

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Klasifikasi Sirsak Gunung (*Annona Montana Macf.*)

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Family	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona montana</i> Macfad.



Gambar 2.1 Sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) (a), dan sirsak lokal (*Annona Muricata L.*) (b). Kebun Percobaan Balitbu Tropika, Solok, 2007.

## **2.2 Tinjauan Tentang Sirsak Gunung (*Annona Montana Macf.*)**

Sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) merupakan salah satu jenis tanaman buah yang berasal dari dataran Amerika Selatan yang beriklim tropis, yang kemudian menyebar luas ke daratan Asia Selatan dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Pada awalnya, sirsak merupakan tanaman pekarangan. Tanaman sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai 7 bentuk buah hampir bulat atau lonjong. Kulit buah berwarna hijau tua waktu muda dan berubah menjadi kuning setelah tua dengan duri pendek yang lunak. Daging buah berwarna kuning dan memiliki rasa kurang enak, tetapi aromanya harum yang khas dan mempunyai banyak biji bernas yang berwarna coklat muda Morton dalam (Sukarmin dan Ihsan 2012).

Sirsak gunung mengandung karotenoid yaitu pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan mata. (Maleta *et al.*, 2018). Karotenoid stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas. Karotenoid tidak stabil karena mudah teroksidasi oleh adanya oksigen dan peroksida. Selain itu, dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam. Kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa namun beberapa karotenoid seperti astaksantin dan fukosantin peka terhadap alkali (Wahyuni dan Widjanarko 2015).

## **2.3 Tinjauan Tentang Minuman Probiotik dari Sirsak Gunung (*Annona Montana Macf.*)**

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung mikroba hidup atau biasa disebut probiotik. Probiotik

diartikan sebagai suplemen berupa mikrobia hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsi melalui keseimbangan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia *and* Kusnadi, 2014; Sopandi *and* Wardah, 2014). Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah  $\geq 10^6$  CFU/mL (Boro, 2017).

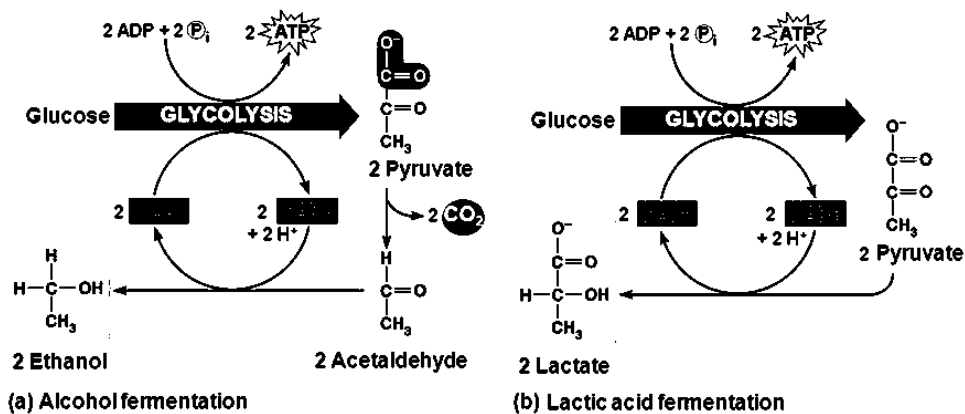
Pada pembuatan minuman probiotik, proses fermentasi dibantu dengan bantuan bakteri probiotik, yang merupakan bakteri asam laktat (BAL). BAL adalah bakteri yang melakukan penguraian glukosa atau karbohidrat menghasilkan asam laktat yang akan menurunkan pH serta menimbulkan rasa asam. Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin. Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri. Selain itu, mikrobia probiotik adalah tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi dan aman bagi manusia (Sunaryanto *et al.*, 2014).

Probiotik yang terkandung di dalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi riboflavin, niasin, thiamin, vitamin B6, vitamin B12, asam folat, meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi, mangan, tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak (Thantsha

*et al.*, 2012). Dari segi terapeutik, bakteri probiotik diklaim dapat mencegah terjadinya beberapa kondisi seperti *lactose intolerance*, alergi, diare, menurunkan kadar kolesterol, mencegah kanker usus besar, serta menghambat keberadaan bakteri patogen yang terdapat di dalam sistem pencernaan (Halim and Zubaidah, 2013).

## 2.4 Tinjauan Tentang Fermentasi

Fermentasi merupakan proses penguraian bahan-bahan yang mengandung karbohidrat dengan melibatkan bantuan BAL. Fermentasi dapat terjadi karena adanya sifat mikrobial penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat pangan, sebagai akibat pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan tersebut (Winarno, 1980). Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam, namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Muchtadi and Ayustaningwarno, 2010).



Gambar 2.2 Reaksi Fermentasi (B. Reece *et al.*, 2010).

Menurut Azizah *et al.* (2012) lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor – faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi, yakni :

#### 1 Substrat

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient yang dibutuhkan oleh mikroba fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat.

#### 2 Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi suhu lingkungan fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda – beda. Masing – masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimumnya untuk pertumbuhan. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolik yang dihasilkan, kebutuhan gizi dan reaksi enzimatik.

#### 3 Derajat keasaman (pH)

Merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. Oleh karena itu, pada awal pelaksanaan penelitian, substrat yang akan dipakai terlebih dahulu diuji pH-nya. Pada proses fermentasi, pH juga sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba dan hubungan erat dengan suhu, jika suhu naik maka pH optimum juga akan naik.

#### 4 Air

Mikroba tidak akan tumbuh tanpa adanya air. Air bertindak sebagai pelarut dan sebagian besar aktivitas metabolik dalam sel dilakukan dalam lingkungan air. Air merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba kelangsungan proses fermentasi.

## 2.5 Tinjauan Tentang Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim atau dari ancaman predator. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan dan dibentuk dari metabolit primer pada kondisi stress (Bhat *et al.*, 2009).

### 2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau 2 atom nitrogen (Harborne, 1987; Bhat *et al.*, 2009). Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid (Sirait, 2007). Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau dan penarik serangga (Harborne, 1987). Alkaloid sering kali beracun bagi manusia. Alkaloid biasanya tak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Harborne, 1987). Penambahan HCl pada pengujian alkaloid karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

### 2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiri dari C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007; Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agen polinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan (Bhat *et al.*, 2009). Bagi manusia, flavon dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, umumnya flavonoid larut cukup dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Pengujian flavonoid menggunakan pereaksi Mg dan HCl karena berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga.

### 2.5.3 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne,



1987). Pada uji saponin penambahan air panas bertujuan untuk membentuk busa pada sampel dan ketika busa terbentuk, ditambahkan HCl. Jika busa tetap ada artinya positif mengandung saponin. Alasan penambahan HCl karena saponin bersifat asam dan netral dan jika ditambahkan HCl akan menimbulkan asam yang tetap sehingga busa tidak hilang.

#### 2.5.4 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, berasa pahit dan kelat, yang bereaksi dengan menggumpalkan protein, atau berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid. Tanin memiliki senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lainnya untuk membentuk perikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain.

#### 2.5.5 Terpenoid dan Steroid

Terpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Terpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Harborne, 1987). Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009). Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemaknya yang

berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol hanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009).

Bhat *et al.* (2009) mengklasifikasikan sterol menjadi beberapa golongan sebagai berikut:

- a. Zoosterol, merupakan sterol yang terdapat pada hewan. Contoh  $5\alpha$ -cholestan- $3\beta$ -cholestan- $3\beta$ -ol.
- b. Fitosterol, merupakan sterol yang terdapat pada tumbuhan. Contoh stigmasterol.
- c. Mycoosterol, merupakan sterol yang ditemukan pada yeast dan fungi. Contoh mycoosterol.
- d. Marine sterol, merupakan sterol yang ditemukan pada organisme laut.

Pengujian steroid dan terpenoid menggunakan pereaksi Liebermen-Bouchard (anhidrida asetat –  $H_2SO_4$  pekat) karena Liebermen-Bouchard berfungsi untuk memisahkan jenis-jenis senyawa steroid. Awalnya setelah penambahan kloroform larutan berwarna kekuningan, namun setelah ditambah  $H_2SO_4$  pekat, terbentuk dua lapisan warna yang berbeda. Lapisan atas berwarna hijau dan batas antara dua larutan tersebut terbentuk cincin merah kecoklatan. Hal ini menunjukkan bahwa dalam sampel terdapat senyawa steroid dan triterpenoid.

## 2.6 Tinjauan Tentang metode Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna. Skrining fitokimia merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Kesulitan yang sering dihadapi pada proses skrining fitokimia adalah adanya false-positive result dan false-negative result. Ini harus diwaspadai agar kesimpulan yang diperoleh dari proses ini bukanlah kesimpulan yang salah.

Skrining fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Fitokimia atau kimia tumbuhan mempelajari aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara ilmiah serta fungsi biologinya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya serta sangat banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang digunakan obat-obatan yang dikenal sebagai obat tradisional sehingga diperlukan penelitian tentang penggunaan tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang berfungsi sebagai obat. Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam, yaitu saponin, steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid (Putranti dkk, 2013).



**Tabel 2.1 Hasil Uji Metabolit Sekunder (Jones dan Kinghorn, 2006).**

No	Uji fitokimia	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil uji
1.	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff 1 mL	Merah / Jingga	(+)
		Pereaksi Wagner 1 mL	Endapan coklat	(+)
		Pereaksi Mayer 1 mL	Endapan putih	(+)
2.	Flavonoid	serbuk magnesium 500 mg, 1 mL HCl pekat	Merah / jingga	(+)
3.	Terpenoid dan Steroid	pereaksi Liebermen-Bouchard dan larutan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung reaksi	Cincin merah kecoklatan	(+)
4.	Saponin	Dikocok 10 detik, pereaksi HCL 2N 2 tetes	Busa tidak hilang	(+)
5.	Tanin	Pereaksi asam asetat 10% 2 mL dan larutan Pb asetat 10% 1 mL	Endapan	(+)

## 2.7 Kerangka teori

Tanaman sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak putih, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai bentuk buah hampir bulat atau lonjong. Kulit buah berwarna hijau tua waktu muda dan berubah menjadi kuning setelah tua dengan duri pendek yang lunak. Daging buah berwarna kuning dan memiliki rasa kurang enak. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) positif mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid dan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Untuk mendapatkan suatu khasiat dari buah sirsak gunung ini maka perlu dilakukan ekstraksi. Ekstraksi dilakukan yang pertama adalah pengumpulan buah segar sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*). Kemudian buah segar dipisahkan dari biji, selanjutnya ditimbang. Kemudian buah segar yang sudah terpisah dari bijinya selanjutnya diekstraksi maserasi dengan cara dimasukkan ke dalam botol coklat, ditambahkan pelarut etanol 70% sampai buah sirsak gunung terendam, maserasi dilakukan selama kurang lebih 5x24 jam terhindar dari sinar matahari dan sesekali dilakukan pengocokan.

Setelah diperoleh ekstrak, dilakukan pemisahan dengan menggunakan alat evaporator yang bertujuan memisahkan pelarut etanol yang ada pada ekstrak. Hasil yang diperoleh biasanya masih berbentuk cair. Untuk lebih memekatkannya, ekstrak dipekatkan di waterbath sehingga pelarut yang terdapat pada ekstrak tersebut dapat menguap. Kemudian dihitung % rendemennya.

Dari hasil ekstraksi akan diperoleh berbagai macam senyawa metabolit sekunder dengan cara diuji kualitatif fitokimia, dimana masing-masing senyawa metabolit sekunder tersebut bermanfaat bagi kesehatan, misalnya senyawa alkaloid berkhasiat sebagai obat penenang, senyawa flavonoid berkhasiat untuk menangkal radikal bebas, senyawa tanin berfungsi sebagai antioksidan biologis, senyawa saponin berkhasiat untuk membantu menyembuhkan batuk.

Buah sirsak gunung ini telah dibuat menjadi sebuah minuman fungsional atau minuman probiotik. Dari hasil uji metabolit buah tersebut diperoleh berbagai macam senyawa metabolit sekunder.

## 2.8 Kerangka konsep

