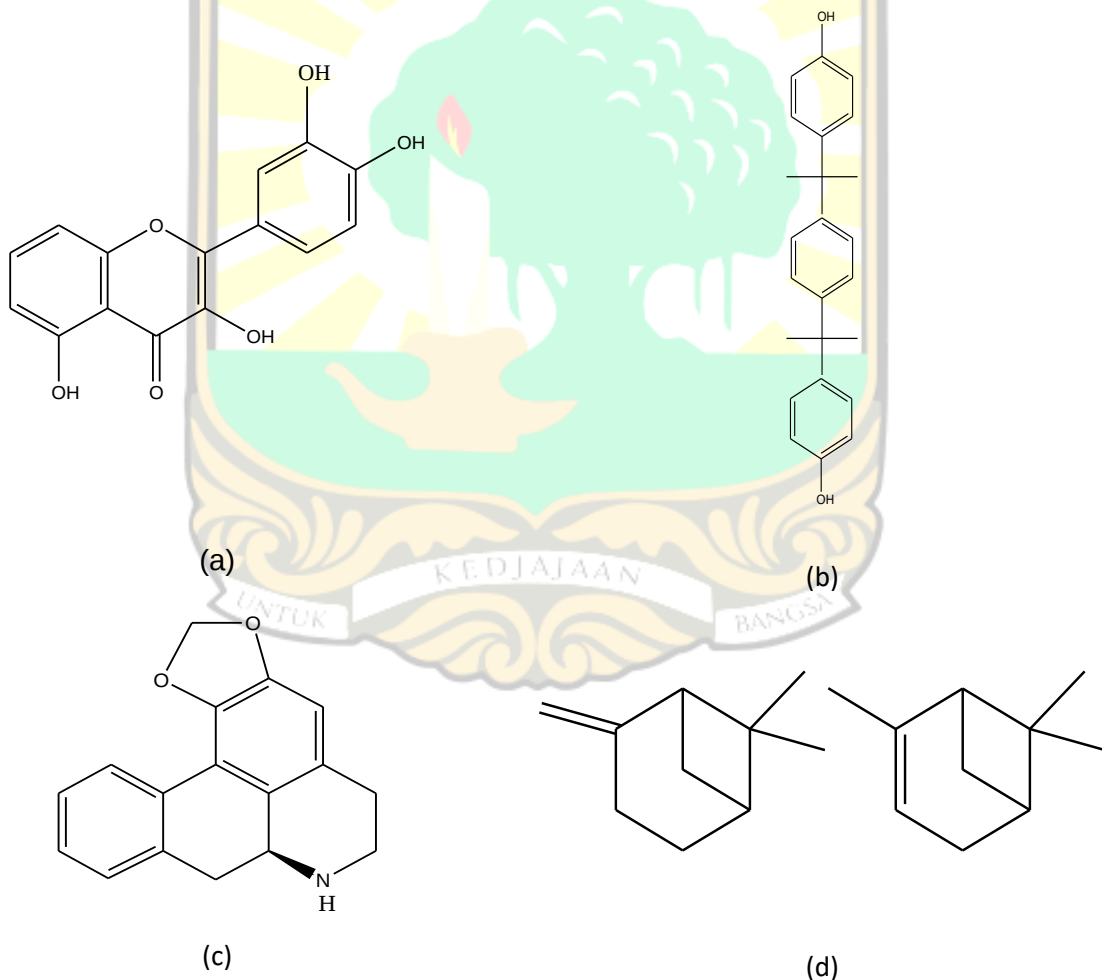
Gambar 2.1 Tanaman srikaya

Akar tanaman srikaya memiliki rasa pahit dan diketahui berkhasiat sebagai antiradang serta antidepresi. Bagian akar sering dimanfaatkan untuk mengatasi sembelit, disentri akut, dan nyeri pada tulang punggung. Daunnya yang bercita rasa pahit dan kelat digunakan dalam pengobatan tradisional untuk meredakan batuk, demam, reumatik, menurunkan kadar asam urat, tekanan darah tinggi, serta gangguan pencernaan seperti diare, disentri, dan cacingan. Secara topikal, daun juga dipakai untuk mengobati borok, luka, bisul, skabies, dan kudis. Biji

srikaya dimanfaatkan dalam mengatasi gangguan pencernaan, cacingan, serta sebagai agen alami untuk membasmi kutu kepala dan serangga. Sementara itu, kulit batangnya digunakan dalam terapi tradisional untuk mengobati diare, disentri, serta menghentikan perdarahan pada luka¹³.

2.2 Kandungan Metabolit Sekunder Daun Srikaya

Daun srikaya diketahui mengandung beragam metabolit sekunder, antara lain fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, dan tanin. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Swantara (2022) menunjukkan bahwa dari ekstrak daun srikaya berhasil diisolasi senyawa flavonoid yang diperkirakan termasuk dalam golongan flavonol, dengan kemungkinan struktur berupa 5,3',4'-trihidroksiflavonol. Dari penelitian yang telah dilakukan Mustanir (2021) ekstrak daun srikaya mengandung senyawa fenolik golongan diphenol dengan struktur senyawa 4,4'-((p-Phenylene)diisopropylidene) diphenol⁸. Penelitian oleh Abdul Azeem (2024) menunjukkan ekstrak daun srikaya mengandung senyawa alkaloid golongan anonaine, terpenoid golongan α pinene dan β pinene. Struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur kandungan senyawa metabolit sekunder daun srikaya: (a) 5,3,4'-trihidroksiflavonol dan (b) 4,4'-((p-Phenylene)diisopropylidene diphenol (c) anonaine dan (d) α pinene dan β pinene

2.3 Fenolik Total

Fenolik merupakan golongan senyawa terbesar yang memiliki peran penting sebagai antioksidan alami. Senyawa ini ditandai dengan adanya satu atau lebih cincin fenol (polifenol). Struktur aromatik yang mengandung gugus hidroksil memungkinkan fenolik teroksidasi dengan memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas. Fenolik memiliki kemampuan membentuk radikal fenoksi yang stabil selama proses oksidasi, sehingga menjadikannya sangat efektif sebagai senyawa antioksidan. Secara alami, fenolik umumnya hadir dalam bentuk polifenol yang dapat berikatan membentuk senyawa eter, ester, maupun glikosida. Contoh dari kelompok ini antara lain flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat, dan berbagai asam organik polifungsional^{14,15,16}.

Pengukuran total fenolik dilakukan melalui metode *Folin–Ciocalteu*, karena metode ini tergolong sederhana, cepat, ekonomis, serta memiliki tingkat reliabilitas yang baik. Reagen Folin–Ciocalteu berfungsi sebagai oksidator yang bereaksi dengan senyawa fenolik dalam sampel sehingga menghasilkan kompleks berwarna biru, yang selanjutnya dapat diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis¹⁶.

Metode Folin–Ciocalteu bekerja dengan prinsip pengukuran kemampuan sampel dalam mereduksi reagen oksidator. Penggunaan asam galat sebagai standar dianggap paling sesuai dan akurat untuk kuantifikasi kandungan fenolik total, jika dibandingkan dengan standar lain seperti asam ferulat, asam klorogenat, katekol, maupun asam vanilat^{17,18}. Kandungan fenolik total dari fraksi heksana, etil asetat dan metanol-air ditentukan menggunakan kurva standar asam galat dengan mensubstitusikan absorban sampel ke dalam persamaan regresi dari asam galat¹⁶.

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang pada konsentrasi tertentu mampu menghambat terjadinya kerusakan akibat proses oksidasi, serta berperan penting dalam melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Radikal bebas sendiri adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Kehadiran antioksidan memungkinkan stabilisasi radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron untuk melengkapi kekurangannya¹⁹.

Antioksidan secara umum dapat dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan sumbernya, yakni antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami secara alami diproduksi atau terdapat dalam tubuh, misalnya vitamin C, vitamin E, dan karotenoid. Dalam tumbuhan, antioksidan alami umumnya hadir dalam bentuk senyawa fenolik maupun polifenol, termasuk flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan tokoferol, yang telah dilaporkan memiliki potensi dalam menurunkan risiko penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit jantung koroner²⁰.

Mekanisme kerja antioksidan dalam menghambat aktivitas radikal bebas dapat berlangsung melalui dua jalur, yaitu primer dan sekunder. Pada mekanisme primer,

antioksidan bekerja langsung dengan menangkap atau menetralkan radikal bebas. Sementara itu, mekanisme sekunder tidak secara langsung menangkap radikal bebas, melainkan bekerja melalui cara lain seperti mengikat ion logam transisi yang bersifat pro-oksidan atau menyerap radiasi ultraviolet sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas baru²¹. Antioksidan yang diperoleh dari tanaman memberikan khasiat yang lebih unggul dibandingkan dengan antioksidan sintesis, hal ini disebabkan karena sifat alami dari antioksidan tersebut²². Akumulasi radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan munculnya berbagai penyakit degeneratif, termasuk aterosklerosis, artritis, Alzheimer, dan kanker. Radikal bebas tersebut dapat terbentuk secara alami dari proses metabolisme normal maupun akibat faktor eksternal, seperti paparan radiasi ultraviolet dan polutan lingkungan²³.

Salah satu metode yang banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), yang didasarkan pada pengukuran kemampuan senyawa uji dalam menangkalkan radikal bebas. Pada prosesnya, atom hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH sehingga menghasilkan bentuk DPPH yang lebih stabil. Stabilitas ini ditunjang oleh adanya delokalisasi elektron dalam struktur DPPH. Senyawa DPPH sendiri memiliki gugus kromofor dan auksokrom yang memungkinkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang 517 nm, yang ditandai dengan warna ungu pekat. Ketika radikal DPPH ditangkap oleh senyawa antioksidan, pasangan elektron menjadi berikatan, menyebabkan intensitas warna berkurang hingga larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning sesuai jumlah elektron yang dinetralkan.²⁰.

Metode DPPH menunjukkan bagaimana reaktivitas senyawa uji terhadap radikal bebas stabil yang digunakan dalam pengujian²⁴. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi. Besarnya persen inhibisi dihitung menggunakan rumus²⁰ :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ Kontrol} - A \text{ Sampel}}{A \text{ Kontrol}} \times 100\%$$

Dalam uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, parameter utamanya adalah nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang mampu menurunkan aktivitas radikal DPPH hingga 50%²⁵. Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier, yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fraksi antioksidan yang dinyatakan sebagai sumbu x dengan % inhibisi yang dinyatakan sebagai sumbu y²⁶. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin kuat senyawa uji tersebut sebagai penangkap radikal DPPH²⁷. Tingkat aktivitas antioksidan diklasifikasi menjadi 4 kelompok, dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Nilai IC_{50} untuk uji tanioksidan

No	Nilai IC_{50} (mg/L)	Sifat antioksidan
1.	<50	Sangat kuat
2.	50-100	kuat
3.	100-150	Sedang
4.	151-200	Lemah

2.5 Toksisitas

Uji toksisitas adalah metode yang digunakan untuk mengetahui tingkat bahaya atau efek racun dari suatu senyawa dan umumnya dilakukan pada hewan uji. Hasil pengujian ini tidak dapat dijadikan ukuran mutlak mengenai keamanan zat terhadap manusia, tetapi dapat memberikan gambaran mengenai tingkat toksisitas relatif serta membantu mengidentifikasi kemungkinan efek berbahaya pada manusia. Pengujian toksisitas juga dapat dilakukan secara kuantitatif untuk menentukan derajat toksisitas suatu senyawa. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sering dipilih dalam pengujian toksisitas karena relatif mudah dilakukan, membutuhkan biaya yang murah, hasilnya cepat diperoleh, dan tingkat akurasinya cukup baik.²⁸

Pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT dilakukan untuk menentukan nilai LC_{50} dengan memanfaatkan larva udang *Artemia salina* Leach. Nilai LC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi yang mampu mengakibatkan kematian pada 50% populasi uji, di mana semakin kecil nilai LC_{50} menunjukkan tingkat toksisitas sampel yang semakin tinggi.²⁸ Tingkat toksisitas pada larva udang diklasifikasi menjadi 4 kelompok, dapat dilihat pada tabel 2.2

Tabel 2.2 Nilai LC_{50} untuk uji toksisitas

No.	Nilai LC_{50} (mg/L)	Sifat Toksik
1.	< 10	Sangat toksik
2.	10-100	Sedang
3.	100-1000	Lemah
4.	> 1000	Tidak toksik