

ARTIKEL

UJI PEREDAMAN AKTIVITAS RADIKAL BEBAS 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL (DPPH) DAN SKRINING TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)

[*Antioxidant Activity Based on 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging and Toxicity Screening of Annona muricata L. Leaf Extract*]

Agung Pranata¹, Fauzul Husna^{2*}, Karina Ardelya³

¹Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, JL Darussalam, Banda Aceh, Aceh, 23111.

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, JL Darussalam, Banda Aceh, Aceh, 23111.

³Program Pendidikan Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, JL Darussalam, Banda Aceh, Aceh, 23111.

ABSTRAK

Penyakit degeneratif menempati posisi tertinggi sebagai penyebab kematian di Indonesia, yang disebabkan oleh akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) yang mempercepat kematian sel. Salah satu pencegahannya adalah melalui suplementasi antioksidan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Namun, pengembangan obat herbal dari tanaman alami juga harus mempertimbangkan keamanan bahan obat tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia, aktivitas peredaman radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), serta tingkat toksisitas berdasarkan skrining *brine shrimp lethality test* (BSLT) pada ekstrak daun sirsak. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan ekstrak daun sirsak. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder, metode DPPH digunakan untuk menguji peredaman radikal bebas, dan metode BSLT digunakan untuk skrining toksisitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid dengan nilai IC₅₀ pada uji peredaman radikal bebas DPPH sebesar 66,62 ppm, yang dikategorikan memiliki aktivitas peredaman radikal bebas yang kuat. Nilai LC₅₀ ekstrak daun sirsak pada skrining BSLT adalah 138,48 ppm, dengan kategori toksisitas sedang.

Kata Kunci: *Annona muricata* L., sirsak, toksisitas, BSLT, antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Degenerative diseases are the leading cause of death in Indonesia, caused by the accumulation of reactive oxygen species (ROS), which accelerate cell death. It can be prevented by antioxidant supplementation. One plant with antioxidant potential is the *Annona muricata* L. leaf extract. However, the development of herbal medicines from natural plants must also consider the safety of the medicinal ingredients. This study aims to determine the phytochemical content, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, and toxicity levels, as assessed by the brine shrimp lethality test (BSLT), in *Annona muricata* L. leaf extract. The results of this study obtained that *Annona muricata* L. leaf extract has secondary metabolite compounds in the form of alkaloids, flavonoids, phenolics and steroids with an IC_{50} value of *Annona muricata* L. leaf extract in the DPPH free radical reduction test of 66.62 ppm which transcription has strong free radical reduction activity and the LC_{50} value of *Annona muricata* L. leaf extract in BSLT screening is 138.48 ppm has a toxicity category in the form of moderate toxicity.

Keywords: *Annona muricata* L.; soursop; toxicity; BSLT; antioxidant; DPPH

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif adalah penyakit tidak menular yang berkembang secara lambat (Di Renzo *et al.*, 2023). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2021, penyakit degeneratif menempati posisi tertinggi sebagai penyebab kematian di Indonesia (World Health Organization, 2024). Penyakit degeneratif berhubungan erat dengan proses penuaan yang dipercepat oleh akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) yang tidak ditangani dengan baik, sehingga menyebabkan mutasi dan kerusakan DNA. Hal ini memicu disfungsi mitokondria yang secara bersamaan menghasilkan lebih banyak radikal bebas endogen (Zhang *et al.*, 2023). Peningkatan ROS menyebabkan stres oksidatif sehingga terjadi kerusakan asam nukleat dan protein yang mengubah struktur dan fungsi sel (Leyane *et al.*, 2022). Hal tersebut juga dapat memicu kematian sel (Singh & Yadav, 2022; Singh & Manna, 2022).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi stres oksidatif perlu dilakukan guna mencegah terjadinya gangguan intraseluler. Salah satunya adalah melalui suplementasi antioksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektron sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS (Yoga & Komalasari, 2022). Antioksidan terdiri atas antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami dapat diperoleh dari makanan yang mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan sifat antioksidan (Alamzeb *et al.*, 2023). Bukti klinis menunjukkan bahwa konsumsi antioksidan yang tepat dapat menurunkan risiko penyakit neurodegeneratif, kardiovaskular, dan gastrointestinal, bahkan dapat menjadi perlindungan terhadap kanker. Antioksidan dapat diperoleh dari sayur atau buah yang mengandung senyawa fenolik (Martemucci *et al.*, 2022). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolik adalah sirsak (*Annona muricata* L.). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kandungan metabolit sekunder dari daun sirsak berupa senyawa alkaloid dan flavonoid (Harnita *et al.*, 2023; Hernandez-Fuentes *et al.*, 2024).

Namun, penelitian terkait pengembangan obat juga harus mempertimbangkan keamanan bahan obat. Dosis tinggi dan penggunaan jangka panjang ekstrak herbal juga dapat menyebabkan efek toksik. Oleh karena itu, dibutuhkan skrining toksisitas terhadap suatu ekstrak herbal. Salah satu jenis skrining toksisitas yang mudah dan murah yang sering digunakan untuk menilai keamanan obat adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji ini dapat menilai validitas indeks mematikan suatu zat menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (Ahamed *et al.*, 2024). Evaluasi ini dilakukan untuk mengetahui nilai *lethal concentration* 50 (LC_{50}) setelah paparan larutan uji selama 24 jam (Syamsurizal *et al.*, 2023). Untuk menghindari efek toksik yang tidak diinginkan dan meningkatkan potensi antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.), pada penelitian ini dilakukan skrining toksisitas ekstrak daun sirsak dengan metode BSLT untuk mengetahui nilai LC_{50} dan interpretasinya. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan fitokimia, menentukan aktivitas peredaman radikal bebas menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai IC_{50} , serta menilai toksisitas awal ekstrak daun sirsak menggunakan metode BSLT berdasarkan nilai LC_{50} .

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tabung uji beserta rak, neraca analitik, spatula besi, beaker glass, penangas air, kertas saring, tabung reaksi, pipet tetes, ELISA Reader (Tecan Infinite M200 Pro), *well plate*, vortex, inkubator (Thermo Scientific Heraeus), cawan porselen, labu ukur, *rubber bulb*, mikropipet (Biorad Micropipette Set), *aluminium foil*, aerator, corong kaca, corong pemisah, alat penetasan telur larva, lampu 60 Watt, akuarium.

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun sirsak (*batch number* 030PV01.2) yang diperoleh dari PT. Borobudur, asam klorida 2N, akuades, reagen Mayer, reagen Lieberman-Buchard, reagen Dragendorff, air panas, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃, kloroform, etil asetat, metanol, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, serbuk asam askorbat, serbuk DPPH, metanol p.a, air laut, telur *Artemia salina* Leach, larva *Artemia salina* Leach, etanol 96%.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang dirancang untuk mengevaluasi kandungan fitokimia, aktivitas peredaman radikal bebas dengan metode DPPH, serta toksisitas awal ekstrak daun sirsak menggunakan metode BSLT. Penelitian dilakukan di Laboratorium dr. Imai Indra dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala. Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan pelarut ekstraksi etanol 70% untuk analisis fitokimia, uji peredaman radikal bebas DPPH, serta skrining BSLT.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenolik, terpenoid, dan steroid. Pada uji alkaloid ekstrak ditambahkan amonia dan ditunggu 15 menit kemudian ditambahkan HCl 5% dan etil asetat hingga terbentuk dua lapisan, lapisan bening yang terbentuk ditambahkan masing-masing dengan reagen Dragendorff, Wagner, dan Mayer. Pada uji saponin, ekstrak ditambahkan akuades, kemudian dikocok dan diamati pembentukan busa selama 15 menit. Pada uji tanin, ekstrak dicampurkan dengan beberapa tetes gelatin yang mengandung NaCl. Pada uji flavonoid, ekstrak dicampurkan dengan 0,1 gram serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Pada uji fenolik, ekstrak dicampurkan dengan 2 mL FeCl 5%, kemudian perubahan warnanya diamati. Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara yang sama, yaitu dengan mencampurkan ekstrak dengan beberapa tetes Liebermann-Burchard. Perbedaannya adalah perubahan warna yang terjadi (Harborne, 1998).

Uji peredaman radikal bebas DPPH

Uji peredaman radikal bebas DPPH menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif dengan konsentrasi uji 3, 6, 9, 12, dan 15 ppm. Sedangkan konsentrasi ekstrak daun sirsak yang digunakan adalah 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing larutan konsentrasi uji tersebut dipaparkan dengan larutan DPPH di dalam *well plate* 250 µL dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Setiap konsentrasi uji dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (*triplo*), kemudian nilai absorbansi dibaca menggunakan ELISA Reader pada panjang gelombang 517 nm (Qarani *et al.*, 2023).

Uji BSLT

Skrining BSLT menggunakan populasi larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji dengan sampel larva berumur 48 jam yang memenuhi kriteria inklusi (dapat bergerak aktif) dan tidak bergerak aktif sebagai kriteria eksklusi. Besar sampel skrining BSLT sebanyak 180 ekor larva *A. salina*. Konsentrasi ekstrak daun sirsak adalah 0, 50, 100, 200, 500, dan 1000 ppm. Prosedur uji dilakukan dengan memaparkan ekstrak daun sirsak pada berbagai konsentrasi. Sebanyak 10 ekor larva *A. salina* dipaparkan dengan ekstrak daun sirsak pada masing-masing konsentrasi dalam *well*

plate 3 mL. Setiap konsentrasi diuji dalam tiga ulangan. Setelah 24 jam, dihitung jumlah larva yang mati untuk memperoleh persentase mortalitas (Rasyid *et al.*, 2023).

Analisis data dilakukan dengan regresi linier untuk memperoleh persamaan kurva regresi $y = ax + b$, sehingga diperoleh nilai IC_{50} dan LC_{50} . Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan Microsoft Excel.

HASIL

Hasil Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diperoleh dari PT. Borobudur disajikan dalam pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Phytochemical Test Results of Soursop Leaf Extract*).

Senyawa (Compound)	Visualisasi (Visualization)	Hasil pengujian (Test result)
Alkaloid (Alkaloid)		
Reagen Dragendorff (Dragendorff's reagent)	Endapan merah bata (Brick red precipitate)	(+)
Mayer (Mayer's reagent)	Endapan putih (White precipitate)	(+)
Wagner (Wagner's reagent)	Endapan cokelat (Brown precipitate)	(+)
Saponin (Saponins)	Tidak terdapat busa (There is no foam)	(-)
Tanin (Tannin)	Endapan putih susu (White milk precipitate)	(-)
Flavonoid (Flavonoid)	Berubah kuning jingga (The color changed to orange)	(+)
Fenolik (Phenolic)	Berubah hitam (The color changed to black)	(+)
Terpenoid (Terpenoid)	Tidak ada perubahan warna (No color change)	(-)
Steroid (Steroid)	Berubah hijau (The color changed to green)	(+)

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 1, ekstrak daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, fenolik, steroid, serta alkaloid (Dragendorff, Wagner, dan Mayer). Sementara itu, uji terpenoid, saponin, dan tanin menunjukkan hasil negatif. Keberadaan senyawa-senyawa ini mengindikasikan potensi ekstrak daun sirsak sebagai antioksidan.

Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH

Pada uji peredaman radikal bebas DPPH, kontrol yang digunakan adalah blanko berupa larutan DPPH dalam pelarut metanol p.a. Nilai absorbansi blanko sebagai kontrol yang terbaca oleh ELISA Reader adalah 0,938. Nilai absorbansi vitamin C dan ekstrak daun sirsak disajikan pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Nilai Absorbansi Vitamin C (*Absorbance Value of Vitamin C*).

Konsentrasi (Concentration) (ppm)	Pengulangan (Repetition)			Rata-rata absorbansi (Average absorbance)	Absorbansi Kontrol (Absorbance control)
	1	2	3		
3	0,498	0,504	0,508	0,503	0,938
6	0,301	0,299	0,318	0,306	
9	0,221	0,217	0,217	0,218	
12	0,159	0,144	0,153	0,152	
15	0,098	0,087	0,091	0,092	

Tabel 3. Nilai Absorbansi Ekstrak Daun Sirsak (*Absorbance Value of Soursop Leaf Extract*).

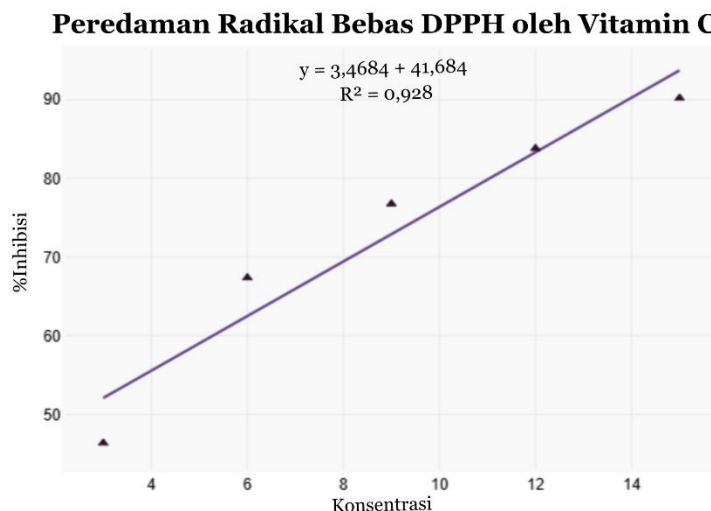
Konsentrasi (Concentration) (ppm)	Pengulangan (Repetition)			Rata-rata absorbansi (Average absorbance)	Absorbansi Kontrol (Absorbance control)
	1	2	3		
6,25	0,890	0,870	0,869	0,876	0,938
12,5	0,830	0,828	0,829	0,829	
25	0,732	0,740	0,729	0,734	
50	0,526	0,492	0,508	0,509	
100	0,268	0,333	0,256	0,286	

Data rata-rata absorbansi digunakan untuk menghitung persentase inhibisi, yaitu nilai yang menginterpretasikan kemampuan senyawa dalam menangkal radikal bebas. Persentase inhibisi vitamin C dan ekstrak daun sirsak disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase Inhibisi Ekstrak dan Vitamin C (*Inhibition Percentage of Extract and Vitamin C*).

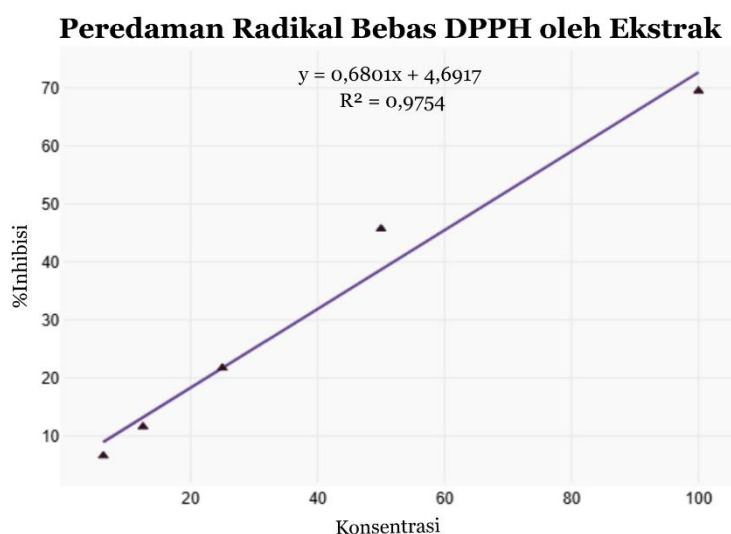
Larutan uji (Test solution)	Konsentrasi (Concentration) (ppm)	Rata-rata absorbansi (Average absorbance)	% Inhibisi (% Inhibition)
Vitamin C	3	0,503	46,38
	6	0,306	67,38
	9	0,218	76,76
	12	0,152	83,80
	15	0,092	90,19
Ekstrak (Extract)	6,25	0,876	6,61
	12,5	0,829	11,62
	25	0,734	21,75
	50	0,509	45,74
	100	0,286	69,51

Tabel 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji, semakin tinggi persentase inhibisi, yang mengindikasikan semakin kuat aktivitas peredaman terhadap radikal bebas DPPH.



Gambar 1. Hubungan Persentase Inhibisi dan Konsentrasi Vitamin C (*Relation Between Percentage Inhibition and Concentration of Vitamin C*).

Gambar 1 menyajikan grafik kurva regresi linier dengan perbandingan % inhibisi dan konsentrasi vitamin C. Sumbu x menyatakan konsentrasi vitamin C, sedangkan sumbu y menyatakan % inhibisi. Diperoleh kurva regresi linier dengan persamaan $y = 3,4684x + 41,684$.



Gambar 2. Hubungan Persentase Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirsak (*Relation Between Percentage Inhibition and Concentration of Soursop Leaf Extract*).

Gambar 2 menyajikan grafik kurva regresi linier dari perbandingan persentase inhibisi dan konsentrasi ekstrak daun sirsak. Sumbu x menyatakan konsentrasi ekstrak dan sumbu y menyatakan % inhibisi. Didapatkan kurva regresi linier dengan persamaan $y = 0,6801x + 4,6917$. Dengan nilai koefisien determinasi sebesar $R^2 = 0,9754$.

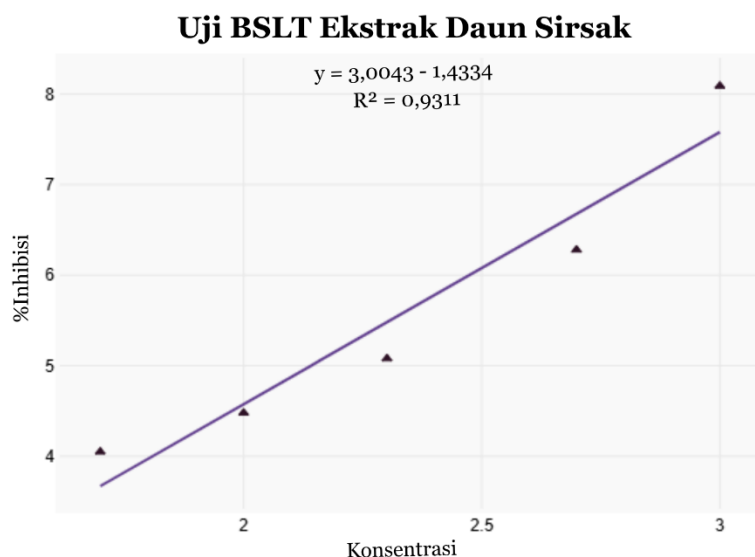
Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi persentase inhibisi. Selanjutnya, persamaan tersebut disubstitusikan ke dalam rumus untuk menghitung nilai IC_{50} . Vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,40 ppm, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C sangat kuat. Sedangkan nilai IC_{50} ekstrak daun sirsak adalah 66,62 ppm, yang dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Uji Skrining Toksisitas dengan Metode BSLT

Setelah larva *Artemia salina* Leach dipaparkan pada ekstrak selama 24 jam, dihitung jumlah larva yang mati untuk memperoleh persentase kematian. Nilai mortalitas larva udang pada berbagai konsentrasi ekstrak ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Mortalitas *Artemia salina* Leach dengan Ekstrak Daun Sirsak (*Artemia salina* Leach mortality with Soursop Leaf Extract).

Konsentrasi uji (Test Concentration) (ppm)	Log konsentrasi (Log Concentration)	Total larva uji (Total Larvae)	Jumlah Larva yang mati (Number of dead larvae)			Total larva mati (Total dead larvae)	% kematian (% mortality)	Nilai Pro-bit (Probit Value)	LC ₅₀ (ppm)
			1	2	3				
50	1,698	30	2	1	2	5	17	4,05	138,48
100	2	30	2	3	4	9	30	4,48	
200	2,301	30	4	5	7	16	53	5,08	
500	2,698	30	9	8	10	27	90	6,28	
1000	3	30	10	10	10	30	100	8,09	



Gambar 3. Hubungan Probit dan Log Konsentrasi (*Relation between Probit and Log Concentration*).

Gambar 3 menyajikan grafik kurva regresi linier dari perbandingan nilai probit dan logaritma konsentrasi. Sumbu x pada grafik menyatakan logaritma konsentrasi, sedangkan sumbu y menyatakan nilai probit. Didapatkan kurva regresi linier dengan persamaan $y = 3,0043x - 1,4334$. Dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,9311$. Selanjutnya, nilai x dicari dengan mensubstitusikan nilai $y = 5$ sehingga LC₅₀ didapatkan dari nilai antilog x, yaitu 138,48 ppm yang diinterpretasikan sebagai *moderate toxicity*.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan kategori kuat serta menunjukkan toksisitas sedang berdasarkan skrining BSLT. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki potensi bioaktivitas yang relevan sebagai sumber antioksidan alami, tetapi pada saat yang sama juga memerlukan perhatian terhadap aspek keamanan penggunaannya. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH pada ekstrak daun sirsak ditunjukkan oleh peningkatan persentase inhibisi seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Pola ini memperlihatkan hubungan dosis-respons, yaitu semakin tinggi

konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin besar kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH (Budaraga & Putra, 2021; Sadeer *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini, ekstrak daun sirsak mulai menunjukkan aktivitas inhibisi yang bermakna pada rentang konsentrasi 50–100 ppm, sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif telah menunjukkan aktivitas yang kuat pada konsentrasi yang lebih rendah. Perbedaan ini dapat dipahami karena vitamin C merupakan senyawa antioksidan murni, sedangkan ekstrak daun sirsak merupakan campuran kompleks berbagai metabolit sekunder dengan kadar dan aktivitas yang bervariasi (Gulcin & Alwasel, 2023). Nilai IC_{50} ekstrak daun sirsak sebesar 66,62 ppm menunjukkan bahwa ekstrak ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel tersebut. Dibandingkan dengan vitamin C yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,40 ppm, aktivitas ekstrak daun sirsak memang lebih rendah. Namun demikian, kategori aktivitasnya tetap kuat, sehingga ekstrak daun sirsak masih dapat dipandang sebagai sumber antioksidan alami yang potensial. Hasil ini memperkuat dugaan bahwa daun sirsak mengandung komponen bioaktif yang mampu mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga menghambat proses oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel (Parcheta *et al.*, 2021).

Potensi antioksidan tersebut berkaitan erat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, dan steroid dalam ekstrak daun sirsak. Senyawa fenolik dan flavonoid dikenal berperan penting dalam aktivitas antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Keberadaan senyawa alkaloid juga dapat berkontribusi terhadap aktivitas biologis ekstrak, meskipun mekanismenya dapat berbeda bergantung pada struktur kimia senyawa yang terkandung. Sementara itu, steroid dalam ekstrak dapat berkontribusi terhadap aktivitas biologis lain, termasuk potensi antiinflamasi, meskipun perannya dalam aktivitas antioksidan perlu dikaji lebih lanjut secara spesifik (Platzer *et al.*, 2022). Dengan demikian, aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak kemungkinan merupakan hasil kontribusi sinergis dari berbagai metabolit sekunder, bukan hanya dari satu kelompok senyawa tertentu.

Hasil ini juga sejalan dengan karakteristik daun sirsak yang telah banyak dilaporkan mengandung berbagai metabolit sekunder bioaktif (Hartati *et al.*, 2024; Hernandez-Fuentes *et al.*, 2024). Daun sirsak diketahui mengandung senyawa khas dari genus *Annona*, terutama kelompok acetogenins seperti annonacin, annomuricin, annomutacin, dan annohexocin, serta beberapa alkaloid seperti anonaine, annonamine, asimilobine, isoboldine, dan isolaureline (Zubaidi *et al.*, 2023). Keberadaan senyawa-senyawa tersebut memperkuat kemungkinan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas. Namun, keberadaan senyawa bioaktif yang beragam juga perlu ditafsirkan secara hati-hati karena aktivitas farmakologis yang kuat tidak selalu identik dengan keamanan yang tinggi (Gu *et al.*, 2023).

Oleh karena itu, evaluasi toksisitas awal melalui metode BSLT menjadi bagian penting dalam penelitian ini. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki nilai LC_{50} sebesar 138,48 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak termasuk dalam kategori toksisitas sedang. Secara umum, semakin kecil nilai LC_{50} , semakin tinggi tingkat toksisitas suatu sampel (Nhamussua *et al.*, 2026). Dengan demikian, hasil BSLT pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memang memiliki potensi bioaktivitas, tetapi penggunaannya sebagai bahan herbal perlu mempertimbangkan batas konsentrasi, dosis, serta keamanan pemakaian dalam jangka panjang.

Peningkatan mortalitas larva *Artemia salina* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya hubungan konsentrasi-respons pada uji toksisitas. Pada konsentrasi rendah, jumlah larva yang mati relatif lebih sedikit, sedangkan pada konsentrasi tinggi, mortalitas meningkat secara nyata hingga mencapai 100% pada konsentrasi 1000 ppm. Pola ini menunjukkan bahwa komponen bioaktif dalam ekstrak daun sirsak dapat memberikan efek toksik pada organisme uji pada konsentrasi tertentu. Efek tersebut dapat berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sitotoksik, terutama kelompok *acetogenin* dan alkaloid yang telah dilaporkan sebagai senyawa khas pada daun sirsak (Hernandez-Fuentes *et al.*, 2024; Zubaidi *et al.*, 2023).

Temuan toksisitas sedang ini perlu ditempatkan dalam konteks yang proporsional. Di satu sisi, toksisitas pada uji BSLT dapat menjadi indikator awal adanya potensi senyawa bioaktif yang mungkin berguna untuk pengembangan agen farmakologis, termasuk senyawa dengan aktivitas sitotoksik. Di sisi lain, hasil ini juga menegaskan bahwa ekstrak daun sirsak tidak dapat langsung diklaim aman hanya karena berasal dari bahan alam (Başaran *et al.*, 2022). Produk herbal tetap berpotensi menimbulkan efek samping, terutama jika digunakan dalam dosis tinggi, tidak terstandar, atau dalam jangka panjang. Oleh karena itu, klaim manfaat antioksidan ekstrak daun sirsak perlu diimbangi dengan evaluasi keamanan yang lebih komprehensif.

Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki dua karakter penting, yaitu aktivitas antioksidan yang kuat dan toksisitas yang sedang. Kombinasi temuan ini memberikan implikasi bahwa ekstrak daun sirsak berpotensi dikembangkan sebagai sumber senyawa antioksidan alami, tetapi memerlukan kajian lanjutan untuk menentukan fraksi aktif, dosis aman, mekanisme kerja, serta profil toksisitas yang lebih mendalam. Pengujian lanjutan, seperti analisis kadar total fenolik dan flavonoid, uji antioksidan dengan metode lain seperti ABTS, FRAP, atau ORAC, serta uji toksisitas *in vitro* pada kultur sel dan uji toksisitas *in vivo*, diperlukan untuk memperkuat validitas temuan ini.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, aktivitas antioksidan hanya dievaluasi menggunakan metode DPPH, sehingga belum dapat menggambarkan seluruh mekanisme antioksidan yang mungkin dimiliki oleh ekstrak daun sirsak. Kedua, uji fitokimia yang digunakan masih bersifat kualitatif, sehingga belum dapat menentukan kadar masing-masing metabolit sekunder yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis ekstrak. Ketiga, uji toksisitas BSLT hanya merupakan skrining awal dan belum cukup untuk menyimpulkan keamanan ekstrak pada sistem biologis mamalia. Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk melakukan standardisasi ekstrak, identifikasi senyawa aktif, serta evaluasi keamanan secara lebih komprehensif sebelum ekstrak daun sirsak dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat bahan obat herbal atau produk kesehatan berbasis antioksidan.

KESIMPULAN

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid serta menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH yang kuat dengan IC₅₀ sebesar 66,62 ppm. Nilai LC₅₀ ekstrak daun sirsak adalah 138,48 ppm, yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak bersifat *moderate toxicity*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti ucapkan kepada tim laboratorium lab terpadu Imai Indra dan Lab Biomedik FK USK serta seluruh pihak yang membantu dalam penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

AP: Merumuskan metode penelitian, melakukan pengumpulan dan analisis data dan membuat draft naskah; FH: Membuat konsep penelitian, merevisi naskah akhir; KA: membantu pengumpulan data, mempersiapkan alat bahan penelitian, dan revisi draft.

REFERENSI

- Ahamed, H. N., Y, I., Navabshan, I., S, M. Z., TS, S., Jaleel, I., LH, T. A. 2024. Investigating the toxicity of malachite green and copper sulfate in brine shrimp: In-vivo and computational study. *Toxicology Reports*, 13, p.101811. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101811>
- Alamzeb, M., Khan, B., Ullah, I., Omer, M. 2023. Natural Antioxidants: An Update. In M. S. de Oliveira, E. Helena De Aguiar Andrade, R. Kumar, & S. N. Mali (Eds.), *Medicinal Plants - Chemical, Biochemical, and Pharmacological Approaches*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.112462>
- Başaran, N., Pash, D., Başaran, A. A. 2022. Unpredictable adverse effects of herbal products. *Food and Chemical Toxicology*, 159, p.112762. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112762>

- Budaraga, I. K., Putra, D. P. 2021. Analysis antioxidant IC50 liquid smoke of cocoa skin with several purification methods. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 757(1), p.012053. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012053>
- Di Renzo, L., Gualtieri, P., Frank, G., De Lorenzo, A. 2023. Nutrition for Prevention and Control of Chronic Degenerative Diseases and COVID-19. *Nutrients*, 15(10), p.2253. <https://doi.org/10.3390/nu15102253>
- Gu, E. Y., Jung, J., Back, S. M., Lim, K. H., Kim, W., Min, B. S., Han, K. H., Kim, S. K., Kim, Y. B. 2023. Evaluation of genotoxicity and 13-week subchronic toxicity of root of *Asarum heterotropoides* var. *seoulense* (Nakai) Kitag. *Journal of Ethnopharmacology*, 305, p.116012. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.116012>
- Gulcin, İ., Alwasel, S. H. 2023. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), p.2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Harborne, A. J. 1998. *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.
- Harnita, N., Mahesa putri, A., Fitria, D., Fajriati, M. 2023. Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak N-Heksana dari Daun Sirsak (*Annona muricata* L). *Jurnal Kolaborasi Sains dan Ilmu Terapan*, 2, pp.1-5.
- Hartati, R., Rompis, F. M., Pramastya, H., Fidrianny, I. 2024. Optimization of antioxidant activity of soursop (*Annona muricata* L.) leaf extract using response surface methodology. *Biomedical Reports*, 21(5), p.166. <https://doi.org/10.3892/br.2024.1854>
- Hernandez-Fuentes, G. A., Delgado-Enciso, O. G., Larios-Cedeño, E. G., Sánchez-Galindo, J. M., Ceballos-Magaña, S. G., Pineda-Urbina, K., Alcalá-Pérez, M. A., Magaña-Vergara, N. E., Delgado-Enciso, J., Díaz-Llerenas, U., et al. 2024. Comparative Analysis of Infusions and Ethanolic Extracts of *Annona muricata* Leaves from Colima, Mexico: Phytochemical Profile and Antioxidant Activity. *Life*, 14(12), p.1702. <https://doi.org/10.3390/life14121702>
- Leyane, T. S., Jere, S. W., Houreld, N. N. 2022. Oxidative Stress in Ageing and Chronic Degenerative Pathologies: Molecular Mechanisms Involved in Counteracting Oxidative Stress and Chronic Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), p.7273. <https://doi.org/10.3390/ijms23137273>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., D'Alessandro, A. G. 2022. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. In *Oxygen*, 2(2), pp.48–78. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Nhamussua, R. L., Mabiki, F. P., Mwakalesi, A. J., McGaw, L. J. 2026. Screening anticancer activity by Brine shrimp lethality test of extracts of *Annona stenophylla* (Engl. & Diels), *Strophanthus petersianus* (Klotzsch) and *Synadenium glaucescens* (Pax). *PloS One*, 21(1), p.e0336636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0336636>
- Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., Lewandowski, W. 2021. Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, 14(8), p.1984. <https://doi.org/10.3390/ma14081984>
- Platzer, M., Kiese, S., Tybussek, T., Herfellner, T., Schneider, F., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. 2022. Radical Scavenging Mechanisms of Phenolic Compounds: A Quantitative Structure-Property Relationship (QSPR) Study. *Frontiers in Nutrition*, 9, p.882458.
- Qarani, W., Husna, F., Yulia, W., Zulkarnain, Z., Syahrizal, D., Gani, B. A., Sary, N. L., Wardhani, B. W. K. 2023. Antioxidant and antiaging activities of *Cinnamomum burmannii*, *Michelia champaca* and their combinations. *Narra J*, 3(2), pp.1-11.
- Rasyid, F. A., Amin, A., Sukmawati, S., Djakariani, K. P., Riska, R., Aliansyah, Moch. R., Sari, C. A. 2023. Toxicity Activity and Total Phenolic Content of Soursop Leaves from Three Regions in South Sulawesi, Indonesia. *Journal of Experimental and Clinical Pharmacy (JECp)*, 3(2), p.116. <https://doi.org/10.52365/jecp.v3i2.674>

- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., Mahomoodally, M. F. 2020. The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), pp. 1–39. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Singh, N., Yadav, S. S. 2022. A review on health benefits of phenolics derived from dietary spices. *Current Research in Food Science*, 5, pp.1508–1523.
- Singh, R., Manna, P. P. 2022. Reactive oxygen species in cancer progression and its role in therapeutics. *Exploration of Medicine*, 3(1), pp.43–57.
- Syamsurizal, Utami, D.T, Efrini, E., Jumardi, M.I. 2023. Toxicity test of red palm (*Cyrtostachys renda* Blume.) using the brine shrimp lethality test (BSLT) method. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1, pp.407–413.
- World Health Organization. 2024. *Working for a brighter, healthier future How WHO improves health and promotes well-being for the world's adolescents Second edition.*
- Yoga, W. K., Komalasari, H. 2022. Potensi Alga Hijau (*Caulerpa Racemosa*) Sebagai Sumber Antioksidan Alami: Review. *Jurnal Teknologi Dan Mutu Pangan*, 1(1), pp.16–20. <https://doi.org/10.30812/jtmp.v1i1.2172>
- Zhang, L., Wu, J., Zhu, Z., He, Y., Fang, R. 2023. Mitochondrion: A bridge linking aging and degenerative diseases. *Life Sciences*, 322, p.121666. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121666>
- Zubaidi, S. N., Mohd Nani, H., Ahmad Kamal, M. S., Abdul Qayyum, T., Maarof, S., Afzan, A., Mohmad Misnan, N., Hamezah, H. S., Baharum, S. N., Mediani, A. 2023. *Annona muricata*: Comprehensive Review on the Ethnomedicinal, Phytochemistry, and Pharmacological Aspects Focusing on Antidiabetic Properties. *Life*, 13(2), p.353. <https://doi.org/10.3390/life13020353>