

EKSTRAKSI ANNONACEOUS ACETOGENIN DARI DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) UNTUK MENENTUKAN VARIABEL OPTIMUM TERHADAP HASIL EKSTRAKSI

*(Extraction of Annonaceous Acetogenin from Circuit Leaf (*Annona muricata L.*) for Determining Optimum Variables On Extraction Results)*

Puriyanti Y, Netty Kamal, Selly Aulia S, dan Ardhiansyah M

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Nasional, Bandung

ABSTRAK

Sirsak (*Annona muricata L.*) merupakan salah satu tanaman buah yang berkhasiat. Daun sirsak mengandung senyawa *acetogenin* yaitu senyawa poliketida dengan struktur 30-32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus 5-metil-2-furanon yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variabel yang berpengaruh dan menentukan kondisi operasi optimum pada proses ekstraksi dengan metode sokletasi. Daun sirsak diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan etil asetat, dengan variasi perbandingan nisbah bahan baku dengan pelarut etanol dan etil asetat adalah 1:7 ; 1:9 ; 1:11, variasi temperatur 78°C (etanol) dan 77°C (etil asetat), dan variasi waktu selama selama 2, 4, dan 6 jam. Parameter yang diteliti antara lain perolehan *acetogenin*, konsentrasi akhir *acetogenin*, dan uji sitotoksitas terhadap sel kanker. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh %yield tertinggi ekstrak daun sirsak pada pelarut etanol 96%, waktu ekstraksi 6 jam, dan nisbah bahan baku dengan pelarut 1:11 dengan perolehan sebesar 33,98%, kadar fenol 59,51 ppm, dan memiliki sifat toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 38,62 ppm.

Kata kunci: daun sirsak, antikanker, *acetogenin*, sokletasi

ABSTRACT

Soursop (Annona muricata L.) is one of the nutritious fruit crops. Soursop leaf contains acetogenin compound, a polymerid compound with a 30 - 32 unbranched carbon chain structure bound to a cytotoxic 5-methyl-2-furanone group against cancer cells. This study aims to determine the variables that influence and determine the optimum operating conditions in the extraction process with the method of soxletation. Soursop leaves were extracted using 96% ethanol solvent and ethyl acetate, with variation in ratio of raw material ratio with ethanol and ethyl acetate solvent was 1: 7; 1: 9; 1:11, temperature variations of 78°C (ethanol) and 77°C (ethyl acetate), and time variations for 2, 4 and 6 hours. The parameters studied were yield of acetogenin, acetogenin final concentration, and cytotoxicity test for cancer cells. Based on the research, the result highest yield of soursop leaf extract on 96% ethanol solvent, 6 hours extraction time, and raw material ratio with 1:11 solvent with 33.98% yield, phenol content 59,51 ppm, and toxicity with LC₅₀ value of 38.62 ppm.

Key words: soursop leaves, anticancer, *acetogenin*, soxletation

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Gaya hidup manusia saat ini cenderung tidak sehat. Pola makan dan jenis makanan yang tidak sehat dapat memicu timbulnya penyakit degeneratif. Salah satu penyakit yang marak terjadi pada era globalisasi ini adalah kanker. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2013, diketahui prevalensi kanker tertinggi terdapat di DI Yogyakarta (4,1%) diikuti Jawa Tengah (2,1%), Bali (2%), Bengkulu, dan DKI Jakarta masing-masing 1,9 per mil. Balitbang Kemenkes juga merilis data yang tak jauh angkanya. Balitbang Kemenkes memperkirakan jumlah penderita kanker di Indonesia mencapai 347.792 atau sekitar 1,4%.

Pengobatan kanker yang umum digunakan saat ini adalah secara medis melalui operasi, kemoterapi, atau radioterapi. Namun cara ini kurang selektif dalam membunuh sel kanker. Seringkali sel normal di sekitarnya ikut rusak. Oleh karena itu perlu diupayakan suatu pengobatan kanker dengan metoda herbal yang relatif lebih aman, selektif, efektif, murah, dan dapat digunakan secara luas oleh masyarakat, yaitu dengan cara menggali bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker.

Daun Sirsak dipilih sebagai bahan baku untuk pembuatan obat kanker karena daun sirsak memiliki kandungan *acetogenin* yang lebih banyak dibandingkan dengan bagian tumbuhan sirsak lainnya, seperti biji sirsak yang memiliki kandungan *alkaloid annoaine* yang biasa digunakan sebagai pestisida nabati, akar sirsak yang memiliki kandungan tanin dan alkaloid yang digunakan sebagai pestisida nabati, antidiabetes dan untuk menurunkan tekanan darah.

Annonaceous acetogenin adalah senyawa fitokimia terpenting yang terdapat pada tanaman sirsak. Senyawa ini bersifat sitotoksik yang secara spesifik ditemukan pada tanaman dari keluarga *annonaceae*. Pada tahun 1995-1996, Jerry McLaughlin PhD dari Purdue University, Indiana, Amerika Serikat dan Profesor Soelaksono dari Institut Teknologi Bandung dalam penelitiannya menemukan senyawa yang termasuk kedalam *annonaceous acetogenin* dari daun dan batang pohon sirsak. Senyawa *annonaceous acetogenin* akan menghambat ATP yang menjadi sumber energi bagi sel kanker. Sel kanker tumbuh secara tidak normal. Sel membelah diri begitu cepat. Di sini senyawa *annonaceous acetogenin* berperan sebagai inhibitor sumber energi untuk pertumbuhan

sel kanker. Kekurangan energi menyebabkan sel tidak dapat membelah. Sel kanker gagal untuk berkembang. Pada akhirnya sel kanker akan mati.

Fenol merupakan salah satu gugus dari *acetogenin* yang juga merupakan senyawa toksik. Fenol sering digunakan sebagai antiseptik dan antibakteria. Mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan penghancuran dinding sel dan presipitasi (pengendapan) protein sel dari mikroorganisme sehingga terjadi koagulasi dan kegagalan fungsi pada mikroorganisme tersebut.

Styryl-lactones adalah gugus dari fenol dengan berat molekul rendah. Kerja *styryllactones* diaktifasi oleh enzim caspase, memicu kerusakan transmembran mitokondria mamalia yang menghasilkan sitokrom c (Wiert, 2007). *Styryl-lactones* dihipotesiskan berperan untuk memproduksi protein C-Kinase. Peran protein C-kinase, berfungsi dalam jalur transduksi sinyal, dikaji dapat menghambat pertumbuhan tumor dan meningkatkan gen supresor (Choi, 1990).

Pemanfaatan senyawa *annonaceous acetogenin* sebagai obat terkadang sebatas dengan cara merebus daun sirsak saja sehingga khasiatnya mungkin belum maksimal. Oleh karena itu dilakukan penelitian dengan metode ekstraksi agar zat aktif pada daun sirsak lebih banyak terambil. Metode konvensional memiliki kekurangan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan banyak pelarut serta hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal. Optimasi ekstraksi daun sirsak dapat dilakukan dengan variasi jenis pelarut, perbandingan pelarut dengan umpan (nisbah), pengaruh temperatur dan waktu operasi.

2. BAHAN DAN METODE

Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun tumbuhan sirsak. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari etanol 96%, etil asetat, aquadest, larva udang (*Artemia salina*), Asam galat, HCl (p), Follin Ciocakteu, natrium karbonat, kloroform, amoniak, asam sulfat 2 N, Pereaksi Dragendoff, besi klorida, dan air keran.

Prosedur Percobaan

Proses penelitian dimulai dengan persiapan awal bahan berupa pencucian daun sirsak, pengeringan daun sirsak, mengecilkan ukuran daun sirsak, dan menyeragamkan ukuran daun sirsak. Kemudian dilanjutkan dengan tahap ekstraksi daun sirsak dengan metode sokletasi pada temperatur mendekati titik didih pelarut. Hasil ekstraksi ditimbang untuk mendapatkan %yield lalu dianalisa dengan spektrofotometri. Proses selanjutnya adalah tahap analisa kuantitatif yang dimulai dengan persiapan larutan standar untuk analisa kadar fenol (Meyer, 1982). Sedangkan analisa kualitatif dilakukan dengan metode *Brine Shrimp*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Menentukan Variabel yang Paling Berpengaruh

Penelitian ini dimaksudkan untuk menentukan variabel yang paling berpengaruh diantara jenis pelarut, nisbah bahan baku dengan pelarut, dan waktu operasi ekstraksi. Berdasarkan percobaan, didapatkan hasil %yield dengan pelarut etanol 96% pada Tabel 1. Data pada tabel kemudian diplot ke dalam grafik Hubungan antara Yield dan Waktu Ekstraksi dengan Pelarut Etanol 96% (Gambar 1). Adapun hasil % yield dengan pelarut etil asetat disampaikan pada Tabel 2. Data pada tabel diplot ke dalam grafik Hubungan antara Yield dan Waktu Ekstraksi dengan Pelarut Etil Asetat (Gambar 2). Pada grafik hubungan antara %yield dengan waktu ekstraksi, grafik mengalami peningkatan seiring bertambahnya lama waktu ekstraksi, sehingga dapat ditentukan waktu operasi optimum. Semakin lama kontak sampel dengan pelarut maka akan semakin banyak pula hasil yang didapatkan.

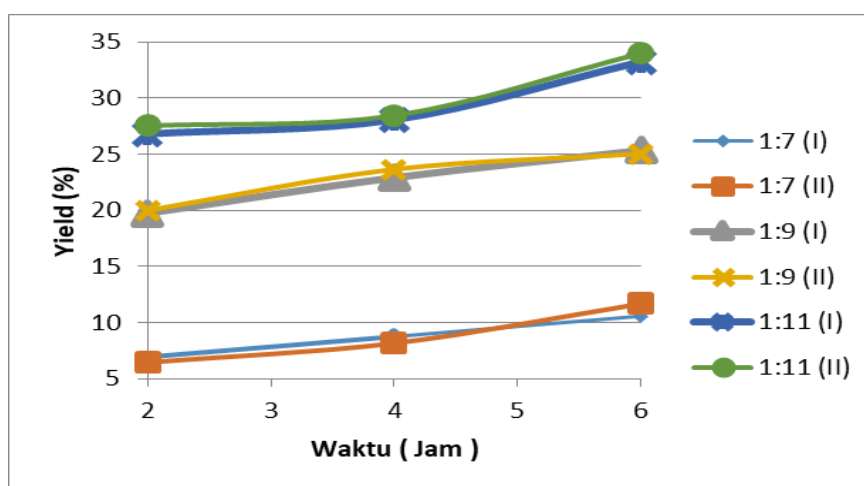
Kadar *acetogenin* ditentukan dengan menentukan kadar fenol yang terdapat pada sampel hasil ekstraksi dan ditunjukkan pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa kandungan terbesar terdapat pada waktu operasi 6 jam dengan pelarut etanol 96%.

Analisa kualitatif dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* disampaikan pada Tabel 4. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* digunakan untuk menentukan apakah sampel yang dihasilkan bersifat sitotoksik terhadap sel kanker.

Dari hasil-hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa variabel jenis pelarut, waktu operasi, dan nisbah bahan baku dengan pelarut berpengaruh terhadap hasil ekstraksi.

Tabel 1. Perolehan yield (%) dengan pelarut etanol 96%

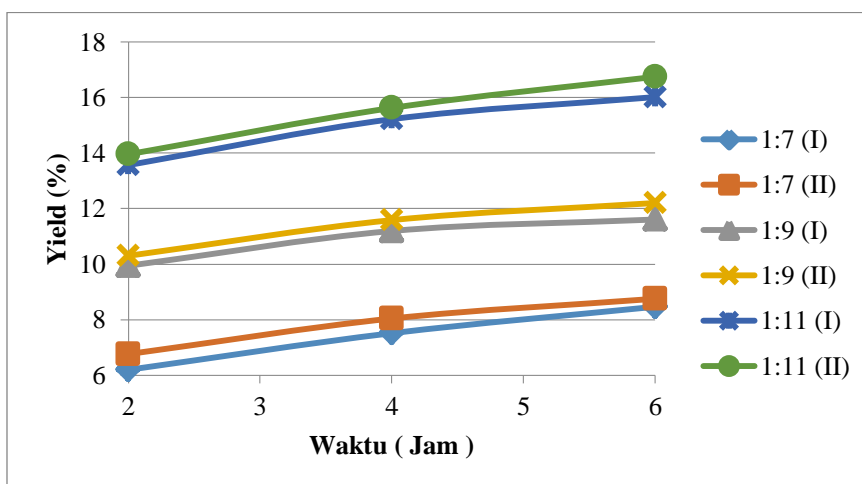
Pelarut	Nisbah Bahan Baku: Pelarut	Waktu (Jam)	% Yield Run I	% Yield Run II
Etanol 96%	1:7	2	6.9215	6.4382
	1:9		8.7325	8.1457
	1:11		10.5664	11.6542
	1:7	4	19.7380	19.9845
	1:9		22.9049	23.6453
	1:11		25.3251	25.0364
	1:7	6	26.8005	27.5263
	1:9		28.0717	28.4312
	1:11		33.2370	33.9846



Gambar 1. Hubungan antara yield dan waktu ekstraksi dengan pelarut etanol 96%

Tabel 2. Perolehan yield (%) dengan pelarut etil asetat

Pelarut	Nisbah Bahan Baku: Pelarut	Waktu (Jam)	% Yield Run I	% Yield Run II
Etil Asetat	1:7	2	6.1997	6.7645
	1:9		7.5161	8.0452
	1:11		8.4683	8.75631
	1:7	4	9.9436	10.3029
	1:9		11.1958	11.5865
	1:11		11.6082	12.2031
	1:7	6	13.5669	13.9547
	1:9		15.2202	15.6233
	1:11		16.0156	16.7462



Gambar 2. Hubungan antara yield dan waktu ekstraksi dengan pelarut etil asetat

Tabel 3. Hasil pengukuran kandungan fenol dalam sampel daun sirsak

Pelarut	Nisbah Bahan Baku: Pelarut	Waktu (Jam)	Absorbansi (A)		Konsentrasi Fenol (ppm)	
			RUN I	RUN II	RUN I	RUN II
Etanol 96%	1:7	2	0.081	0.092	26.6431	30.5300
	1:9		0.072	0.084	23.4629	27.7032
	1:11		0.07	0.069	22.7562	22.4028
	1:7	4	0.119	0.113	40.0707	37.9505
	1:9		0.105	0.1	35.1237	33.3569
	1:11		0.101	0.098	33.7102	32.6502
	1:7	6	0.227	0.219	78.2332	75.4064
	1:9		0.182	0.191	62.3322	65.5124
	1:11		0.18	0.174	61.6254	59.5053
Etil Asetat	1:7	2	0.097	0.089	32.2968	29.4700
	1:9		0.068	0.072	22.0495	23.4629
	1:11		0.061	0.065	19.5760	20.9894
	1:7	4	0.134	0.145	45.3710	49.2580
	1:9		0.072	0.086	23.4629	28.4099
	1:11		0.062	0.067	19.9293	21.6961
	1:7	6	0.16	0.149	54.5583	50.6714
	1:9		0.081	0.09	26.6431	29.8233
	1:11		0.068	0.07	22.0495	22.7562

Tabel 4. Hasil uji BSLT dan keaktifannya

Waktu Ekstraksi	Pelarut	Nisbah Bahan Baku: Pelarut	LC50 (ppm)	Keaktifan (Ya/Tidak)
6 Jam	Etanol 96%	1:7	38.6244	Ya
		1:9	48.9861	Ya
		1:11	55.4102	Ya
	Etil Asetat	1:7	68.5995	Ya
		1:9	110.1522	Ya
		1:11	157.3176	Ya

Menentukan Kondisi Operasi Optimum

Setelah dilakukan penelitian terhadap variabel yang telah ditentukan yaitu jenis pelarut, waktu operasi, dan nisbah bahan baku dengan pelarut maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Ditinjau dari jenis pelarut, etanol 96% lebih efektif dapat menyari senyawa *acetogenin* pada daun sirsak disebabkan etanol 96% merupakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang tinggi, sehingga dapat mengekstrak senyawa-senyawa polar dan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah yang terdapat dalam daun sirsak. Selain itu, pelarut etanol 96% memiliki kemurnian yang tinggi, semakin besar konsentrasi maka semakin tinggi selektivitas untuk melarutkan *acetogenin* yang terkandung dalam daun sirsak.

Ditinjau dari waktu operasi ekstraksi daun sirsak, waktu terbaik yang didapatkan pada penelitian ini adalah 6 jam. Hal ini disebabkan oleh waktu kontak antara bahan baku dengan pelarutnya semakin lama sehingga zat yang terdifusi jumlahnya akan lebih banyak. Apabila jumlah zat yang terdifusi semakin banyak maka akan menghasilkan yield yang lebih besar juga.

Ditinjau dari nisbah bahan baku dengan pelarut, nisbah 1:11 yang optimum. Hal tersebut dikarenakan penggunaan pelarut yang semakin banyak dapat membuat distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak antara bahan baku dengan pelarut dan meningkatkan perolehan hasil ekstraksi.

Ditinjau dari kadar *acetogenin* terbesar, diperoleh pada variasi pelarut etanol 96%, nisbah bahan baku dengan pelarut 1:7 dan waktu operasi 6 jam. Hal tersebut dikarenakan variabel tetap yang dilakukan pada penelitian ini adalah volume pelarut sebanyak 200 mL dan banyaknya sampel 22,54 gram dan pengukuran absorban berdasarkan banyaknya cahaya yang diserap oleh detector. Semakin kecil rasio bahan baku dengan pelarut, maka akan dihasilkan larutan yang lebih pekat dan menghasilkan konsentrasi yang lebih besar.

Dilihat dari hasil analisa dengan metode BSLT, seluruh sampel yang diekstraksi pada waktu operasi 6 jam seluruhnya aktif, sehingga sampel-sampel tersebut mengandung senyawa toksik. Sampel yang diekstraksi dengan etanol 96% bersifat paling aktif dibandingkan dengan sampel yang diekstraksi dengan etil asetat karena memiliki nilai LC_{50} yang lebih rendah, dan sampel yang menggunakan etanol 96% dengan nisbah bahan baku dengan pelarut 1:7 adalah yang paling aktif.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil ekstraksi daun sirsak dengan menggunakan metode sokletasi dapat disimpulkan bahwa pada kondisi operasi yang sama, pelarut dengan tingkat kepolaran lebih tinggi (etanol 96%) dapat mengekstrak *acetogenin* pada daun sirsak lebih banyak daripada pelarut dengan tingkat kepolaran lebih rendah (etil asetat), hal ini ditandai dengan tingginya % yield hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Nisbah bahan baku dengan pelarut 1:11 dengan pelarut etanol 96% memiliki % yield paling besar yaitu 33,98% sedangkan dengan pelarut etil asetat hanya memiliki % yield 16,75%. Waktu ekstraksi terbaik yang didapatkan pada penelitian ini adalah 6 jam. Hasil uji aktivitas toksisitas dengan metode BSLT ekstrak daun sirsak memiliki sifat toksisitas terhadap *Artemia saline Leach* dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan seluruh sampel mendapat nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm, dan yang paling aktif pada sampel dengan variasi: nisbah bahan baku dengan pelarut 1:7, pelarut etanol 96% , waktu ekstraksi 6 jam dengan nilai LC_{50} yaitu 38,62 ppm. Pelarut etanol 96% dengan waktu ekstraksi 6 jam dan nisbah bahan baku dengan pelarut 1:11 memberikan konsentrasi akhir terbesar yaitu 59,51 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Adjie S. 2011. Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Bermejo A, Figadere B, Zafra-Polo MC, Barrachina I, Estornell E, Cortes D. *Acetogenin from Annonaceae: Recent Progress in Isolation, Synthesis, and Mechanism of Action*. Nat. Prod. Rep., 2005, 22, 269-303.
- Ditjen POM. 1986. Sediaan Galenik. Jilid II. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Geankoplis CJ. 1993. *Transport Processes and Unit Operations*. 3rd ed. New Jersey: Prentice-Hall International Inc.
- Geum-soog Kim, Lu Zeng, Feras Alali, Lingling L. Rogers, Feng-E. Wu, Jerry L. McLaughlin, Soelaksono Sastrodihardjo. 1998. *Journal of Natural Product* 62: 432-436.
- Gorman, JST. 2006. *Transition Metal-Mediated Cyclizations and Synthesis of Annonaceous Acetogenin Analogs*. Doctor of Philosophy, University of Texas.

- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I dan II. Terj. Badan Litbang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat.
- Kim, Geum S, Lu Zeng, Alali F, Roger LL, Wu, Feng E, McLaughlin, Jerry L. 1998. *Phytochemistry*. Vol 49, No.2, pp 565-571.
- Mardiana L dan Ratnasari J. 2011. Ramuan dan Khasiat Sirsak. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Meyer BN, Ferrighi NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: *A convenient general bioassay for active plant constituents*. *Planta Medica*, 45: 31-34.
- Perry RH, Green D. 2008. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 8th ed. McGraw Hill Companies Inc: USA.
- Radi J. 1998. Sirsak Budidaya dan Pemanfaatannya. Bandung: Kanisius.
- Restuati M. 2013. Uji Efek Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Leukosit Tikus Putih (*Ratus norvegicus*), Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung., 93-96.
- Septiatin E. 2009. Apotek Hidup dari Tanaman Buah. Bandung: CV. Yrama Widya.
- Treybal RE. 1980. *Mass Transfer Operations*. McGraw-Hill Book Co: Singapore.
- Tjitrosoepomo G. 1994. Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Villo, Piret, Vares L, Toom L. 2008. *Synthesis of Acetogenin Analogues*. Master Thesis in Organic Chemistry, University of Tartu.
- Zuhud, Ervival AM. 2011. Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker. Jakarta Selatan: PT Agro Media Pustaka.