

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Biji Australia (*Psidium Guajava L.*) Metode DPPH

Marshela Duta Larasati

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Korespondensi penulis: marsheladuta@gmail.com

Desy Ayu Irma Permatasari

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Isna Nur Khasanah

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Alamat: Jl. Pinang Raya Turi, Cemani, Kec. Grogol, Kab. Sukoharjo, Jawa Tengah 57552

Abstract. Australian guava fruit (*Psidium guajava L.*) is thought to have antioxidant activity. Antioxidants are compounds that are useful for treating oxidative damage caused by free radicals in the body. The aim of this study was to determine the secondary metabolite content and IC₅₀ value on the antioxidant activity of extracts and fractions from Australian guava fruit. This research used four solvents, including 70% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction with varying concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm and 250 ppm. The antioxidant test was carried out using a UV-Vis spectrophotometry tool with the DPPH method at a wavelength of 515 nm with an incubation time of 15 minutes. Antioxidant activity tests show that Australian guava fruit is effective as an antioxidant in capturing free radicals. The IC₅₀ value for the ethanol extract is 0.784 µg/mL, the n-hexane fraction is 2.448 µg/mL, the ethyl acetate fraction is 1.015 µg/mL and the water fraction is 0.676 µg/mL. All samples were included in the very strong category, but the water fraction had the best antioxidant activity among the ethanol extract, n-hexane and ethyl acetate fractions.

Keywords: Antioxidants, Australian guava, DPPH, IC₅₀.

Abstrak. Buah jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) diduga memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang berguna untuk mengatasi kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan nilai IC₅₀ pada aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari buah jambu biji australia. Penelitian ini menggunakan empat pelarut antara lain, ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan masing-masing variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Uji antioksidan dilakukan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH pada panjang gelombang 515 nm dengan waktu inkubasi 15 menit. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan buah jambu biji Australia efektif sebagai antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol yaitu 0,784 µg/mL, fraksi n-heksan yaitu 2,448 µg/mL, fraksi etil asetat yaitu 1,015 µg/mL dan fraksi air yaitu 0,676 µg/mL. Semua sampel termasuk dalam kategori sangat kuat, tetapi fraksi air memiliki aktivitas antioksidan paling baik di antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat.

Kata kunci : Antioksidan, Jambu biji Australia, DPPH, IC₅₀.

LATAR BELAKANG

Seiring perkembangan waktu, pola hidup manusia juga mengalami perubahan. Salah satunya adalah pola makan tidak sehat atau akibat terpaparnya zat yang dapat membahayakan tubuh (Yuslianti, 2018). Salah satu yang menjadi akibat utamanya adalah adanya penuaan dini. Penyebabnya adalah radikal bebas yang terbentuk saat adanya reaksi oksidasi berlebihan di dalam tubuh (Umayah, 2007). Serangan radikal bebas dapat merusak asam lemak dan menghilangkan elastisitas pada jaringan, sehingga kulit menjadi kering dan keriput (Mulyawan dan Suriana, 2013).

Antioksidan dibutuhkan agar sel-sel tubuh terhindar dari kerusakan (Hernani & Rahardjo, 2005). Menurut (Kikuzaki *et al.*, 2002) cara kerja antioksidan yaitu dengan menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan dapat diperoleh dari proses ekstraksi bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan (Andriani, 2008).

Indonesia dikenal sebagai negara tropis yang mempunyai kekayaan sumber daya alam yang beranekaragam. Salah satu contoh keanekaragaman tersebut yaitu berupa buah-buahan tropis, baik hasil tanam sendiri maupun hasil dari perkebunan khusus (Febrianti *et al.*, 2016). Salah satu buah tropis tersebut adalah jambu biji Australia yang termasuk dalam spesies *Psidium guajava L.* Jambu biji Australia mempunyai ciri khas tersendiri antara lain akar, batang, daun dan buah yang berwarna merah kecoklatan (Sembiring *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini diuji berbagai jenis pelarut untuk fraksinasi dari buah jambu biji Australia yang awal mulanya diekstrak dengan pelarut etanol. Pelarut untuk fraksinasi ini antara lain n-heksan, etil asetat, dan air. Oleh karena itu dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air buah jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil*) dengan spektrofotometri UV-Vis.

KAJIAN TEORITIS

Jambu biji Australia memiliki nama ilmiah *Psidium guajava L.* merupakan tanaman buah yang berasal dari Amerika (antara Meksiko dan Peru).



Sumber : Dokumentasi pribadi

Gambar 1. Tanaman dan buah jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*)

Tanaman jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) memiliki ciri berwarna merah kecoklatan (Haryadi dan Hidayati, 2018). Menurut Febryana, (2020) batang tanamannya tegak dengan tinggi 3-7 meter, mempunyai cabang serta ranting. Kulit batang berwarna coklat keabu-abuan dan tekstur yang mudah terkelupas. Warna kulit buah merah kekuning-kuningan, daging buah berwarna merah dan mempunyai rasa yang manis. Tanaman jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) mampu tumbuh pada daerah tropis maupun subtropis di dataran rendah – dataran tinggi dengan ketinggian 1000 mdpl, terpapar sinar matahari sepanjang hari dan memiliki curah hujan antara 1000-2000 mm/tahun (Haryadi dan Hidayati, 2008; Rochmasari, 2011).

Menurut penelitian Seo *et al.*, (2014), komponen senyawa kimia yang terdapat pada daun jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) yaitu tanin, guaijaverin, karotenoid, flavonoid, terpenoid, dan triterpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Febryana, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah jambu biji australia mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Sedangkan untuk ekstrak metanol buah jambu biji Australia mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan steroid. Penelitian ini menggunakan sampel dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, dan 9 ppm dengan larutan asam askorbat sebagai pembanding dengan konsentrasi 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; dan 2,5 ppm. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol buah jambu biji Australia yaitu 15,71 ppm dan nilai IC_{50} dari ekstrak metanol buah jambu biji Australia yaitu 17,12 ppm.

Tanaman jambu biji dapat dimanfaatkan daun dan buahnya, karena memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Bermanfaat sebagai antioksidan (Febrianti *et al.*, 2016), antimikroba (Mushtaq *et al.*, 2014), pengobatan penyakit diare akut maupun kronis, perut kembung, kadar kolesterol tinggi, luka, sariawan, sakit gigi, dan demam berdarah (Yani *et al.*, 2020).

Fraksinasi adalah untuk memisahkan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tertarik oleh pelarut polar, misalnya air, butanol dan etanol. Senyawa-senyawa yang bersifat semipolar akan tertarik oleh pelarut semipolar, misalnya golongan terpenoid dan alkaloid yang tertarik oleh pelarut etil asetat dan DCM. Senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar akan tertarik oleh pelarut nonpolar, misalnya heksana dan portoleum eter (Depkes RI, 2000).

Menurut Wulansari dan Chairul dalam Sembiring *et al.*, (2020), antioksidan adalah senyawa yang berguna untuk mengatasi kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh. Menurut Sayuti dan Yenrina, (2015), radikal bebas adalah molekul, atom atau gugus yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit paling luarnya, sehingga sangat radikal dan reaktif. DPPH adalah salah satu radikal bebas yang stabil. Prinsip metode DPPH berdasarkan pada kemampuan penstabil radikal DPPH yang bereaksi dengan hidrogen. DPPH memberikan serapan paling kuat pada panjang gelombang 517 nm dan mempunyai warna ungu (Dontha, 2016). Spektrofotometri UV-Vis adalah metode pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel (Suarsa, 2015). Nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*) adalah konsentrasi antioksidan ($\mu\text{g/mL}$) yang mampu menghambat 50% radikal bebas.

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan (Blois, 1985 dalam Molyneux, 2004)

Intensitas	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200
Sangat lemah	>200

METODE PENELITIAN

Subjek penelitian ini adalah Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) dengan pengambilan sampel di desa Bakaran RT 01/RW06, Sukosari, Jumantono, Karanganyar. Metode penelitian ini bersifat deskriptif eksperimen. Variabel bebas pada penelitian ini adalah berbagai variasi pelarut yaitu ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari buah jambu biji australia (*Psidium guajava* L.) dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan dan cara ekstraksi dari simplisia buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bejana maserasi, blender (*Niko*), gelas ukur (*pyrex*), batang pengaduk, labu Erlenmeyer (*pyrex*), labu ukur (*pyrex*), pipet tetes, pipet volume, beaker glass (*pyrex*), tabung reaksi (*Iwaki*), rak tabung reaksi, kertas saring, kuvet, cawan krus, desikator, timbangan analitik (*Fujitsu*), corong *buchner*, corong pisah, ayakan nomor 60, oven (*Binder*), *rotary evaporator* (*RE 100-Pro*), *moisture balance* (*Ohaus*), *waterbath* (*Faithful*) dan spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS*).

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.), etanol 70%, n-heksan, etil asetat, air/aquadest, serbuk magnesium, HCl pekat, pereaksi dragendorff, HCl 2N, FeCl₃ 5%, CHCl₃, toluen, dietilamin, aseton, asam formiat, metanol, *Liberman Bouchardat*, anhidrat asetat, H₂SO₄, asam asetat, serbuk DPPH, asam format, *silica gel*, n-butanol, AlCl₃ dan serbuk vitamin C (asam askorbat).

Tahapan Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat (B2P2TOOT) Tawangmangu.

2. Preparasi Sampel

Buah jambu biji Australia sebanyak 5 kg dicuci dan dipisahkan dari kulitnya, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama ±5 hari. Blender hingga menjadi serbuk, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk halus dengan ukuran yang seragam.

3. Standarisasi Simplisia

a. Uji Susut Pengerinan

Serbuk buah jambu biji Australia ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan dalam krus tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan di oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara.

b. Uji Kadar Air

Serbuk buah jambu biji Australia dimasukkan 2 gram ke dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, atur suhu 105°C dan proses pengerjaan selama 5 menit. Kemudian catat kadar yang tertera pada *Moisture Balance*.

4. Ekstraksi

Sebanyak 500 gram serbuk buah jambu biji australia ditimbang dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut etanol. Perbandingan serbuk dan pelarut yang digunakan adalah 1:10 dan dilakukan selama 3x24 jam dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Nugroho, 2021).

5. Standarisasi Ekstrak

a. Uji Organoleptik

Dilakukan pengujian secara organoleptik yang meliputi sifat zat secara umum terutama bentuk, warna, ukuran, bau dan rasa.

b. Uji Susut Pengerinan

Ekstrak buah jambu biji Australia dimasukkan 2 gram ke dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, atur suhu 105°C dan proses pengerjaan selama 5 menit. Kemudian catat kadar yang tertera pada *Moisture Balance*.

c. Uji Bebas Etanol

Ekstrak kental sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol.

d. Uji Kadar Air

Ekstrak buah jambu biji Australia dimasukkan 2 ml ke dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, atur suhu 105°C dan proses pengerjaan selama 5 menit. Kemudian catat kadar yang tertera pada *Moisture Balance*.

Skrining Fitokimia

e. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia ditimbang, ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Diambil 3 tabung reaksi dan dimasukkan 0,5 ml filtrat. Tabung 1, ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, bila positif akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Tabung 2, ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorff, bila positif terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan. Tabung 3, ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, bila positif akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.

f. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 0,5 gram serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat, bila bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah.

g. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan larutan FeCl_3 5% bila bereaksi positif akan menghasilkan warna ungu atau hitam yang kuat.

h. Uji Saponin

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 10 ml air lalu dipanaskan selama 2-3 menit. Kemudian didinginkan, setelah dingin lalu dikocok dengan kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm dan pada penambahan HCl 2N buih akan hilang.

i. Uji Steroid dan Triterpenoid

Dimasukkan 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 ml kloroform, 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna biru dan terbentuknya warna merah jingga atau ungu untuk positif adanya triterpenoid.

6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode KLT menggunakan fase diam pada silika gel GF245 dengan ukuran panjang 7 x 2 cm dengan jarak elusi 5 cm.

a. Identifikasi Alkaloid

Fase gerak yang digunakan adalah toluen : etil asetat : dietilamin (7 : 2 : 1) dibuat sebanyak 10 ml. Uji senyawa alkaloid menggunakan pereaksi semprot (penampak noda) *Dragendorff*. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya spot berwarna orange pada sinar tampak dan spot berfluoresensi merah pada UV 366.

b. Identifikasi Flavonoid

Fase gerak yang digunakan adalah CHCl_3 : etil asetat (6 : 4) dibuat sebanyak 10 ml. Uji senyawa flavonoid menggunakan pereaksi semprot (penampak noda) AlCl_3 10 %. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya spot warna coklat, kuning, hijau atau biru.

c. Identifikasi Tanin

Fase gerak yang digunakan adalah toluen : aseton : asam formiat (3 : 3 : 0,5) dibuat sebanyak 6,5 ml. Uji senyawa tanin menggunakan pereaksi semprot (penampak noda) FeCl_3 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya spot berwarna biru kehitaman pada sinar dan pada tanin terkondensasi ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna hijau kecoklatan.

d. Identifikasi Saponin

Fase gerak yang digunakan adalah CHCl_3 : metanol : air (6 : 3 : 1) dibuat sebanyak 10 ml. Uji senyawa saponin menggunakan pereaksi semprot (penampak noda) *Lieberman Bouchardat*. Hasil positif saponin ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kekuningan atau hijau kebiruan.

e. Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (1 : 1) dibuat sebanyak 8 ml. Uji senyawa steroid dan terpenoid menggunakan pereaksi semprot (penampak noda) H_2SO_4 (asam sulfat) 10%. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan adanya spot warna ungu, merah, hijau atau biru pada sinar UV (Maulana, 2019).

7. Fraksinasi

Fraksinasi dibuat dengan menimbang ekstrak kental didalam gelas kimia sebanyak 10 gram. Ekstrak yang sudah ditimbang dilarutkan dengan akuades 100 ml. Larutan dipartisi dengan menambahkan N-heksan dalam corong pisah dan sesekali katup labu pemisah dibuka untuk mengeluarkan gas yang dihasilkan saat pengocokan. Campuran larutan didiamkan hingga terdapat dua fase kemudian larutan di tampung dan dilanjutkan penggojogan menggunakan etil asetat dan air. Fase etil asetat ditampung dalam wadah, kemudian sisa yang tertinggal pada corong pisah merupakan fase air. Proses tersebut dilakukan pengulangan. Hasil fraksi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 10 menit.

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol pro analysis (p.a) dalam labu tentukur.

b. Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C 200 ppm

Larutan uji vitamin C dibuat dengan konsentrasi sebesar 200 ppm dengan cara sebanyak 2 mg vitamin C, kemudian dilarutkan dengan metanol absolut dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji vitamin C konsentrasi 200 ppm diencerkan menjadi konsentrasi uji 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm (Nugroho, 2021).

c. Pembuatan Larutan Sampel Uji Ekstrak dan Fraksi 1000 ppm

Larutan uji ekstrak dan fraksi dibuat dengan cara menimbang masing-masing ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air buah jambu biji australia sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol pro analysis (p.a) sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu ruang pada ruangan gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang Vis 450-600 nm.

e. Operating Time (OT) Vitamin C (Pembanding)

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara memipet 0,75 ml dari larutan vitamin C pada setiap konsentrasi, kemudian ditambahkan dengan larutan 2 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum yang didapat mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-30 dengan selang waktu 5 menit (Nugroho, 2021).

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Vitamin C, Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*)

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 1 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, air dan larutan vitamin C, kemudian ditambahkan dengan larutan 2 ml DPPH hingga homogen. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Nugroho, 2021).

8. Analisis Data

Pengolahan data IC₅₀ yang menunjukkan kekuatan aktivitas antioksidan dijelaskan secara deskriptif berdasarkan penggolongan kekuatan antioksidan menurut klasifikasi Blois.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) terhadap kepustakaan. Penelitian ini dilakukan determinasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat (B2P2TOOT) Tawangmangu. Hasil determinasi membuktikan bahwa tanaman yang diteliti benar Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*)

Pengolahan Sampel

Bagian yang digunakan dalam penelitian adalah daging buahnya yang masih segar sehingga sampel harus dipisahkan dari kulit dan bijinya. Perajangan sampel diperlukan untuk mempercepat proses pengeringan yang dilakukan di bawah sinar matahari dengan bertutup kain berwarna gelap.

Tabel 2. Hasil Rendemen Simplisia

Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%) b/b
2.725	635	23,3 %

Penentuan rendemen berguna untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut tanpa menentukan senyawa yang terbawa. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi pula nilai ekstrak yang dihasilkan.

Tabel 3. Hasil Randemen Serbuk

Bobot Kering (gram)	Bobot Serbuk (gram)	Rendemen (%) b/b
635	606	95,4 %

Simplisia yang telah kering sempurna harus dilakukan penghalusan dengan blender. Serbuk yang akan digunakan dalam maserasi yaitu serbuk yang lolos dalam pengayakan nomor 60, sehingga serbuk harus diayak dengan pengayak nomor 60. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan di maserasi ulang atau remaserasi selama 2 hari dengan banyaknya etanol 70%.

Tabel 4. Hasil Randemen Ekstrak

Bobot Awal (gram)	Bobot Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%) b/b
500	109	21,8 %

Standarisasi Simplisia

1. Uji Susut Pengeringan

Tabel 5. Hasil Uji Susut Pengeringan Simplisia

Replikasi	Bobot Ekstrak	Bobot Cawan Kosong	Bobot Simplisia + Cawan (Setelah Pengeringan)	Hasil	Rata-rata
I	2 gr	41,756 gr	43,568 gr	9,40%	10,50%
II	2 gr	41,756 gr	43,568 gr	10,95%	
III	2 gr	41,756 gr	43,568 gr	11,15%	

Diperoleh rata-rata susut pengeringan serbuk sebesar 10,5%. Nilai susut pengeringan tersebut sedikit melebihi persyaratan yang telah ditetapkan yaitu $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2008), dikarenakan pada saat pengujian susut pengeringan, kelembaban simplisia mengalami peningkatan saat disimpan.

2. Uji Kadar Air

Tabel 6. Hasil Uji Kadar Air Simplisia

Bobot Serbuk Simplisia	Kadar Air
2 gram	9,22%

Nilai tersebut tidak melebihi persyaratan kadar air yang telah ditetapkan yaitu $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2008).

Standarisasi Ekstrak

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik ekstrak antara lain bentuk berupa cairan kental, berwarna coklat kehitaman, bau jambu biji yang menyengat dan rasanya pahit.

2. Uji Susut Pengeringan

Tabel 7. Hasil Uji Susut Pengeringan Ekstrak

Replikasi	Bobot Ekstrak	Hasil	Rata-rata
I	2 gr	9,50 %	9,69 %
II	2 gr	9,96 %	
III	2 gr	9,62 %	

Diperoleh rata-rata susut pengeringan ekstrak sebesar 9,69 %. Nilai susut pengeringan tersebut memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan yaitu $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2008).

3. Uji Bebas Etanol

Ekstrak kental sebanyak 1 ml dimasukkan ke cawan porselen, ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan di atas *waterbath*. Ekstrak tersebut dikatakan bebas etanol karena tidak ada bau ester yang khas dari etanol.

4. Uji Kadar Air

Tabel 8. Hasil Uji Kadar Air Ekstrak

Bobot ekstrak	Kadar Air
2 gram	6,97%

Nilai tersebut tidak melebihi persyaratan kadar air yang telah ditetapkan yaitu $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2008).

Skrining Fitokimia

**Tabel 9. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol jambu biji Australia
(*Psidium guajava L.*)**

No.	Senyawa Kimia	Hasil Uji	+/-
1.	Alkaloid	Ekstrak + asam klorida 2N + air suling → masukkan pada 3 tabung. ▪ Tabung 1 + pereaksi Mayer → tidak terdapat endapan. ▪ Tabung 2 + pereaksi Dragendorff → endapan berwarna jingga kecoklatan. ▪ Tabung 3 + pereaksi Bouchardat → endapan berwarna coklat kehitaman.	+
2.	Flavonoid	Ekstrak + serbuk Mg + HCl pekat → larutan berwarna jingga	+
3.	Tanin	Ekstrak + FeCl_3 5% → larutan berwarna hitam yang kuat.	+
4.	Saponin	Ekstrak + air panas → terbentuk buih setelah dikocok.	+
5.	Triterpenoid	Ekstrak + kloroform + anhidrat asetat + asam sulfat pekat → larutan berwarna jingga dan cincin kecoklatan.	+

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tabel 10. Hasil identifikasi senyawa dengan KLT

Senyawa	Fase Gerak	Penampak Noda	UV 366	Rf
Alkaloid	toluen : etil asetat : dietilamin (7 : 2 : 1)	<i>Dragendroff</i>	Merah	0,96
Flavonoid	CHCl ₃ : etil asetat (6 : 4)	AlCl ₃ 10%	Kuning	0,94
Tanin	toluen : aseton : asam formiat (3 : 3 : 0,5)	FeCl ₃ 5%	Hitam	0,58
Saponin	CHCl ₃ : metanol : air (6 : 3 : 1)	<i>Lieberman Bouchardat</i>	Hijau kekuningan	0,92
Steroid	n-heksan : etil asetat (1 : 1)	H ₂ SO ₄	Merah	0,88

Fraksinasi

Hasil fraksi dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak pekat fraksi n-heksan, etil asetat dan air.

Tabel 11. Hasil Rendemen Fraksi

Fraksi	Bobot Ekstrak (gram)	Bobot Fraksi (gram)	Randemen % (b/b)
N-Heksan	10	1,09	10,9 %
Etil asetat	10	2,78	27,8 %
Air	10	5,06	50,6 %

Uji Antioksidan

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Didapatkan hasil panjang gelombang maksimum pada 515 nm dengan absorbansi 0,771.

2. Penentuan *Operating Time*

Pengukuran absorbansi untuk memperoleh waktu terstabil larutan adalah pada menit ke 15 dengan absorbansi 0,215.

3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Tabel 12. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan

Larutan Uji	Konsentrasi	Rata-rata	Inhibisi (%)	Regresi linier	R ²	Nilai IC ₅₀
Vitamin C	2 ppm	0,357	53,696	$y=9,8963x + 43,670$	0,9983	0,639 $\mu\text{g/ml}$
	4 ppm	0,281	63,553			
	6 ppm	0,212	72,503			
	8 ppm	0,122	84,176			
	10 ppm	0,055	92,866			
Ekstrak Etanol	50 ppm	0,375	51,361	$y=10,61x + 41,686$	0,9974	0,784 $\mu\text{g/ml}$
	100 ppm	0,282	63,424			
	150 ppm	0,195	74,708			
	200 ppm	0,124	83,916			
	250 ppm	0,045	94,163			
Fraksi N-Heksan	50 ppm	0,429	44,358	$y=4,1114x + 39,935$	0,9947	2,448 $\mu\text{g/ml}$
	100 ppm	0,405	47,470			
	150 ppm	0,364	52,788			
	200 ppm	0,338	56,160			
	250 ppm	0,304	60,570			
Fraksi Etil Asetat	50 ppm	0,381	50,583	$y=7,2689x + 42,618$	0,9969	1,015 $\mu\text{g/ml}$
	100 ppm	0,338	56,106			
	150 ppm	0,273	64,591			
	200 ppm	0,216	71,725			
	250 ppm	0,161	79,118			
Fraksi Air	50 ppm	0,368	52,269	$y=10,636x + 42,801$	0,9949	0,676 $\mu\text{g/ml}$
	100 ppm	0,273	64,591			
	150 ppm	0,187	75,745			
	200 ppm	0,105	86,381			
	250 ppm	0,042	94,552			

Aktivitas antioksidan pada buah jambu biji Australia dipengaruhi oleh adanya senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya, seperti alkaloid, tannin dan flavonoid. Keberadaan alkaloid memberikan aktivitas peredaman radikal bebas (Hernani dan Rahardjo, 2005). Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas (Siyanti *et al.*, 2019). Keberadaan tanin juga berperan dalam potensi antioksidan. Tanin biasanya terdapat pada teh (Febryana, 2020).

Flavonoid merupakan senyawa alami yang banyak ditemukan di berbagai tumbuh-tumbuhan dan makanan untuk mengobati penyakit seperti kanker, radang, dan sebagai antioksidan akibat radikal bebas. Terjadinya metilasi

flavonoid mengakibatkan peranan flavonoid di bidang obat-obatan meningkat. Metilasi dari flavonoid melalui kelompok hidroksil bebasnya atau atom C yang dapat meningkatkan stabilitas metaboliknya dan meningkatkan transportasi membran yang terjadi dalam tubuh (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Warna merah pada buah jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) disebabkan karena buah tersebut memiliki kandungan senyawa antosianin. Senyawa antosianin merupakan senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa antosianin bersifat polar, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol dan air (Djaeni, 2017). Nilai IC_{50} semua sampel termasuk dalam kategori sangat kuat, tetapi nilai IC_{50} yang paling kuat adalah fraksi air dengan nilai IC_{50} sebesar 0,676 $\mu\text{g/mL}$. Air termasuk pelarut dengan sifat polar. Hal ini bisa mempengaruhi dalam penarikan senyawa yang bersifat polar juga pada saat fraksinasi seperti senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus yang tidak tersubstitusi (Kemit *et al.*, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol dari buah jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol sebesar 0,784 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} dari fraksi n-heksan sebesar 2,448 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} dari fraksi etil asetat sebesar 1,015 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} dari fraksi air sebesar 0,676 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} semua sampel termasuk dalam kategori sangat kuat, tetapi nilai IC_{50} yang paling kuat adalah fraksi air dengan nilai IC_{50} sebesar 0,676 $\mu\text{g/mL}$.

Saran

Sebaiknya dilakukan uji penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas antioksidan jambu biji australia (*Psidium guajava L.*) dengan metode berbeda, seperti metode FRAP dan ABTS.

DAFTAR REFERENSI

- Andriani, Y. 2008. Toksisitas Fraksi Fraksi Aktif Steroid Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) Terhadap Aktivitas Serum Glutamat Oksalat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada Tikus Putih. *Jurnal Gradien*, 4: 365-371.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Indonesia.
- Djaeni, M., Ariani, N., Hidayat, R., & Utari, F. (2017). Ekstraksi antosianin dari kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) berbantu ultrasonik: Tinjauan aktivitas antioksidan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3).
- Dontha, S. (2016). A review on antioxidant methods. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 9(2), 14-32.
- Febrianti, N., Mila, I. R., Irfan, Y., Risandi, D. 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Buah Papaya (*Carica papaya* L.) Dan Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.). *Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016*.
- Febryana, S. F. A. (2020). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Buah Jambu Biji Ungu (*Psidium guajava* L.) Menggunakan Pelarut Yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Haryadi, I., & Hidayati, N. (2018). Ekstraksi Zat Warna Dari Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.). *Indonesia Journal of Halal*, 1(2), 97. <https://doi.org/10.14710/halal.v1i2.4180>
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Kemit, N., Widarta, W.R., dan Nocianitri, K.A. 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill). *E Jurnal ITEPA Universitas Udayana*.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., Taniguci, H. 2002. Antioxidants Properties Of Ferulic Acid And Its Related Compound. *J. Agric. Food Chem.* 2 (1).
- Maulana, M. 2019. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Cristi* L.) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Doctoral Dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Molyneux P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.

- Muliyawan D, Suriana N. *A-Z Tentang Kosmetik*. Elex Media Komputindo. Jakarta; 2013. 195.
- Mushtaq, M., Akhtar, B., Daud, M., Mohsin, F., Rehman, G., Iqbal, S., Iqbal, Z., & Khan, M. Z. (2014). In Vitro Antimicrobial Activity Of Guava Leaves Extract Against Important Bacterial And Fungal Strain. *International Journal of Biosciences*, 6655(23), 188–192.
- Nugroho, W. F. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikryl Hidrazyl). *Skripsi*. Universitas dr. Soebandi.
- Rochmasari, Y. (2011). Senyawa Kimia Dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*). *Skripsi*. Depok : Universitas Indonesia, 82.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Padang : Andalas University Press.
- Sembiring, B. B., Nurliani, B., & Andriana, K. 2020. Pengaruh Teknik Ekstraksi Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Jamu Indonesia* 5(1) : 22-32.
- Seo, J., Lee, S., Elam, M.L., Johnson, S. A., Kang, J., Armandi, B. H., (2014), Study To Find The Best Extraction Solvent For Use With Guava Leaves (*Psidium guajava L.*) For High Antioxidant Efficacy, *Food Science & Nutrition*, 2((2)) : 174–180.
- Siyanti, A., & Fitriani, N. (2019, October). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Alpukat (*Persea americana Mill.*) terhadap Peredaman DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 10. 72-75).
- Suarsa, I., W. (2015) ‘*Spektroskopie*’, *Grundlagen der Astrophysik*, Hal. 214–298. doi: 10.1007/978-3-662-34555-9_3.
- Umayah, E.U., Amrun, M. 2007. Uji Aktivitas antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus Undatus* (Haw.) Britt & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*. 8: 83-90.
- Yani, I. S., Muthmainah, N., & Yasmina, A. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji Terhadap *Salmonella typhi* In Vitro. *Homeostasis*, 3(2), 277–282.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta : Deepublish.