

Aktivitas Antioksidan Buah Sawo Manila (*Manilkara zapota L*) Sebagai Kandidat Produk Perawatan Kulit

Muhlisun Azim, M.Sc¹, Dani Saputra¹, Puspawan Hariadi, M.Farm¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Hamzanwadi

*Corresponding author: Muhlisun Azim email : muhlisun.azim92@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas yang akan menyerang dinding sel. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada buah sawo manila (*Manilkara zapota L*). Senyawa antioksidan yang ditemukan pada buah sawo manila adalah senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Desain penelitian ini menggunakan desain eksperimental di laboratorium farmasi Universitas Hamzanwadi. Sampel diekstraksi dengan etanol 96%, dilanjutkan dengan proses fraksinasi menggunakan kolom kromatografi. Eluen yang digunakan pada proses fraksinasi yaitu etil asetat, etil asetat-metanol, dan metanol. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil pengujian secara kualitatif menunjukkan semua sampel mengandung antioksidan karena terlihat warna kuning ketika disemprotkan DPPH pada plat KLT. Sedangkan hasil pengujian secara kuantitatif menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ fraksi I 46 ppm dengan kategori sangat kuat, nilai IC₅₀ fraksi II 97 ppm dengan kategori kuat, nilai IC₅₀ fraksi III 149 ppm dengan kategori sedang, dan nilai IC₅₀ vitamin C 29 ppm dengan kategori sangat kuat. Kesimpulannya yaitu fraksi buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat, kuat dan sedang.

Kata kunci : Antioksidan, Buah Sawo Manila, DPPH, Fraksinasi

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can prevent the formation of free radicals that will attack cell walls. This study was conducted to determine the antioxidant activity of manila sapodilla fruit (*Manilkara zapota L*). The antioxidant compounds found in the sapodilla manila fruit are alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. The design of this study used an experimental design in the pharmaceutical laboratory of Hamzanwadi University. The sample was extracted with 96% ethanol, followed by a fractionation process using a chromatographic column. The eluents used in the fractionation process are ethyl acetate, ethyl acetate-methanol, and methanol. Testing of antioxidant activity was carried out qualitatively and quantitatively. The results of the qualitative test showed that all samples contained antioxidants because they looked yellow when DPPH was sprayed on the TLC plate. While the quantitative test results showed that the IC₅₀ value of fraction I was 46 ppm in the very strong category, the IC₅₀ value for fraction II was 97 ppm in the strong category, the IC₅₀ value for fraction III was 149 ppm in the medium category, and the IC₅₀ value for vitamin C was 29 ppm in the very strong category. The conclusion is that the manila sapodilla fruit fraction (*Manilkara zapota L*) has antioxidant activity with very strong, strong and medium categories.

Keywords : Antioxidant, Manila Sapodilla Fruit, DPPH, Fractionation

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron atau senyawa-senyawa yang dapat menahan radikal bebas yang akan menyerang sel DNA, menghambat dan mengatasi berbagai jenis penyakit kronis yang diakibatkan oleh radikal bebas. Selain itu, antioksidan akan memberikan elektron ke radikal bebas yang kekurangan elektron agar tidak merusak sel DNA (Cahyani., 2017; Dini, 2015; Rachmawati *et al.*, 2014). Antioksidan bisa didapatkan dari bahan-bahan alam yang dimanfaatkan sebagai obat herbal (Hasanah *et al.*, 2017).

Pengobatan yang dilakukan secara tradisional sebagian besar menggunakan bahan dari tumbuh-tumbuhan, baik dari akar, kulit kayu, kayu, daun, bunga maupun biji. Selain itu, ada juga yang didapat dari organ makhluk hidup dan bahan mineral (Mangela *et al.*, 2016). Salah satu tanaman yang dapat diolah menjadi obat alami adalah sawo manila (*Manilkara zapota L.*). Sawo manila (*Manilkara zapota L.*) merupakan tanaman yang banyak dikembangkan di Indonesia. Bagian tumbuhan yang belum mendapat perhatian pemanfaatannya adalah daun sawo manila (*Manilkara zapota L.*). Secara pengamatan daun sawo manila (*Manilkara zapota L.*) dapat dimanfaatkan sebagai obat efektif untuk menurunkan demam, sekarat, luka-luka, sakit perut kembung, dan bisul (Yunika *et al.*, 2017) dengan membuat rebusan atau air rendaman daun sawo manila (*Manilkara zapota L.*) sebagai obat diare (Mufti *et al.*, 2017). Sawo Manila (*Manilkara zapota L.*) juga dikenal sebagai sumber penguatan sel yang kaya nutrisi (Rahman *et al.*, 2016).

Sawo Manila (*Manilkara zapota*) memiliki manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antidiabetes, hepatoprotektor, dan antibakteri (Jaenudin., 2019). Sawo Manila (*Manilkara zapota*) sangat bermanfaat sebagai bahan baku lokal untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang bernilai tinggi. Senyawa anti inflamasi ini dapat membantu memperbaiki kondisi saluran pencernaan melalui pencegahan penyakit seperti esofagitis, radang usus, sindrom iritasi usus besar dan gastritis. Sawo manila ini juga memiliki metabolit sekunder dan berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, dan antijamur (Mushollaeni *et al.*, 2018).

Pemanfaatan buah sawo manila (*Manilkara zapota*) oleh masyarakat lombok masih kurang optimal meskipun produksinya cukup banyak (Mushollaeni *et al.*, 2018). Sebagian besar pemanfaatan buah sawo manila sebagai jus buah (Ananto, 2017; Jaenudin., 2019; Widiyastuti *et al.*, 2019). Selain dimanfaatkan sebagai bahan minuman, buah sawo manila dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat demam dan penyakit pencernaan (Widiyastuti *et al.*, 2019).

Hasil skrining fitokimia buah sawo manila (*Manilkara zapota L.*) karena adanya kandungan senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Efektivitas kandungan kimia tersebut sebagai bahan obat dari alam dapat ditentukan melalui analisis awal yaitu skrining metabolit sekunder. Berdasarkan potensi yang dimiliki oleh buah sawo manila (*Manilkara zapota L.*) maka, pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidanfraksi etil asetat, fraksi etil asetat + metanol, dan fraksi metanol buah sawo manila (*Manilkara zapota L.*). Metode uji antioksidan yang digunakan adalah DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan untuk menentukan nilai IC₅₀ pada buah sawo manila (*Manilkara zapota L.*) (R. Hamidi *et al.*, 2014).

METODELOGI

Bahan Dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah chamber, beaker gelas, pipet tetes, timbangan analitik, batang pengaduk, erlenmeyer, rotary evaporator, waterbath, buret, kertas saring, pengayak mesh, pensil, mistar, plat tetes, penangas air, gelas vial, mortir, oven, corong gelas, tabung reaksi, gelas ukur, oven, sudip, Spektrofotometri 1800 shimidzu dan plat KLT.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah sawo manila (*Manilkara zapota L.*), aquades, n-heksan, etil asetat, methanol, etanol 96%, asam klorida 2N, asam asetat, asam sulfat, pereaksi dragendrof, pereaksi meyer, FeCl₃1%, kertas saring, ammonia encer, HCl 2N, DPPH, silika gel, plat KLT, vitamin C dan kapas.

Metode

Pengolahan Sampel

Pengumpulan sampel buah sawo manila (*Manilkara zapota*) yang diperoleh dari Desa Santong, Kecamatan Terara, Lombok Timur. Selanjutnya melakukan detemisasi tumbuhan, determinasi dilakukan untuk mengetahui secara pasti sampel yang akan digunakan dalam penelitian (Sakinah., 2017).

Buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) yang telah diperoleh dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir dilakukan perajangan pada buah sawo. Kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari yang ditutupi dengan kain hitam. Setelah itu dilakukan penghalusan buah sawo yang sudah kering sampai menjadi serbuk simplisia (Roosmarinto., 2016).

Penelitian ini menggunakan ekstraksi sederhana yaitu maserasi. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan masing-masing 1:2 dengan berat serbuk simplisia 500 gram selama 3x24 jam dan sesekali diaduk. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring menggunakan kertas saring dan filtrat hasil saringan tersebut diuapkan pada suhu 58⁰C menggunakan *rotary evaporator*. Dikarenakan titik didih etanol 75⁰C maka dilakukan penguapan menggunakan suhu dibawah titik didih pelarut supaya senyawa aktif dari buah sawo manila tidak rusak oleh suhu yang tinggi (Dini., 2015; Salampe *et al.*, 2019).

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak di larutkan dengan pelarut aquades kemudian di teteskan pereaksi meyer sebanyak 3-5 tetes, ada atau tidak endapan sedangkan hasil pereaksi dragendrof terdapat endapan kuning kecoklatan (Jaenudin., 2019).

Uji Flavonoid

Ekstrak buah sawo ditambahkan dengan 10 ml air panas dan disaring dalam keadaan panas. Kemudian ambil filtrat 5 ml dan masukkan ke dalam tabung reaksi, 1 ml asam klorida pekat setelah itu dikocok dan biarkan memisah. Hasilnya positif menunjukkan adanya warna merah, kuning atau jingga (Jaenudin., 2019).

Uji Tanin

Ambil ekstrak buah sawo manila yang sudah dilarutkan secukupnya kemudian masukkan ke dalam plat tetes dan tambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃. Hasilnya positif menunjukkan adanya warna hitam kebiruan (Jaenudin., 2019).

Uji Saponin

Ambil ekstrak buah sawo manila yang sudah dilarutkan secukupnya kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 5 ml aquades panas. Hasilnya positif menunjukkan adanya busa yang terbentuk dengan tinggi 1-10 cm selama kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N (Jaenudin., 2019).

Kromatografi Kolom

Isolasi ekstrak buah sawo manila dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan tabung kolom sepanjang 50 cm dan diameter 2,5 cm. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 sebanyak 46 g dan tinggi 23 cm dan tingkatan pelarut mulai dari etil asetat, etil asetat + metanol, dan metanol. Kolom diisi dengan silika gel yang telah dicampurkan dengan eluen. Kemudian eluen ditambah dan ekstrak kental dimasukkan secara merata perlahan-lahan. Selanjutnya perlahan-lahan keran pada kolom dibuka untuk memulai proses elusi dan eluen yang semakin berkurang ditambahkan kembali sedikit demi sedikit agar fase diam tidak mengering dan proses elusi tetap berlangsung. Isolat

hasil elusi yang keluar dari keran ditampung menggunakan botol fial sehingga diperoleh beberapa fraksi isolat. Hasil isolasi ini kemudian di analisis kembali menggunakan KLT untuk digabungkan kembali jika diperoleh pola noda tunggal dan faktor retensi (R_f) yang sama. Setelah digabungkan. Setelah itu isolat yang telah mengandung senyawa murni flavonoid diidentifikasi dan di uji aktivitas antioksidannya.

Kromatografi Lapis Tipis

Kemudian hasil fraksi yang didapatkan di uji kualitatif menggunakan KLT. Teknik pemisahan dan pemurnian secara kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk memperoleh fase gerak yang sesuai sehingga dapat memisahkan senyawa-senyawa pada sampel, dengan melihat nilai R_f . Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF254. Penotolan pada KLT, sebelum melakukan penotolan pada KLT terlebih dahulu mengaktifkan plat KLT menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit dengan ukuran plat KLT 5 x 10 cm, tandai batas atas dan bawah masing-masing 1 cm. Setelah itu, plat KLT di bagian belakang ditempelkan benang agar memudahkan masuk ke dalam chamber. Hasil fraksi yang didapatkan di totolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler masing-masing 30 µl pada jarak 2 cm antar sampel, kemudian dibiarkan mengering. Fase gerak yang digunakan yaitu metanol: kloroform (2: 10) sebanyak 12 mL. Setelah mengering sinari plat KLT dengan menggunakan lampu UV 254 nm dan dihitung nilai R_f pada masing-masing sampel (Mushollaeni *et al.*, 2018).

R_f dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{pergerakan noda}}{\text{pergerakan eluen}}$$

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Suatu radikal bebas yang stabil yang tidak membentuk dimer yang diakibatkan oleh delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul yang disebut dengan DPPH. Delokalisasi elektron bebas mengakibatkan terbentuknya warna ungu pada larutan DPPH (Erlidawati dan safrida., 2018). Uji aktivitas antioksidan menggunakan plat KLT yang sudah di totolkan sampel. Kemudian penotolan menggunakan DPPH 500 ppm dalam etanol sebagai penampak bercak (Budiana., 2019).

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Pembuatan larutan

Hasil fraksinasi dari buah sawo manila (*Manilkara zapota* L.) ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol 96% kedalam labu ukur 10 ml, dicukupkan volumenya dengan etanol 96% sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (larutan induk). Dari larutan induk dipipet sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, dan 0,8 ml lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dicukupkan volumenya sampai tanda batas. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.

Pembuatan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) µM

Pembuatan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) Ditimbang DPPH sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan etanol 96%, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, dicukupkan volumenya dengan etanol sampai tanda batas, kemudian dimasukkan kedalam botol gelap.

Pembuatan panjang gelombang maksimum DPPH

Dari larutan baku DPPH yang telah dibuat, selanjutnya ukur panjang gelombang maksimum DPPH mulai dari 400 nm-600 nm.

Pembuatan bahan larutan pembanding vitamin C

Ditimbang vitamin C sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan 100 ml etanol 96% kedalam labu ukur 100 ml dicukupkan volumenya dengan etanol 96% sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Masing-masing larutan stok dipipet sebanyak 2 ml, 4 ml, 6 ml, dan 8 ml. Lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dicukupkan volumenya dengan etanol hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.

Pengujian kadar aktivitas antioksidan

Pengujian dilakukan dengan memipet 1,0 ml larutan sampel dan larutan baku vitamin C dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 2,0 ml DPPH 1000 ppm. Dari campuran tersebut kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit ditempat gelap. Lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Untuk menentukan aktivitas antioksidan, masing-masing sampel dengan berbagai konsentrasi dipipet sebanyak 0,2 ml dengan pipet mikro dan masukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan 3,8 ml larutan DPPH. Kocok campuran hingga homogen dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, ukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH (Sayuti *et al.*, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Skrining fitokimia



Gambar 1. Uji Flavonoid

Hasil skrining fitokimia uji flavonoid menunjukkan adanya perubahan warna merah sehingga positif mengandung senyawa flavonoid



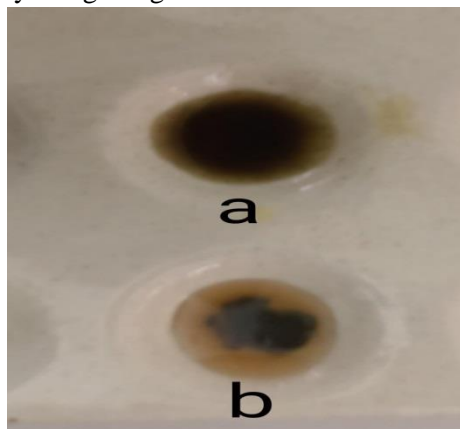
Gambar 2. Uji saponin

Hasil skrining fitokimia uji saponin menunjukkan adanya busa yang tidak menghilang setelah di campurkan asam klorida selama 5 menit sehingga positif mengandung senyawa golongan saponin



Gambar 3. Uji tanin

Hasil skrining fitokimia uji tanin menunjukkan adanya perubahan warna hitam kebiruan sehingga positif mengandung senyawa golongan tanin



Gambar 4. Uji alkaloid

- Hasil skrining fitokimia uji alkaloid dengan pereaksi meyer menunjukkan adanya endapan sehingga positif mengandung senyawa golongan alkaloid.
- Hasil skrining fitokimia uji alkaloid dengan pereaksi meyer menunjukkan adanya endapan kuning kecoklatan sehingga positif mengandung senyawa golongan alkaloid.

Analisis skrining fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung dalam buah sawo manila (*Manilkara zapota L*). Hasil analisis skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Positif	Pereaksi meyer: Ada endapan Preaksi dragendrof: Ada endapan kuning
Flavonoid	Positif	Berwarna merah
Tanin	Positif	Berwarna Cokelat
saponin	Positif	Tinggi busanya 2 cm selama 5 menit dan busanya tidak hilang pada saat penambahan HCL

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada simplisia buah sawo manila (*Manilkara zapota L*). Skrining fitokimia dilakukan pada golongan senyawa alkaloid, Flavonoid, tanin, dan saponin. Golongan senyawa tertentu diperoleh buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin dapat dilihat pada tabel 1. Hasil tersebut sama dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan buah sawo manila

(*Manilkara zapota L*) mengandung Alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Ariyani., 2015). Penelitian sebelumnya juga mengatakan adanya kandungan flavonoid pada buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) (Jaenudin., 2019). Selain itu, dilihat dari penelitian (Roosmarinto and Muji Rahayu., 2016) dengan hasil penelitian buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) mengandung senyawa flavonoid. Adanya senyawa Flavonoid dalam buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) dapat dijadikan sebagai antioksidan yang dapat menghambat terbentuknya radikal bebas.

Aktivitas antioksidan senyawa flavanoid dikaitkan dengan adanya gugus hidroksil fenolik yang menempel pada struktur kerangkanya. Sifat antioksidan dari flavanoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas beberapa enzim (Ariyani., 2015).

Flavonoid memiliki sifat antioksidan karena dapat mencegah enzim oksidatif dan memperkuat dinding pembuluh darah, selain itu juga, flavonoid sebagai antioksidan dapat mencegah radikal bebas dengan memberikan elektron yang tidak memiliki pasangan (Ariyani., 2015).

2. Uji kromatografi lapis tipis (KLT)

Analisis kromatografi lapis tipis dengan melihat nilai R_f yang terbentuk seperti pada (lampiran 5) dan perhitungan nilai R_f pada (lampiran 52) untuk mengetahui senyawa antioksidan pada fraksi buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Hasil Uji KLT

Spot	Nilai R_f (cm)
Standar (Vitamin C)	0,45
Fraksi I (Etil Asetat)	0,75
Fraksi II (Etil Asetat + Metanol)	0,725
Fraksi III (Metanol)	0,7

Keterangan :

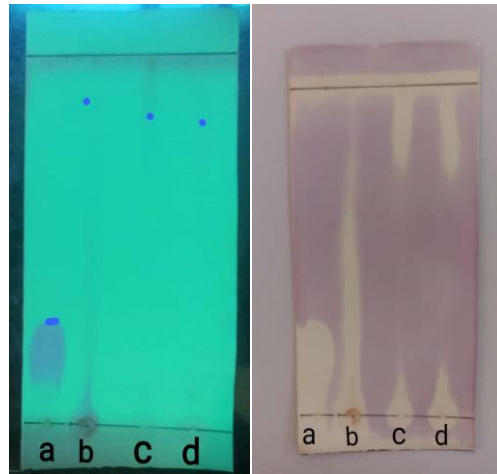
- Fase gerak : kloroform (10 ml) : metanol (2 ml)
- Fase diam : silika gel GF 254 (Plat KLT)

Pada uji Kromatografi lapis tipis (KLT) pada buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) menggunakan eluen kloroform: metanol (10:2) sebanyak 12 mL, eluen yang digunakan ini dapat memisahkan noda yang jelas dan memberikan spektrum daya antioksidan yang paling luas (Sari *et al.*, 2015) penggunaan eluen kloroform, metanol pada kromatografi lapis tipis dengan beberapa alasan diantaranya: (1) kloroform mudah didapatkan, tidak toksik, dan bersifat semi polar; (2) metanol mudah didapatkan, bersifat polar (Sari *et al.*, 2015).

Pada uji coba kromatografi lapis tipis (KLT) standar yang digunakan yaitu vitamin C, karena vitamin C mampu menangkap radikan bebas. Vitamin C dapat bereaksi untuk melindungi sel dan sperma karena memiliki konsentrasi yang tinggi (Sayuti, 2015). Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan yang baik untuk tubuh yang akan diserap oleh kalsium dalam tubuh, selain itu vitamin C juga termasuk mudah larut dalam air dan esensial untuk biosintesis kolagen (Sayuti., 2015).

Hasil tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya nilai R_f kulit buah sawo manila yaitu 0.7-0.8 dimana nilai tersebut menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan (Kurniawaty, 2015).

Hasil analisis dalam menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel menggunakan penyemprotan DPPH 500 ppm pada plat KLT dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel 2.



Gambar 5. Plat KLT sebelum dan sesudah di semprotkan DPPH

Keterangan :

- Kiri sebelum disemprotkan DPPH
- Kanan setelah disemprotkan DPPH
- a. Vitamin C, b. Fraksi I (Etil Asetat), c. Fraksi II (Etil Asetat + Metanol), d. Fraksi III (Metanol)
- Fase gerak : kloroform (10 ml) : metanol (2 ml)
- Fase diam : silika gel GF 254 (Plat KLT)

Tabel 3. Uji Kualitatif DPPH

Sampel	Perubahan warna Becak Pada Plat KLT	
	Sebelum disemprot DPPH	Sesudah disemprot DPPH
Standar vitamin C	Ungu	Kuning
Fraksi I (etil asetat)	Ungu	Kuning
Fraksi II (metanol)	Ungu	Kuning
Fraksi III (etil asetat + metanol)	Ungu	Kuning

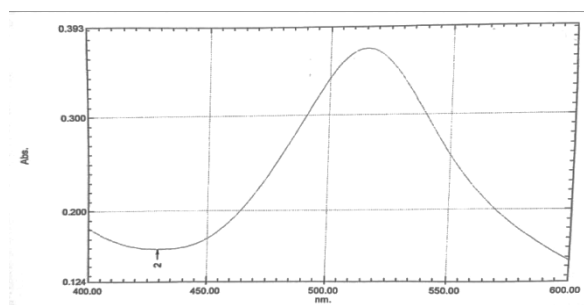
Pada pengujian uji DPPH secara kualitatif menggunakan sampel fraksi yang diperoleh pada tabel 4.5. yang menunjukkan bahwa fraksi I (etil asetat), fraksi II (etil asetat + metanol), fraksi III (metanol) dan standar (Vitamin C) menghasilkan bercak warna kuning. Hal ini menunjukkan adanya kandungan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Adanya aktivitas antioksidan sesuai dengan pernyataan (Budiana, 2019) menjelaskan tentang perubahan warna dari warna ungu pekat menjadi warna kuning pucat karena aktivitas sampel yang mengandung aktivitas antioksidan mampu menangkap dan meredam radikal bebas. Adanya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan secara visual oleh bercak berwarna kuning pada lempeng KLT yang disemprotkan DPPH 500 ppm dalam etanol (Budiana., 2019). Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 2. hasil yang diperoleh sampel fraksi mengandung adanya aktivitas antioksidan yaitu, fraksi I (etil asetat), fraksi II (etil asetat + metanol), fraksi III (metanol), standar vitamin C dan hasil KLT.

Hubungan DPPH dengan antioksidan adalah perubahan warna dari warna ungu ke warna kuning karena adanya kandungan aktivitas antioksidan yang kuat sehingga daya hambat terhadap radikal bebas sangat tinggi (Fahrurrozi., 2021).

3. Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 515.40 nm dengan nilai absorbansi 0.719. Dapat dilihat pada gambar 6 ini :

515.40 nm



Gambar 6. Kurva Panjang Gelombang

Keterangan :

Panjang gelombang = 515.40 nm

Pengujian aktivitas antioksidan masing-masing fraksi dilakukan menggunakan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm dengan 3 replikasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap standar vitamin C, fraksi etil asetat, fraksi etil asetat + metanol, fraksi metanol. Diperoleh hasil yang di tunjukkan pada tabel 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ini.

Tabel 4. Hasil % Inhibisi Standar Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi (%)
20	0.383	46.73
40	0.320	55.49
60	0.308	57.16
80	0.232	67.73

Tabel 5. Hasil % Inhibisi Fraksi I (Etil Asetat)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi (%)	Rata-rata % Inhibisi ± SD (%)
20	0.404	43.81	43.81 ±0
	0.404	43.81	
	0.404	43.81	
40	0.383	46.73	46.73 ±0
	0.383	46.73	
	0.383	46.73	
60	0.341	52.57	52.57 ±0
	0.341	52.57	
	0.341	52.57	
80	0.283	60.63	60.63 ±0
	0.283	60.63	
	0.283	60.63	

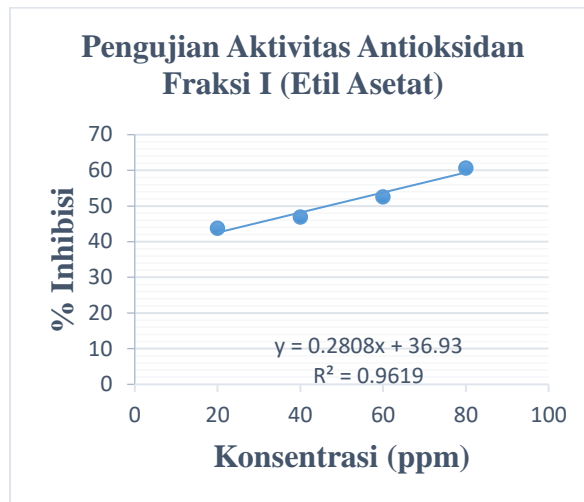
Tabel 6. Hasil % Inhibisi Fraksi II (Etil Asetat + Metanol)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi (%)	Rata-rata % Inhibisi \pm SD (%)
20	0.602	16.27	16.27 \pm 0
	0.602	16.27	
	0.602	16.27	
40	0.524	27.12	27.12 \pm 0
	0.524	27.12	
	0.524	27.12	
60	0.439	38.94	38.94 \pm 0
	0.439	38.94	
	0.439	38.94	
80	0.432	39.91	39.91 \pm 0
	0.432	39.91	
	0.432	39.91	

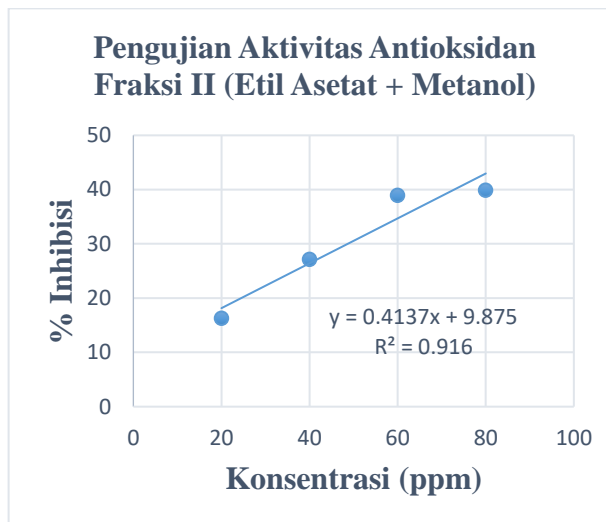
Tabel 7. Hasil % Inhibisi Fraksi III (Metanol)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi (%)	Rata-rata % Inhibisi \pm SD (%)
20	0.488	32.12	32.12 \pm 0
	0.488	32.12	
	0.488	32.12	
40	0.448	37.69	37.69 \pm 0
	0.448	37.69	
	0.448	37.69	
60	0.445	38.10	38.10 \pm 0
	0.445	38.10	
	0.445	38.10	
80	0.427	40.61	40.61 \pm 0
	0.427	40.61	
	0.427	40.61	

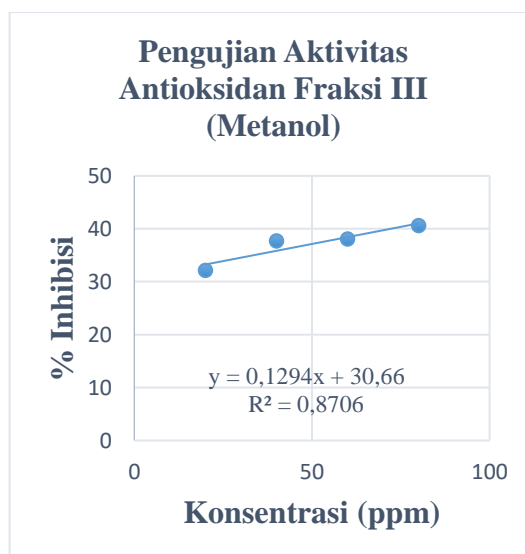
Pengujian aktivitas antioksidan dengan kurva kalibrasi menggunakan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm bertujuan untuk menentukan regresi linear % inhibisi untuk menghitung IC_{50} dapat dilihat pada gambar 7, 8, 9, dan 10 ini:



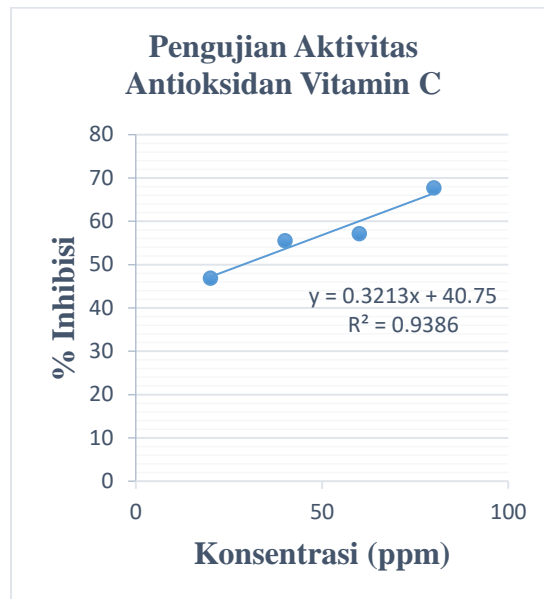
Gambar 7. Grafik Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi I (etil asetat)



Gambar 8. Grafik Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi II (etil asetat + metanol)



Gambar 9. Grafik Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi III (metanol)



Gambar 10. Grafik Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Pengujian secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofometri UV-Vis yang bertujuan untuk mengetahui nilai % Inhibisi pada buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) agar mendapatkan nilai IC_{50} . Pada Gambar 2. menunjukkan nilai % inhibisi yang terbaik pada panjang gelombang 515.40 nm.

Tujuan dari perhitungan % inhibisi yaitu untuk mengetahui berapa persen (%) yang dapat menghambat dalam pembentukan sintesis pembuatan radikal bebas. Semakin besar nilai % inhibisi maka semakin besar memiliki aktivitas antioksidan. Sehingga diperoleh IC_{50} untuk masing-masing fraksi. Dari konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm yang digunakan semakin besar nilai konsentrasi maka semakin besar nilai % inhibisi.

Tujuan perhitungan nilai IC_{50} untuk mengetahui kategori aktivitas antioksidan pada sampel, nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil IC_{50}

Sampel	Nilai IC_{50}	Kategori
Standar (Vitamin C)	29 ppm	Sangat Kuat
Fraksi I (etil asetat)	46 ppm	Sangat Kuat
Fraksi II (etil asetat + metanol)	97 ppm	Kuat
Fraksi III (metanol)	149 ppm	Sedang

Pada perhitungan IC_{50} diperoleh nilai IC_{50} fraksi I (etil asetat) 46 ppm, nilai IC_{50} fraksi II (etil asetat + metanol) 97 ppm, fraksi III (metanol) 149 ppm dan nilai IC_{50} vitamin C 29 ppm. Dari hasil nilai IC_{50} yang diperoleh, nilai IC_{50} pada fraksi I (etil asetat) yang lebih mendekati nilai IC_{50} standar. Hal itu menunjukkan bahwa fraksi I (etil asetat) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi II (etil asetat + metanol) dan fraksi III (metanol). Kategori antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, antioksidan kuat jika nilai IC_{50} 50-100 ppm, antioksidan sedang jika nilai IC_{50} 100-150 ppm, antioksidan rendah jika nilai IC_{50} 151-200 ppm, dan antioksidan sangat rendah jika nilai $IC_{50} > 200$ ppm (Fahrurrozi., 2021). Penelitian sebelumnya juga mengatakan semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidannya (Koleangan *et al.*, 2014; Rina Mustika, Siti Hindun., 2020).

Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan dari fraksi I memiliki nilai IC_{50} 46 ppm yang dikategorikan ke dalam antioksidan sangat kuat, fraksi II memiliki nilai IC_{50} 97 ppm yang dikategorikan ke dalam antioksidan kuat, fraksi III memiliki nilai IC_{50} 149 ppm yang dikategorikan

ke dalam antioksidan sedang, dan vitamin C memiliki nilai IC_{50} 29 ppm yang dikategorikan ke dalam antioksidan sangat kuat. Pengujian dengan radikal

DPPH didasarkan pada reduksi senyawa radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi warna kuning oleh karena terjadinya reaksi transfer atom hidrogen oleh senyawa antioksidan sehingga radikal DPPH menjadi stabil (Koleangan *et al.*, 2014).

Pemilihan pelarut berdasarkan tingkat kepolaran dari semi polar dan polar untuk mengetahui pelarut mana yang lebih baik yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Apabila dilihat dari pelarut fraksi yang digunakan yaitu etil asetat dan metanol, maka senyawa aktif antioksidan dari sampel fraksi buah sawo manila lebih mengarah kepada senyawa yang bersifat semipolar karena memiliki aktivitas yang lebih baik (Fitrilia.,2015). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua fraksi memiliki aktivitas antioksidan baik dari pelarut semipolar maupun polar. Perbedaan aktivitas yang diperoleh pada setiap fraksi tersebut kemungkinan disebabkan adanya perbedaan kandungan dan jumlah senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi, sehingga aktivitas antioksidan yang diperoleh juga berbeda. Fraksi etil yang mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi etil + metanol dan metanol, hal ini diduga karena adanya kandungan senyawa aktif dari beberapa golongan senyawa antioksidan yang bersifat semipolar lebih banyak dibandingkan yang bersifat polar yang terdapat dalam buah sawo manila.

Korelasi aktivitas antioksidan dan DPPH dari hasil regresi menunjukkan koefisien aktivitas antioksidan pada fraksi-fraksi disumbangkan oleh senyawa fenolik, sedangkan sisanya di pengaruhi oleh senyawa lain yang terkandung di dalamnya seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Hubungan IC_{50} dengan antioksidan adalah semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat kandungan aktivitas antioksidannya karena adanya kandungan flavonoid yang lebih banyak pada tanaman atau sampel yang digunakan (Ariyani., 2015).

Senyawa flavonoid, fenolik, saponin dan alkaloid yang terdapat pada ekstrak etanol 96% buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan pada penelitian ini. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bakar *et al.*, (2020) menyatakan bahwa senyawa yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan dari buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) yaitu fenolik dan flavonoid. Flavonoid mampu menangkal radikal bebas secara langsung melalui sumbangan atom hidrogen, radikal dibuat tidak aktif sehingga radikal bebas menjadi stabil setelah atom hidrogen yang berada di gugus hidroksil yang bereaksi. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid dan fenolik dikarenakan kedua senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Senyawa fenol ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil.

Saponin terdiri dari saponin yaitu bagian yang bebas dari glikosida yang disebut aglikon. Senyawa ini mempunyai efek antioksidan dengan membentuk hidroperoksida sebagai antioksidan sekunder sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Sudirman.,2021). Selanjutnya adalah senyawa alkaloid dan tanin, alkaloid banyak ditemukan dalam pelarut polar karena golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan adalah senyawa-senyawa polar yang akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer (Ariyani., 2015).

KESIMPULAN

1. Hasil ekstrak buah sawo manila (*Manilkara zapota L*) mengandung metabolit sekunder senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.
2. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan yang didapatkan secara kualitatif menunjukkan semua sampel mengandung antioksidan karena terlihat warna kuning ketika disemprotkan DPPH pada plat KLT, secara kuantitatif menunjukkan bahwa nilai IC_{50} fraksi I (etil asetat) 46 ppm, nilai IC_{50} fraksi II (etil asetat + metanol) 97 ppm, nilai IC_{50} fraksi III

(metanol) 149 ppm, dan nilai IC₅₀ vitamin C (standar) 29 ppm sehingga fraksi I (etil asetat) dikategorikan ke dalam antioksidan sangat kuat, fraksi II (etil asetat + metanol) dikategorikan ke dalam antioksidan kuat, dan fraksi III (metanol) dikategorikan ke dalam antioksidan sedang sehingga dapat digunakan sebagai produk perawatan kulit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada Rektor Universitas Hamzanwadi, Dekan fakultas kesehatan Universitas Hamzanwadi, Dosen pembimbing saya yang telah membantu dalam penyusunannya dan semua pihak yang telah membantu berjalannya penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani, D. (2015). *Antioksidan Dari Tumbuhan Buah Sawo Manila (Manilkara Zapota (L) Millsp) Dari Pulau Compounds And Bioactivity Antioxidants From Manilkara Zapota (L) Millsp From Poteran-Madura Island. L.*
- Budiana, wempi et all. (2019). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kacang Kratok.*
- Bakar, F. A., Mohamed, S., Hamid, A. A., dan Mustafa, R. A. 2020. *Total Phenolic Compounds, Flavonoids, And Radical Scavenging Activity Of 21 Selected Tropical Plants.* Journal Of Food Science. Malaysia
- Cahyani, A. i. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea Coromandelica) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).*
- Erlidawati & Safrida. (2018). *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes.* Syiah Kuala University Press.
- Fahrurrozi, L. A. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (Leucaena glauca (L.) Benth.) Dengan Metode DPPH (2, 2-. 1 (1).*
- Hasanah, M., Maharani, B., & Munarsih, E. (2017). Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (Coffea Robusta) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.*
- Jaenudin. (2019). *Uji Aktivitas Buah Sawo (Manilkara Zapota (L.) Huth) Sebagai Nefroprotektor Pada Tikus Jantan Putih Galur Wistar (Rattus Novergicus) Skripsi.*
- Koleangan, H. S. J., Runtuwene, M. R. J., & Kamu, V. S. (2014). *Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC 50 Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki. (Areca vestiaria Giseke).*
- Kurniawaty, A. (2015). *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Penangkap Radikal Bebas, UV Protection dan Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (Vigna radiata (L.) R. Wilezek) SKRIPSI.*
- Mangela O, Musafira, Ridhay A.,(2016) Kajian Aktivitas Ekstrak Daun Tembelekan (Lantana camara L) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. FMIPA Universitas Tadulako. Palu.
- Mushollaeni, W., Kumalaningsih, S., Wignyanto, & Santoso, I. (2018). Screening of new bioactive in lebei beans (Cajanus sp.) of Lombok. *International Food Research Journal.*
- Rahman SMA, Ganguly A. (2015). Evaluation of the cytotoxic, antimicrobial, antioxidant, antihelminthic, and cns depressant activities of *Manilkara zapota* leaf (Sapotaceae). *World journal of Pharmaceutical Research*
- Roosmarinto, M. R. (2016). Kajian Aktivitas Antioksidan Kacang Gude (Cajanus cajan) Dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Enzim Hati Tikus Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida. *Jurnal Teknologi Kesehatan.*
- Sari, D. M., Wijaya, S., & Setiawan, H. K. (2015). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) secara Kromatografi Kolom. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan.*
- Sayuti, K. et al., (2015). *Antioksidan, Alami dan Sintetik.* Andalas University Press.
- Sudirman, S. 2021. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (Ipomoea aquatic Forsk.).* Skripsi. IPB. Bogor.
- Widiyastuti, W., Nazaruddin, N., & Handito, D. (2019). Pengaruh Rasio Campuran Beras Ketan Dan Buah Sawo Manila Terhadap Kadar Antosianin Dan Sifat Sensoris Keripik Jaje Tujak, Jajanan Tradisional Khas Lombok.
- Yunika N, Irdawati, Mades F.,(2017) Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Sawo (Achras zapota L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Secara In Vitro. Padang.