

BAB IV

PROSEDUR PENELITIAN

4.1 Bahan dan Determinasi Tumbuhan

Bahan didapat dari wilayah Majalengka, berupa buah sirsak (*Annona muricata* L.) segar. Determinasi dilakukan terhadap bagian tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium Herbalium Institut Teknologi Bandung.

4.2 Ekstraksi Buah Sirsak (*Annona muricata* L.)

Proses ekstraksi dari buah sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 5 kg buah sirsak dibersihkan dan dipisahkan dari kulit dan inti buah. Daging buah sirsak dimaserasi dengan 3L etanol selama 3 x 24 jam. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Proses evaporasi dilakukan pada suhu 40°C. Kemudian dilakukan ekstraksi cair-cair dengan etil asetat dan aquadest sehingga menghasilkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Pada fraksi air tersebut diekstraksi cair-cair kembali dengan n-heksan, sehingga menghasilkan fraksi air dan fraksi n-heksan. Pada masing –masing fraksi tersebut (fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan) dilakukan proses evaporasi kembali sehingga didapat ekstrak kental dari masing-masing fraksi. Ketiga fraksi tersebut kemudian diuji dengan larutan DPPH dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (diagram alir penelitian terdapat pada lampiran gambar 4.1).

4.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Sirsak (*Annona muricata* L.)

4.3.1 Pengujian Alkaloid

Diambil secukupnya sampel yang akan dianalisis, dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan kloroform amoniakal sebanyak 2 ml, kemudian diaduk sampai tercampur merata, diamkan selama 5 menit lalu disaring dengan cara memasukkan kapas kedalam tabung reaksi, ditekan kapas kebawah hingga didapatkan larutan jernih di atas permukaan kapas. Dituangkan larutan jernih kedalam tabung reaksi bersih, ditambahkan asam sulfat 2N dengan perbandingan 1:1 lalu dikocok sampai tercampur merata, diamkan hingga diperoleh 2 lapisan cairan, lapisan atas (lapisan asam) dimasukkan kedalam tiga buah tabung reaksi dan masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda, yaitu pereaksi Wagner, Meyer, dan Dragendorff, kemudian diamati perubahan warna atau pembentukan endapan yang terjadi.

a. Pereaksi Wagner

Jika setelah ditambahkan pereaksi Wagner terbentuk endapan coklat, maka sampel positif mengandung alkaloid.

b. Pereaksi Mayers

Jika setelah ditambahkan pereaksi Mayers terbentuk endapan putih, maka sampel positif mengandung alkaloid.

c. Pereaksi Dragendorff

Jika setelah ditambahkan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan oranye, maka sampel positif mengandung alkaloid.

4.3.2 Pengujian Saponin, Steroid dan Triterpenoid

Dimasukkan sampel kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan etanol panas dan dikocok. Dituangkan cairan kedalam cawan uap lalu diuapkan diatas penangas.

a. Pengujian Saponin

Diambil sebagian residu dicawan uap, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan air panas, jika terbentuk busa yang stabil selama 3-10 menit, maka sampel positif mengandung saponin.

b. Pengujian Steroid dan Triterpenoid

Diambil sebagian residu dicawan uap, dimasukkan kedalam plat tetes, lalu ditambahkan dietil eter, setelah itu ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard (campuran asam asetat anhidrid dan asam sulfat pekat). Kemudian diamati perubahan warna yang terjadi, jika terbentuk warna hijau atau biru maka sampel positif mengandung steroid. Sedangkan jika terbentuk warna coklat, merah atau ungu berarti positif mengandung triterpenoid.

4.3.3 Pengujian Flavonoid

Diambil secukupnya sampel, dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan etanol 1:2 lalu dikocok hingga homogen, diamkan selama 5 menit, dimasukkan kapas kedalam tabung, ditekan kapas tersebut

kebawah, lalu diambil larutan jernih dengan menggunakan pipet tetes, dimasukkan larutan jernih tersebut kedalam tabung reaksi lain, ditambahkan serbuk Zn, lalu ditambahkan HCL pekat 2 tetes, ditunggu hingga 2 menit jika terbentuk warna oranye, jingga atau kuning, maka positif mengandung flavonoid.

4.3.4 Pengujian Tanin

Diambil secukupnya sampel, dimasukkan kedalam gelas piala 100 ml, ditambahkan 50 ml aquadest, dididihkan selama 15 menit, lalu didinginkan. Dipindahkan 5 ml filtrat pada tabung reaksi, ditetaskan pereaksi FeCl₃, bila terjadi warna hitam kehijauan menunjukkan adanya golongan tanin.

4.3.5 Pengujian Kuinon

Diambil secukupnya sampel, dimasukkan kedalam gelas piala 100 ml, ditambahkan 50 ml aquadest, dididihkan selama 5 menit, dipindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, ditetaskan larutan NaOH 1 N. Bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya kuinon.

4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2-pikrilhidrazil)

Dibuat larutan ekstrak sirsak (*Annona muricata* L.) dalam berbagai konsentrasi dalam pelarut metanol. Absorbansi masing-masing perangkat reaksi diukur absorbansinya pada 517 nm, disertai blangko. Pengukuran dilakukan setelah 30 menit (waktu dihitung setelah penambahan DPPH).

Sebagai pembanding digunakan vitamin C (asam askorbat) dengan variasi konsentrasi 4ppm; 2 ppm; 1 ppm; 0,5 ppm dilakukan perlakuan yang sama dengan sampel uji.

$$\text{Perhitungan \% inhibisi} = \frac{A \text{ reference} - A \text{ sampel}}{A \text{ reference}} \times 100$$

EC 50 ditetapkan dari kurva pengaluran % inhibisi terhadap konsentrasi

EC 50 merupakan konsentrasi yang dapat memberikan % inhibisi sebesar 50%

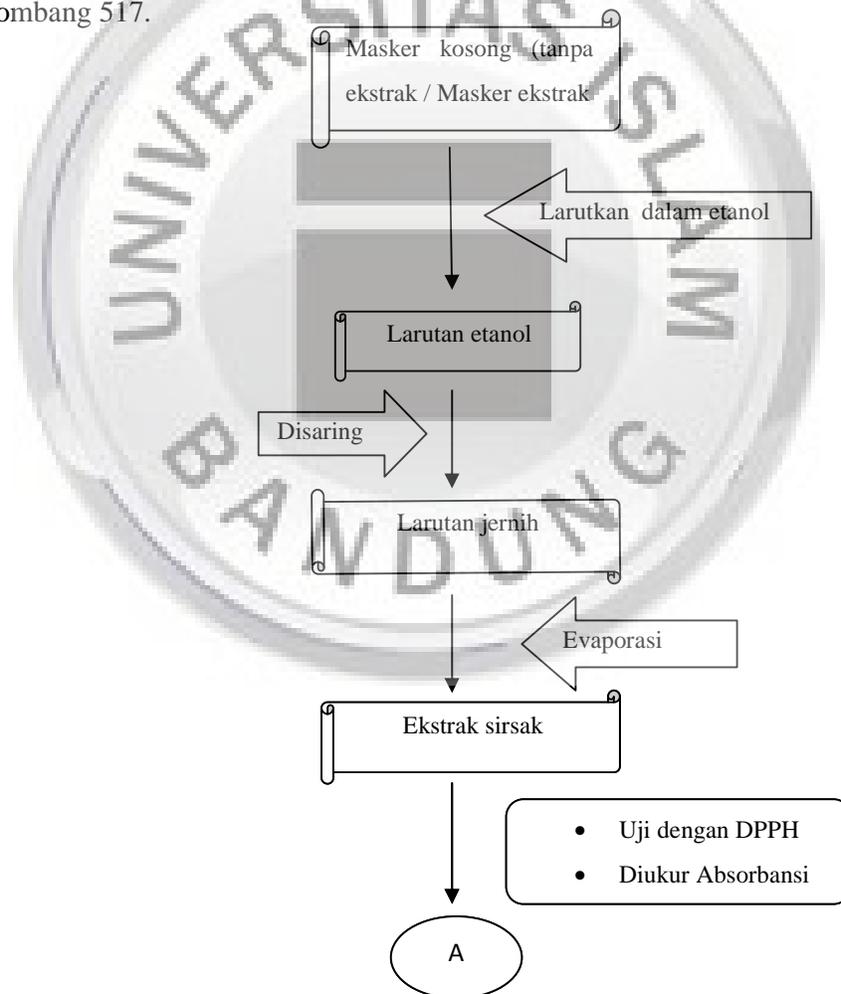
4.5 Formulasi Sediaan Masker Buah Sirsak (*Annona muricata* L.)

Dalam membuat formulasi suatu sediaan yang baik perlu diperhatikan adalah kesesuaian sifat bahan-bahan yang dipilih, yaitu kesesuaian sifat antara bahan aktif dengan bahan pembawanya (basis). Masker yang dibuat berupa baluran lumpur. Masker dibuat dalam 5 formulasi yaitu 1 formulasi yang mengandung vitamin C sebagai pembanding, 1 formulasi sebagai blangko dan 3 formulasi yang mengandung ekstrak buah sirsak yang masing-masing mengandung konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda. Masing-masing masker mengandung ekstrak sirsak sebesar 0,2%, 0,4% dan 0,5% dalam komposisi basis yang sama dan untuk pembanding digunakan vitamin C dengan konsentrasi 0,2%. Zat tambahan yang dipilih yaitu kaolin 35%, setil alkohol 2%, sodium lauril sulfat 0,1%, gliserin 10%, nipagin 0,1%, dan aquadest q.s. Adapun cara pembuatannya, sodium laurel sulfat, setil alkohol, dan nipagin diaduk sampai homogen. Tambahkan gliserin. Aduk kembali sampai homogen. Zat aktif dilarutkan dalam pelarut yang sesuai sampai larut. Aduk kembali sampai homogen. Tambahkan kaolin sedikit demi

sedikit dan aquadest secukupnya. Digerus homogen hingga terbentuk sediaan masker yang baik (Harry, 1975).

4.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan Dari Sediaan Masker

Masker ditimbang secukupnya kemudian dilarutkan dalam metanol. Campuran disaring sehingga didapatkan larutan yang jernih. dan dilakukan evaporasi sehingga didapatkan kembali ekstrak yang mengandung antioksidan. Setelah itu diuji dengan larutan DPPH dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517.



Gambar 4.1. Diagram Alir Penelitian