

**Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol**

***Optimization Extraction Process of Soursop Leaves (*Annona muricata L*) With MAE Methode (*Microwave Assisted Extraction*) by Antioxidant Activity and Total Phenol***

**Latifa Putri Aulia<sup>1a</sup> dan Simon Bambang Widjanarko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya ; Jl. Veteran Malang, Jawa Timur 65145

<sup>a</sup>Penulis Korespondensi Latifa Putri Aulia, Email : utee.poenya@gmail.com

(Diterima oleh Dewan Redaksi : 7 - 03 - 2018)

(Dipublikasikan oleh Dewan Redaksi : 14 - 04 - 2018)

**ABSTRACT**

Some research even found that in soursop leaf (*Annona muriciata L*) contain bioactive substance called acetogenin that act as anti cancer. Commonly extraction process used to extracting substance in the leaf is known as conventional extracting process which has flaws. Hence its need further research in term of extracting in which more optimal that is the usage of microwave (*Microwave Assisted Extraction / MAE*) MAE extraction is extracting process that using microwave radiation to heat the solvent quick and efficient. This research using CCD method from RSM (*Response Surface Methodology*) with 2 unbound variables that time extraction ( $X_1$ ) and solvent ratio ( $X_2$ ), and the result from this research is quadratic. The optimum point from each variable is the extracting time 9' and 84" with solvent ratio of 25.19 of ingredient that is simplicia powder of soursop leaf approximately 25gr. From the optimum point we can drawn that optimum condition of antioxidant activity respond is as much as 75.75% and phenol total content of 276.9 ppm.

**Key word:** soursop leaf, MAE, Response Surface Methodology.

**ABSTRAK**

Beberapa penelitian menemukan bahwa daun sirsak (*Annona muriciata L*) mengandung senyawa bersifat bioaktif yang dikenal dengan nama acetogenin yang berfungsi sebagai antikanker. Proses ekstraksi yang umum digunakan untuk mengekstrak biasanya menggunakan ekstraksi konvensional yang memiliki kekurangan, sehingga diperlukan penelitian tentang ekstraksi yang lebih optimal yaitu dengan menggunakan bantuan gelombang mikro (*Microwave Assisted Extraction/MAE*). Ekstraksi MAE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk memanaskan pelarut secara cepat dan efisien. Penelitian ini menggunakan metode rancangan CCD dari RSM (*Response Surface Methodology*) dengan 2 variabel bebas yaitu waktu ekstraksi ( $X_1$ ) dan rasio bahan pelarut ( $X_2$ ). Titik optimum dari masing-masing variabel adalah waktu ekstraksi 9 menit 84 detik dengan rasio bahan pelarut 25,19 dengan bahan baku berupa bubuk simplisia daun sirsak kering sebanyak 25 gram. Dari titik optimum tersebut diperoleh kondisi optimum untuk respon aktivitas antioksidan sebesar 75,75% dan nilai total fenol sebesar 276,9 ppm.

**Kata kunci :** daun sirsak, MAE, metodologi permukaan respon.

## PENDAHULUAN

Sirsak dengan nama latin *Annona muricata* linn, *Annona* adalah genus dari pohon buah-buahan tropis yang termasuk family *Annonaceaea* yang memiliki 119 spesies lainnya (Badrie, 2009). Daun sirsak mengandung senyawa aktif annonain, saponin, flavonoid, dan tanin. Bahkan daun sirsak juga mengandung sejumlah bahan kimia yang dipercaya sebagai senyawa bioaktif yang disebut *annonaceous acetogenins* (Rahima, 2011). Menurut Baskar (2006) yang melakukan penelitian *Annona squamosa*, *Annona reticulate*, dan *Annona muricata* mendapatkan hasil aktivitas antioksidan tertinggi pada *Annona muricata* yang diduga penyumbang terbesar berupa senyawa acetogenin. Selain itu juga, dalam daun sirsak terdapat senyawa flavonoid yang merupakan senyawa umum yang terdapat pada daun, akar dan batang tanaman. Senyawa flavonoid juga termasuk senyawa aktif yang dapat diukur melalui respon total fenol dan senyawa yang dapat menjadi penyumbang aktivitas antioksidan yang tinggi.

Menurut Haijun (2010), senyawa yang berada dalam daun sirsak adalah senyawa dengan kepolaran rendah dan pada suhu diatas 60°C dapat menyebabkan perubahan struktur, serta hasil ekstraksi rendah menggunakan pelarut organik dengan penggunaan ekstraksi metode konvensional (Zohar, 2005). Metode ekstraksi yang sedang berkembang baik dalam dunia riset maupun industri adalah *Microwave Assisted Extraction* (MAE), merupakan ekstraksi dengan bantuan energi gelombang mikro. Metode MAE dapat membantu meningkatkan jumlah rendemen ekstrak kasar dalam waktu ekstraksi dan jumlah pelarut yang lebih rendah dibanding dengan metode ekstraksi konvensional (Langat, 2011).

Penelitian sebelumnya menggunakan dakian tercuram dengan faktor waktu ekstraksi dan rasio volume pelarut, didapatkan peningkatan respon aktivitas antioksidan dan total fenol teramati

sepanjang 2 langkah dakian tercuram sementara pada langkah ke-3 terjadi penurunan respon dimana interval pada waktu ekstraksi sebesar 2 menit dan rasio bahan pelarut sebesar 1,74 (Asmarani, 2012). Berdasarkan hal tersebut, menurut Gazpers (1995) hasil dari dakian tercuram dapat digunakan untuk mencari daerah yang berada di sekitar kondisi operasi optimum guna merancang percobaan selanjutnya. Dengan demikian dapat ditentukan waktu ekstraksi dan rasio volume pelarut yang berada di sekitar daerah optimum untuk menentukan titik optimum yang diharapkan dapat memberikan kondisi optimum pada ekstraksi daun sirsak dengan metode MAE yang memiliki karakteristik terbaik.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Daun sirsak yang digunakan dalam penelitian adalah berasal dari Balai Pusat Penelitian Tanaman Obat, Bogor. Karakteristik daun sirsak yaitu, lebar daun ±11 cm dan berwarna hijau agak tua. Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kasar daun sirsak adalah etanol 96%, serta bubuk simplisia daun sirsak yang telah dikeringkan. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 96%, DPPH 0,2 mM (*diphenylpicrylhydrazyl*) dalam etanol, asam galat standar, aquades, reagen Folin-Ciocalteu, larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, larutan indigokarmin, KMnO<sub>4</sub> 0,1 N, kaolin powder, larutan gelatin, larutan garam asam dan, Na-oksalat.

### Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan simplisia daun sirsak adalah oven cabinet, ayakan 60 mesh, kuas, blender kering (National PBL-104), timbangan, plastik, dan karet.

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kasar daun sirsak adalah wadah plastik, neraca analitik (Mettler denver AA 200), labu ukur 100 ml (Pyrex), pipet tetes, oven gelombang mikro (AOWA 3399),

wadah tahan panas, kertas saring, gelas beaker 600 ml (Durham), gelas beaker 250 ml (Pyrex), corong, erlenmeyer 250 ml (Pyrex), plastik, karet, *rotary evaporator* (Butchi B-490), botol kecil, dan *aluminium foil*.

Alat yang digunakan dalam analisa adalah neraca analitik (Mettler denver AA 200), gelas arloji, spatula baja, gelas beaker 100 ml (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), pipet volume (HG), bola hisap (Merienfiel), tabung reaksi (Pyrex), labu ukur 50 ml (Pyrex), corong, tisu, plastik *wrap*, kertas label, kulkas (Toshiba), rak tabung kayu,

*aluminium foil*, kompor listrik, buret, statis kuvet, dan spektrofotometer UV-VIS (20 D Plus).

**Metode Penelitian**

Penelitian ini disusun dengan menggunakan metode rancangan CCD dari RSM (*Response Surface Methodology*). Rancangan yang digunakan pada metode permukaan respon, yaitu:

X<sub>1</sub>= Waktu Ekstraksi = 5; 9; dan 13 (menit)  
 X<sub>2</sub>= Rasio Bahan Pelarut = 20; 23,5; dan 27,5 (w/v)

Tabel 1. Variabel bebas dan pengkodean pada rancangan komposit pusat

No	Variabel Sebenarnya		Variabel Terkode	
	Waktu Ekstraksi (menit)	Rasio bahan pelarut (w/v)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1.	5	20	-1	-1
2.	13	20	1	-1
3.	5	27,5	-1	1
4.	13	27,5	1	1
5.	3,56	23,75	-1,414	0
6.	15,1	23,75	1,414	0
7.	9	18,45	0	-1,414
8.	9	29,05	0	1,414
9.	9	23,75	0	0
10.	9	23,75	0	0
11.	9	23,75	0	0
12.	9	23,75	0	0
13.	9	23,75	0	0

Analisa data dilakukan dengan software *Design Expert DX 7.0.0 (trial version)*, (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) menggunakan *Central Composite experimental Design* (CCD) *Response Surface Methodology* (RSM). Perbandingan ketepatan antara prediksi dan hasil penelitian dengan *analysis of variance*.

**Pelaksanaan Penelitian**

**Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirsak Kering**

Daun sirsak basah ditimbang sebanyak 1 kg kemudian dilakukan sortasi yang

bertujuan untuk menghilangkan bagian daun sirsak yang tidak segar, misalnya bagian yang sudah kering ataupun busuk. Kemudian dilakukan pencucian untuk menghilangkan debu dan kotoran pada permukaan daun sirsak. Daun sirsak yang telah bersih dimasukkan ke dalam oven kabinet untuk dikeringkan. Hal ini dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam daun sirsak yang berfungsi memperpanjang umur simpan. Pengeringan dilakukan selama ±3 jam, suhu 50°C. Berat keseluruhan daun sirsak setelah dikeringkan menjadi 680 gram. Daun sirsak yang telah kering kemudian dihancurkan dengan blender

selama  $\pm 4$  menit yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel daun sirsak. Kemudian diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh untuk memisahkan serbuk simplisia daun sirsak dengan serat daun sirsak. Dari hasil ayakan didapat 460 gram serbuk simplisia daun sirsak. Daun sirsak diubah sampai dalam bentuk serbuk bertujuan untuk memperluas area kontak partikel daun sirsak terhadap pelarut (etanol) dan radiasi gelombang mikro.

### Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Sirsak

Serbuk simplisia daun sirsak ditimbang sebanyak 20 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 600 ml. 400 ml Etanol 96% ditambahkan ke dalam serbuk simplisia daun sirsak, kemudian diaduk homogen. Larutan serbuk simplisia daun sirsak yang homogen dibagi ke dalam 4 *beaker glass* 250 ml, hal ini bertujuan agar proses radiasi dapat berjalan maksimal. Larutan serbuk simplisia daun sirsak yang telah siap dimasukkan ke dalam *microwave* untuk dilakukan proses radiasi dengan gelombang mikro selama 5 menit dan daya 80 watt. Larutan serbuk simplisia daun sirsak disaring dengan kertas saring. Kemudian endapan dan filtrat dipisahkan. Filtrat daun sirsak kemudian dilakukan proses evaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan tekanan 125mBar dan suhu 50°C. Dari hasil proses evaporasi didapatkan ekstrak kasar daun sirsak dalam bentuk kental. Ekstrak kasar daun sirsak yang kental kemudian disemprot dengan gas nitrogen sampai berat ekstrak kasar daun sirsak menjadi konstan.

### Pengujian dan Analisa

Pengujian dan analisis dilakukan pada ekstrak kasar daun sirsak. Pengujian yang dilakukan terhadap ekstrak kasar daun sirsak adalah Total Fenol (Sharman, 2011) dan Aktivitas Antioksidan (Baskar, 2006). Setelah didapatkan nilai dari parameter mutu yang merupakan respon dalam penelitian ini, dilakukan analisa data menggunakan program *Design Expert DX 7.0.0 (trial version)* untuk mendapatkan kondisi optimum dari kedua respon tersebut.

### Verifikasi Hasil Optimasi

Verifikasi merupakan tindakan pengecekan apakah hasil dari perhitungan kombinasi perlakuan dari kedua variabel yang optimum dapat memberikan hasil respon aktivitas antioksidan dan total fenol yang optimum juga. Hasil proses optimum selanjutnya diverifikasi dengan hasil perhitungan berdasarkan persamaan model yang telah ada.

### Analisa Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik dilakukan Analisa Kadar Air (AOAC, 1984), Rendemen (Sudarmadji, dkk. 1984), Tanin (Metode Loenthal-Procter), Total Fenolat (Sharman, 2011), dan Aktivitas Antioksidan DPPH (Baskar, 2006).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan program *Design-Expert DX 7.0.0 (Trial)* untuk pengolahan data statistik.

Tabel 2. Data respon aktivitas antioksidan dan total fenol dari rancangan komposit pusat

No	Variabel Sebenarnya		Variabel Terkode		Respon	
	Waktu Ekstraksi (menit)	Rasio bahan pelarut (w/v)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>1</sub> Aktivitas Antioksidan (%)	Y <sub>2</sub> Total Fenol (ppm)
1.	5	20	-1	-1	75,6	238,7
2.	13	20	1	-1	62,4	157,4

3.	5	27,5	-1	1	69,7	167,8
4.	13	27,5	1	1	76,2	243,8
5.	3.56	23,75	-1,414	0	66,6	196,9
6.	15.1	23,75	1,414	0	68,9	202,5
7.	9	18,45	0	-1,414	70,8	246,7
8.	9	29,05	0	1,414	74,3	281,0
9.	9	23,75	0	0	68,9	282,4
10.	9	23,75	0	0	76,0	286,7
11.	9	23,75	0	0	76,4	266,9
12.	9	23,75	0	0	78,3	284,3
13.	9	23,75	0	0	76,8	279,3

**Pemilihan Model Respon Aktivitas Antioksidan**

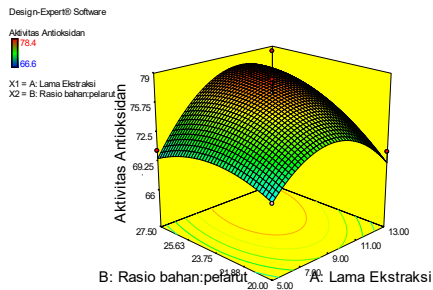
Tabel 3. Analisa pemilihan model kuadrat respon aktivitas antioksidan

Sumber	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob>F	Keterangan
Model	<u>129,42</u>	<u>2</u>	<u>64,71</u>	<u>25,01</u>	<u>0,0006</u>	<i>Suggested</i>
<i>Lack of Fit</i>	<u>14,25</u>	<u>3</u>	<u>4,75</u>	<u>4,91</u>	<u>0,0791</u>	<i>Suggested</i>
A-Waktu Ekstraksi	17,56	1	17,56	6,79	0,0352	Signifikan
B-Rasio bahan pelarut	23,63	1	23,63	9,13	0,0193	Signifikan Tidak
AB	12,96	1	12,96	5,01	0,0603	Signifikan

Standart Deviasi = 1,61  
R<sup>2</sup> = 0,9102  
R<sup>2</sup> Adjusted = 0,8460  
PRESS = 107,36

Berdasarkan Tabel 3. model yang cocok untuk respon aktivitas antioksidan adalah model kuadrat dengan nilai nilai p sebesar 0, 0006 (0,06%), yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5%, atau berarti model kuadratik memiliki pengaruh yang nyata (signifikan) terhadap respon aktivitas antioksidan. Nilai *lack of fit* model kuadratik memiliki nilai p 0,0791 (0,791%), yang menunjukkan model ini tidak berbeda nyata pada nilai p>5%. Model kuadratik memiliki standar deviasi sebesar 1,61 dengan nilai *adjusted R<sup>2</sup>* sebesar 0,9102 dan *predicted R<sup>2</sup>* sebesar 0,8460 yang hamper mendekati 1. Selain itu nilai PRESS yang dimiliki oleh model kuadratik sebesar 107,36. Persamaan polinomial yang

diperoleh  $Y = 77,08 + 1,48X_1 + 1,72 X_1 + 1,80X_1X_2 - 4,14 X_1^2 - 1,74 X_2^2$ . Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon aktivitas antioksidan yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlukan berbeda. Persamaan tersebut, koefisien  $X_1^2$  dan  $X_2^2$  bernilai negatif, yang mengindikasikan adanya titik stasioner maksimum dari permukaan respon. Nilai negatif pada koefisien variabel kuadrat yaitu  $X_1^2$  dan  $X_2^2$  menunjukkan bahwa pola kuadratik yang didapatkan adalah maksimum dengan bentuk grafik parabola yang terbuka ke bawah.



Gambar 1. Grafik interaksi variabel waktu ekstraksi dan rasio volume pelarut terhadap respon aktivitas antioksidan

Kurva tiga dimensi ini menunjukkan adanya hubungan antara waktu ekstraksi dan rasio bahan pelarut terhadap aktivitas antioksidan. Pada kurva permukaan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan akan semakin tinggi pada daerah warna merah dan semakin rendah pada daerah warna biru muda. Grafik tiga dimensi ini bisa dilihat pada bentuk kontur plot setelah dilakukan irisan melintang pada grafik tersebut.

Gambar 1. dapat dilihat bahwa grafik respon aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin banyak senyawa target yang dapat terekstrak dengan etanol dan MAE. Sedangkan, peningkatan waktu ekstraksi melebihi waktu ekstraksi optimal akan menyebabkan aktivitas antioksidan menurun. Ekstraksi dengan metode MAE merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro, energi ini menyebabkan adanya panas yang berakibat suhu akan meningkat. Pemanasan akibat gelombang mikro akan menyebabkan dinding sel hancur, sehingga senyawa target akan terekstrak keluar dan dapat berdifusi ke pelarut. Waktu ekstraksi yang semakin lama semakin meningkat akan menyebabkan pemanasan pada sel-sel daun sirsak akan meningkat dimana suhu ekstraksi akan terus meningkat, hal ini akan mempengaruhi senyawa target khususnya senyawa aktif akan terdegradasi oleh panas tersebut. Senyawa aktif akan larut dalam pelarut, akan

tetapi senyawa aktif akan teroksidasi, sehingga pada analisa pengaruh aktivitas senyawa target akan menurun (Mandal, 2007). Disimpulkan bahwa pemanasan yang berlebih akan menyebabkan sel terdegradasi, sehingga aktivitas antioksidan akan menurun.

Menurut Baskar (2007) yang melakukan studi aktivitas antioksidan in vitro pada daun spesies *Annona* yaitu *A. squamosal*, *A. reticulata* dan *A. muricata* menyatakan bahwa *A. muricata* memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibanding spesies *Annona* lainnya, yang dimungkinkan akan adanya kehadiran acetogenin dalam daun sirsak yang bereaksi dengan DPPH menyebabkan aktivitas antioksidan yang terukur menjadi tinggi. Hasil ekstraksi *A. muricata* dengan etanol 50% kemudian dilakukan analisa GC-MS dapat diketahui senyawa alkaloid dalam daun sirsak (Mohanty, 2008).

Gambar 1 juga menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan meningkatnya rasio bahan pelarut. Semakin banyak jumlah rasio bahan pelarut etanol yang digunakan, maka semakin banyak juga senyawa target yang terlarut dalam etanol. Akan tetapi, jumlah rasio bahan pelarut yang berlebihan kurang efisien terhadap proses ekstraksi daun sirsak. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 1, yang menunjukkan bahwa peningkatan rasio bahan pelarut diatas titik respon optimal menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan. Rasio bahan pelarut juga faktor kritis dalam proses ekstraksi. Prinsip utamanya adalah volume pelarut harus mencukupi untuk memastikan bahwa bahan telah tercelup seluruhnya ke dalam pelarut selama proses iradiasi. Secara umum, rasio bahan pelarut terhadap matriks padatan yang lebih rendah lebih efektif pada metode ekstraksi konvensional. Sebaliknya, rasio yang tinggi akan menurunkan rendemen ekstrak karena diperlukan proses pengadukan (*stirring*) pelarut terhadap gelombang mikro. Penelitian-penelitian sebelumnya melaporkan bahwa jumlah bahan dan volume pelarut yang dipakai

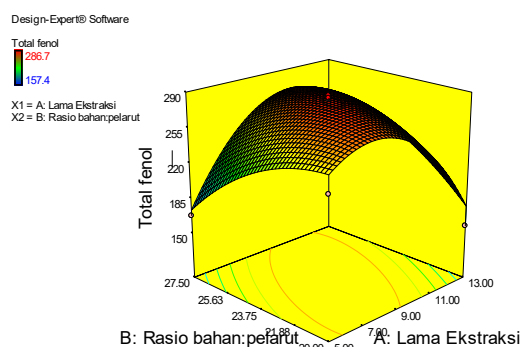
dalam ekstraksi MAE berkisar antara miligram dan mililiter (dalam skala laboratorium) dengan aplikasi rasio optimum 10:1 (ml/mg) hingga 20:1 (ml/mg). Efisiensi pemanasan pelarut oleh gelombang mikro juga perlu diperhatikan karena akan mempengaruhi tingkat evaporasi pelarut (Mandal, 2007).

### Pemilihan Model Respon Total Fenol

Tabel 4. Analisa pemilihan model kuadrat respon total fenol

Sumber	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob>F	Keterangan
	<u>17363,3</u>					
Model	<u>6</u>	<u>2</u>	<u>8681,68</u>	<u>36,71</u>	<u>0,0002</u>	<u>Suggested</u>
Lack of Fit	<u>1648,92</u>	<u>3</u>	<u>549,64</u>	<u>70,69</u>	<u>0,0006</u>	<u>Suggested</u>
A-Waktu ekstraksi				3,824E		Tidak
Ekstraksi	0,92	1	0,92	-003	0,9524	Signifikan
B-Rasio bahan pelarut						Tidak
AB	21,05	1	21,05	0,088	0,7757	Signifikan
Standart Deviasi = 15,49	6192,90	1	6192,90	25,80	0,0014	Signifikan
R <sup>2</sup> = 0,9335						
R <sup>2</sup> Adjusted = 0,8869						
PRESS = 11774,27						

Berdasarkan Tabel 4. model yang cocok untuk respon aktivitas antioksidan adalah model kuadrat dengan nilai nilai p sebesar 0,0002 (0,02%), yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5%, atau berarti model kuadrat memiliki pengaruh yang nyata (signifikan) terhadap respon aktivitas antioksidan. Nilai *lack of fit* model kuadrat memiliki nilai p 0,0006 (0,06%), yang menunjukkan model ini berbeda nyata pada nilai p<5%. Model kuadrat memiliki standar deviasi sebesar 15,49 dengan nilai *adjusted* R<sup>2</sup> sebesar 0,9335 dan *predicted* R<sup>2</sup> sebesar 0,8869 yang hamper mendekati 1. Selain itu nilai PRESS yang dimiliki oleh model kuadrat sebesar 11774,24. Persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = 282,80 + 0,34X_1 - 1,62 X_1 + 39,35X_1X_2 - 48,13 X_1^2 - 19,58 X_2^2$ .



Gambar 2. Grafik interaksi variabel waktu ekstraksi dan rasio rasio pelarut terhadap respon total fenol

Gambar 2 dapat dilihat bahwa grafik respon total fenol meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin banyak senyawa target yang dapat terekstrak dengan etanol dan MAE. Begitu pula, peningkatan waktu ekstraksi melebihi waktu ekstraksi optimal akan menyebabkan total fenol menurun. Pemanasan dengan gelombang mikro akan menyebabkan suhu

ekstraksi terus meningkat seiring dengan bertambahnya waktu ekstraksi yang akan menyebabkan terdegradasinya senyawa fenol. Gelombang mikro juga dapat mengurangi aktivitas enzimatis yang dapat merusak senyawa yang di ekstrak, panas yang dihasilkan oleh gelombang mikro akan menghambat aktivitas enzim fenolase (Salas, 2010). Rostagno (2007) mengekstrak isoflavon pada tepung kedelai menggunakan etanol 50% pada suhu 50°C. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai rendemen optimum adalah 20 menit. Hal ini sesuai dengan penelitian total fenol pada ekstrak kasar daun jati (Chyntia, 2012) menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi akan menghasilkan total fenol yang rendah.

Pada Gambar 2 juga ditunjukkan bahwa peningkatan total fenol meningkat seiring dengan meningkatnya rasio bahan pelarut. Semakin banyak jumlah rasio bahan pelarut

etanol yang digunakan, maka semakin banyak juga senyawa target yang terlarut dalam etanol. Sedangkan, peningkatan rasio bahan pelarut di atas titik respon optimal menyebabkan penurunan total fenol. Prinsip utamanya adalah rasio volume pelarut harus mencukupi untuk memastikan bahwa bahan telah tercelup seluruhnya ke dalam pelarut selama proses radiasi.

### Titik Optimum Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol

Keakuratan model juga dapat diketahui dari perbandingan nilai aktual penelitian dengan prediksi dari model. Hasil prediksi produksi etanol oleh model pada kondisi optimum selanjutnya diverifikasi dengan melakukan pengujian secara empiris pada uji kondisi optimum.

Tabel 5. Solusi titik optimum terpilih hasil perhitungan *design expert*

	Waktu Ekstraksi (menit, detik)	Rasio bahan Pelarut	Aktivitas Antioksidan (%)	Total Fenol (ppm)	<i>Desirability</i>	Ket.
Prediksi	9,84	1:25,19	77,75	280,41	0,948	<i>Selected</i>
Verifikasi	9,84	1:25,19	75,94	276,9	-	-
Tingkat ketepatan (%)			97,67	92,65	-	-

Berdasarkan perhitungan analisa penelitian, didapatkan nilai respon aktivitas antioksidan sebesar 75,94%, sedangkan dari perhitungan *Design Expert* sebesar 77,75%. Nilai respon total fenol dari analisa penelitian didapatkan sebesar 276,9 ppm, sedangkan dari perhitungan *Design Expert* sebesar 280,41 ppm. Perbedaan nilai respon aktivitas antioksidan hasil verifikasi dengan perhitungan *Design Expert* sebesar 2,33%, sedangkan untuk respon total perbedaannya sebesar 7,35%. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan tersebut dapat disebabkan karena hal-hal teknis pada saat penelitian seperti larutan yang digunakan untuk analisa aktivitas antioksidan adalah DPPH yang peka terhadap lingkungan seperti cahaya, sehingga cukup membuat pembacaan spektro berubah. Akan tetapi,

persentase perbedaan nilai masing-masing respon tidak terlalu besar dan nilai hasil verifikasi hampir mendekati perhitungan *Design Expert*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wu *et al.*, (2006) bahwasannya perbedaan nilai prediksi dengan nilai penelitian tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat untuk proses ekstraksi, dengan demikian selisih nilai tidak terlalu signifikan dan solusi variabel bebas yang diberikan oleh *Design Expert* dapat diterima. Perbedaan respon total fenol analisa dengan *Design Expert* diatas 5%, hal ini dikarenakan pada saat analisa, yang terbaca tidak hanya senyawa fenol, terdapat senyawa pengganggu yang berinteraksi dengan senyawa folin, sehingga dapat mengganggu analisa.



## KESIMPULAN

1. Kondisi optimum proses ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata L*) dengan metode MAE (Microwave Assisted Extraction) menghasilkan aktitas antioksidan 71,21% dan total fenol 227,9 ppm.
2. Respon aktivitas antioksidan yang diperoleh bersifat kuadratik dengan persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = 77,08 + 1,48X_1 + 1,72 X_1 + 1,80X_1X_2 - 4,14 X_1^2 - 1,74 X_2^2$ .
3. Respon total fenol yang diperoleh juga kuadratik dengan persamaan polinomial yang diperoleh  $Y = 282,80 + 0,34X_1 - 1,62 X_1 + 39,35X_1X_2 - 48,13 X_1^2 - 19,58 X_2^2$ .
4. Titik optimum untuk tiap variabel dengan aktivitas antioksidan dan total fenol optimum yaitu variabel waktu ekstraksi adalah 9,84 menit dengan rasio bahan pelarut 25,19(v/w).
5. Selisih nilai verifikasi antara desain dan penelitian adalah 2,33% untuk aktivitas antioksidan dan 7,35% untuk nilai total fenol.

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analysis Chemistry. Washington.
- Badrie, A. 2009. Soursop (*Annona muricata L.*): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology. Oxford. Academic Press. 621-643.
- Baskar R., Rajeswari V., dan Kumar TS. 2006. In Vitro Antioxidant Studies in Leaves of *Annona* Species. *Indian J Exp Biol.* 45. 5-480.
- Chyntia. 2012. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kasar Daun Jati Metode MAE Terhadap *E. Coli* Dan *S. Aureus* (Kajian Waktu Ekstraksi dan Kajian Pelarut : Bahan). Skripsi. Teknologi Hasil Pertanian. UB.
- Haijun Y., Ning Z., Qingqi Z., Qiping Y., Shihuai K., dan Xiang Li. 2010. HPLC Method for the Simultaneous Determination of Ten Annonaceous Acetogenins after Supercritical Fluid CO<sub>2</sub> Extraction. *International journal of Biomedical science*
- Langat, M. K. 2011. Chemical Constituents of East European Forest Species. In A. f. Standards, Book of Extended Extracts. Kenya: Napreca. 77-78.
- Mandal, V. 2007. Microwave Assisted Extraction - An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews.* 1 (1). 7-18.
- Mohanty, S., Hollinshead, J., Jones, L., Jones, P. W., Thomas, D., dan Watson, A. A. 2008. *Annona muricata* (Graviola): Toxic or Therapeutic. *Natural Product Communications.* 3. 31-33.
- Rahima, E. 2011. Menyembuhkan Kanker Dengan Daun Sirsak. Yogyakarta: Arta Pustaka.
- Rostagno, M.A., Palma, M., dan Barroso, C.G. 2007. Microwave Assisted Extraction of Soy Isoflavones. *Analytica Chimica Acta.* 588. 274-282.
- Salas, P. G. 2010. Phenolic- Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Moleculer.* 15. 8813-8826.
- Sharma, G. N. 2011. Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in *Aegle marmelos seed*. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2 (3). 27-29
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta. Liberty
- Wu M., Ding H., Wang, S., dan Xu, S. 2006. Optimizing Conditions for the Purification of Linoleic Acid from Sunflower Oil by Urea Complex Fractionation. *J Am Oil Chem Soc.* 85. 677-684.
- Zohar K., Hilla G., dan Oded Y 2005. Microwave- Assisted Extraction of Bioactive Saponins from Chickpea (*Cicer arietinum L*). *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric.* 85. 406-412.