

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
JAMBU BIJI PUTIH (*Psidium guajava* L.) DENGAN
METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil)**

SKRIPSI



**Oleh :
Noveramli Sidonika Tefi
NIM 18040077**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
JAMBU BIJI PUTIH (*Psidium guajava* L.) DENGAN
METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :
Noveramli Sidonika Tefi
NIM 18040077

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Jember, 19 Desember 2022

Pembimbing I



Jenie Palupi S.Kp., M.Kes.
NIDN. 401906901

Pembimbing II



apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava L*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 23 Desember 2022

Tempat : Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.
Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,


Gumiarti, S.ST.,M.PH.
NIDN. 4005076201

Penguji II,


Jenie Palupi S.Kp., M.Kes.
NIDN. 401906901

Penguji III,


apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi


Hella Melody Eursina, S.Kep., Ns., M.Kep.
NIDN. 0706109104

KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Noveramli Sidonika Tefi

NIM : 18040077

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia sanksi akademik jika dikemudian hari ini tidak benar.

Jember, 23 Desember 2022

Yang menyatakan,



Noveramli Sidonika Tefi

18040077

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI PUTIH (*Psidium guajava* L.) DENGAN METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil)

**Oleh :
Noveramli Sidonika Tefi
NIM. 18040077**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Jenie Palupi S.Kp., M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah. M.Farm.

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberi hikmat dan kebijaksanaan yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
2. Ayah, Ibu dan Adik serta semua keluarga atau saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, dan semangat;
3. Angel, Katrin, Kak Fani dan Yendy yang selalu setia memberikan bantuan serta dukungan dan meluangkan waktunya untuk penulis;
4. Kak Neta dan teman-teman komunitas LPMI Jember yang selalu setia memberikan dukungan, doa dan meluangkan waktunya untuk penulis;
5. Almamater Universitas dr Soebandi Jember.

MOTTO

“Takut akan Tuhan adalah permulaan pengetahuan, tetapi orang bodoh
menghina hikmat dan didikan.”

Amsal 1:7

“Jagalah hatimu dengan segala kewaspadaan, karena dari situlah terpancar
kehidupan.”

Amsal 4:23

“Karena masa depan sungguh ada, dan harapan tidak akan hilang.”

Amsal 23:18

“Ia membuat segala sesuatu indah pada waktunya, bahkan Ia memberikan
kekekalan dalam hati mereka.”

Pengkhotbah 3:11

“Jangan batasi Tuhan karena Tuhan punya cara yang baru & waktu yang
tidak pernah terpikirkan. Tuhan kreatif Dia punya cara tersendiri.”

Unknown

ABSTRAK

Tefi, Noveramli Sidonika* Palupi, Jenie** Fauziah, Dina Trianggaluh***. 2022.
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava L*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil). Skripsi.
Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi.

Latar Belakang: Tanaman daun jambu biji putih (*Psidium guajava L*) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam famili *Myrtaceae*, sejak lama digunakan untuk pengobatan secara tradisional dan serta dibuat dalam bentuk produk herbal. Bermanfaat sebagai antibakteri, antidiare, batuk flu dan demam berdarah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis peredaman radikal bebas pada ekstrak etanol daun jambu biji putih.

Metode: Penelitian dilakukan secara eksperimen laboratorium. Tanaman daun jambu biji putih (*Psidium guajava L*) diambil di dusun Langsepan, Jenggawah secara acak. Ekstraksi dilakukan dengan metode perkolasi. Pengujian Aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm. Penentuan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC50 dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari hubungan antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi dengan kategori sangat kuat, kuat, sedang, dan lemah. Pengukuran flavonoid total pada panjang gelombang 416.

Hasil Penelitian: Ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava L*) yang diambil dari desa Langsepan, Jenggawah. Ekstrak daun jambu biji putih dengan konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm memiliki nilai IC50 sebesar 46,70 µg/mL replikasi 1, replikasi 2 sebesar 43,04 µg/mL, dan 41,01 µg/mL replikasi 3. Hasil analisis nilai antioksidan sebesar 45,58 µg/mL yang termasuk antioksidan sangat kuat. Kadar flavonoid ekstrak etanol daun jambu biji putih memiliki nilai sebesar 8,89% mgQE/g.

Kesimpulan: Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava L*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang menyebabkan daun jambu biji putih termasuk antioksidan kuat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan eksogen.

Kata kunci: Antioksidan, Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava L*), DPPH.

* Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Tefi, Noveramli Sidonika* Palupi, Jenie** Fauziah, Dina Trianggaluh***. 2022.
Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of White Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) Using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil) Method. Essay. University of Pharmacy Undergraduate Study Program Dr. Soebandi.

Background: The white guava leaf plant (*Psidium guajava* L) is a plant that belongs to the Myrtaceae family, which has been used for a long time as traditional medicine and is also made in the form of herbal products. Beneficial as an antibacterial, anti-diarrhea, cough flu and dengue fever. The purpose of this study was to analyze the scavenging of free radicals in the ethanol extract of white guava leaves.

Methods: The study was conducted in a laboratory experiment. White guava leaves (*Psidium guajava* L) were taken at random from Langsepan sub-village, Jenggawah. Extraction was carried out by percolation method. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH method with concentrations of 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm. Determination of antioxidants is expressed in IC₅₀ values calculated using a linear regression equation from the relationship between sample concentration and % inhibition with very strong, strong, medium, and weak categories. Measurement of total flavonoids at a wavelength of 416.

Research Results: Ethanol extract of white guava leaves (*Psidium guajava* L) taken from Langsepan village, Jenggawah. White guava leaf extract with concentrations of 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm had an IC₅₀ value of 46.70 µg/mL in replication 1, in replication 2 of 43.04 µg/mL, and 41.01 µg/ mL replication 3. The results of the analysis showed that the antioxidant value was 45.58 µg/mL, which is a very strong antioxidant. The flavonoid content of the ethanol extract of white guava leaves has a value of 8.89% mgQE/g.

Conclusion: Ethanol Extract of White Guava Leaves (*Psidium guajava* L) contains secondary metabolite compounds which cause white guava leaves to be strong antioxidants so that they can be used as exogenous sources of antioxidants.

Keywords: Antioxidants, White Guava Leaves (*Psidium guajava* L), DPPH.

* Researcher

**Supervisor 1

***Supervisor 2

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan hikmat dan kebijaksanaan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil)”.

Selama proses penyusunan proposal ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Ns. Said Mardijanto, S.Kep., M.M selaku rektor Universitas dr. Soebandi Jember
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm, M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. Ibu Gumiarti. S.ST.,M.PH selaku ketua penguji yang telah bersedia menjadi dosen penguji dan memberikan saran serta kritik yang membangun bagi skripsi penulis;
5. Ibu Jenie Palupi, S.Kp.,M.Kes selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;
6. Ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing

penulis dalam penulisan skripsi ini;

7. Seluruh dosen FIKES Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi dan para guru saya, dari TK sampai SMA yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
8. Mbak Nanda selaku laboran laboratorium kimia dan Kak Nabila selaku laboran laboratorium biologi di Universitas dr Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian;
9. Yendy dan Kak Fany yang menjadi teman pada saat peneliti sedang penelitian di Laboratorium.
10. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember.

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 23 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Peneliti	5
1.4.2 Bagi Peneliti Lain	5
1.4.3 Bagi Masyarakat	5
1.4.4 Bagi Ilmu Pengetahuan	5
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Tanaman Jambu Biji Putih	9
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Jambu Biji Putih	9
2.1.2 Morfologi Tanaman Jambu Biji Putih	9
2.1.3 Kandungan dan Khasiat Daun Jambu Biji Putih	11
2.2 Radikal Bebas	12
2.2.1 Pengertian Radikal Bebas	12
2.2.2 Sumber Radikal Bebas	13
2.2.3 Mekanisme Radikal Bebas	14
2.3 Antioksidan	14
2.3.1 Pengertian Antioksidan	14
2.3.2 Jenis Antioksidan Alam	16
2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan	17
2.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan	18
2.5 Senyawa Flavonoid	19
2.6 Metode Ekstraksi	20
2.7 Definisi Ekstraksi	21

2.7.1 Maserasi	22
2.7.2 Perkolasi	22
2.7.3 Sokhletasi	23
2.7.4 Ultrasound-Assisted Solvent Extraction	24
2.7.5 Reflux	24
2.7.6 Destilasi Uap	25
2.8 Instrument Spektrofotometri UV-Vis	26
2.8.1 Sumber Radiasi	27
2.8.2 Monokromator	27
2.8.3 Sel atau Kuvet	27
2.8.4 Foto Sel	27
2.8.5 Display	28
BAB III KERANGKA KONSEP	32
3.1 Kerangka Konsep	32
3.2 Hipotesis Penelitian	33
BAB IV METODE PENELITIAN	34
4.1 Desain Penelitian	34
4.2 Sampel	34
4.3 Populasi	34
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	35
4.5 Variabel Penelitian	35
4.5.1 Variabel Bebas	35
4.5.2 Variabel Terikat	36
4.5.3 Variabel Terkendali	36
4.6 Definisi Operasional	37
4.7 Teknik Pengumpulan Data	38
4.7.1 Alat dan Bahan	38
4.7.2 Determinasi Tanaman	39
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji Putih	39
4.7.4 Skrining Fitokimia	40
4.7.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	41
4.7.6 Analisis Kandungan Flavonoid Total	43
4.8 Teknik Analisa Data	44
BAB V HASIL PENELITIAN	46
5.1 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm Menggunakan Metode DPPH	46
5.2 Analisis Nilai Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Pada Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (<i>Psidium guajava</i> L)	48
5.3 Identifikasi Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji Putih Menggunakan Metode DPPH	50
BAB VI PEMBAHASAN	52
6.1 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm Menggunakan Metode DPPH	52

6.2 Analisis Nilai Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Pada Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (<i>Psidium guajava</i> L).....	53
6.3 Identifikasi Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji Putih Menggunakan Metode DPPH.....	54
BAB VII PENUTUP	57
7.1 Kesimpulan.....	57
7.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

1.1 Keaslian Penelitian	6
4.1 Definisi Operasional	37
5.1 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm	47
5.2 Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	48
5.3 Flavonoid Total	51

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tanaman Jambu Biji Putih (<i>Psidium guajava L</i>)	9
2.2 Struktur Kimia Vitamin C	16
2.3 DPPH	19
2.4 Struktur Flavonoid	20
2.5 Alat Perkolasi	23
2.6 Alat Sokhletasi	24
2.7 Alat Reflux	25
2.8 Alat Destilasi Uap	25
2.9 Pembacaan Spektrofotometer	30
2.10 Cahaya Pembacaan Spektrofotometer	30
3.1 Kerangka Konsep	32
4.1 Kerangka Operasional.....	34
5.1 Grafik Antioksidan Larutan Kuersetin.....	49
5.2 Grafik Antioksidan Larutan Ekstrak Daun Jambu Biji Putih	50
5.3 Grafik Kuersetin Flavonoid Total	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Jambu Biji Putih	64
Lampiran 2. Hasil Pengambilan dan Pengolahan Ekstrak Etanol Daun Jambu....	65
Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia	66
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Jambu	67
Lampiran 5. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Jambu dan Larutan Kuersetin....	68
Lampiran 6. Panjang Gelombang Larutan DPPH 40 ppm.....	70
Lampiran 7. Data Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin.....	71
Lampiran 8. Grafik dan Perhitungan nilai IC ₅₀ Kuersetin	72
Lampiran 9. Data Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu	75
Lampiran 10. Grafik dan Perhitungan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Daun Jambu	76
Lampiran 11. Perhitungan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu	79
Lampiran 12. Optimasi Waktu Inkubasi.....	81

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

A	: Absorban
a	: absorptivitas
b	: Tebal kuvet
c	: Konsentrasi
Cm	: Centimeter
BHA	: <i>Butylated Hydroxy AniLine</i>
BHT	: <i>Butylated Hydroxy Toluen</i>
C	: Carbon
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil</i>
g	: Gram
H	: Hipotesis
IC	: Inhibitor Concentration
m	: Meter
mdpl	: Meter Diatas Permukaan Laut
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
nm	: Nanometer
ppm	: Part per milion
R*	: Radikal bebas
ROO*	: Radikal peroksi
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOR	: Senyawa Oksigen Reactive
T	: Transmitan
UV	: Ultraviolet
Uv-Vis	: Ultra Violet Vesibel
x	: Absorbansi sampel
y	: Konsentrasi sampel
%	: Persen
µg/mL	: Mikrogram per mililiter

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menangkal dan menghambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Kesuma, 2015). Antioksidan dari tumbuhan bekerja menghalangi kerusakan oksidatif dengan membentuk kelat dengan senyawa logam katalik, dan menangkap oksigen (Najoan et al., 2016).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan sintetik semakin berkurang karena dapat menimbulkan akibat negatif pada kesehatan (kerusakan hati) dan dapat menimbulkan zat karsinogen sehingga penggunaannya digantikan oleh antioksidan alami (Surya, 2017). Antioksidan alami adalah senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan alam (Ramadhan & Sudarsono, 2013). Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas.

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal bebas cenderung akan membentuk reaksi berantai, apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus-menerus (Wahdaningsih et al., 2011). Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (endogen) dan dapat berasal dari luar tubuh

(eksogen). Radikal endogen dapat terbentuk dari sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak. Radikal bebas eksogen berasal dari pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan tambahan makanan dan rokok (T. Irianti et al., 2019).

Stress oksidatif terjadi akibat ketidak seimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Stress oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan sel, jaringan hingga organ tubuh. Stress oksidatif juga terjadi akibat menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi sehingga menimbulkan proses iskemik dan mikrovaskular. Hal ini dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan karena produksi radikal bebas yang berlebih dari hasil metabolisme lemak dan protein dalam tubuh karena kurangnya asupan antioksidan dari luar tubuh. Langkah yang tepat untuk mengurangi stress oksidatif adalah mengurangi paparan radikal bebas dan mengoptimalkan pertahanan tubuh melalui antioksidan (Parwata, 2016).

Tubuh kita memerlukan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas mengingat begitu banyaknya radikal bebas yang berasal dari luar tubuh yaitu berupa makanan yang mengandung bahan pengawet, pewarna, asam lemak tidak jenuh, pestisida, polusi, debu dan ultraviolet. Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk alami. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan oleh spesies oksigen reaktif dan juga mampu menghambat penyakit degeneratif serta menghambat peroksidasi lipid pada makanan (Parwata, 2016). Secara kimiawi antioksidan alami yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan berasal dari golongan senyawa turunan fenol seperti flavonoid, turunan senyawa asam hidroksamat, kumarin, tokoferol dan asam organik. Aktivitas antioksidan

dari berbagai tanaman diperkirakan mempunyai kekuatan sedang sampai tinggi (Khaira Kuntum., 2010).

Tanaman obat tradisional telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dalam menanggulangi berbagai macam penyakit. Selain itu, banyak penelitian tentang obat tradisional sebagai hasil dari kajian ilmiah tentang khasiat atau manfaat dari suatu tanaman yang berpotensi sebagai obat (Handoyo & Pranoto, 2020). Salah satunya berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Pada penelitian agustina eva, (2017), ekstrak daun tiin memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Begitu juga dengan biji adas yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik (Sastrawan *et al.*, 2013). Serta, pada kulit batang jarak yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Agustina & Handayani, 2017).

Tanaman jambu biji putih (*Psidium guajava* L) adalah tanaman yang termasuk dalam family myrtaceae. Tanaman ini berasal dari Brazilia Amerika Tengah, menyebar ke Thailand kemudian ke negara Asia lainnya seperti saat ini di negara Indonesia (Purwandari *et al.*, 2018). Sampai saat ini tanaman jambu biji dibudayakan dan menyebar luas di daerah-daerah jawa. Daun jambu biji putih sejak lama digunakan untuk pengobatan secara tradisional dan sudah banyak produk herbal dari sediaan daun jambu biji putih. Berdasarkan penelitian (Handayani *et al*, 2018), ekstrak daun jambu biji putih memiliki banyak manfaat antara lain yaitu dapat berfungsi sebagai anti bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Grampositif penyebab karies gigi yakni *Streptococcus mutans*. Ekstrak daun jambu biji putih berfungsi sebagai antidiare yang menghambat *Escherichia coli*

(Purwandari *et al.*, 2018).

Salah satu pengujian untuk menentukan suatu tanaman berpotensi sebagai antioksidan adalah dengan uji DPPH. DPPH adalah senyawa radikal bebas yang sering dipakai sebagai pereaksi untuk dilakukan uji penangkapan radikal bebas. Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dijelaskan diatas, maka sangat perlu dilakukan penelitian yang dapat mencegah radikal bebas dengan menggunakan kandungan senyawa dari bahan alam dengan cara uji aktivitas ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan menggunakan DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm menggunakan metode DPPH.
2. Menganalisis nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L).
3. Mengidentifikasi kandungan flavonoid total ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) menggunakan metode DPPH.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan mendapat beberapa manfaat, diantaranya sebagai berikut :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi dari referensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi bagi masyarakat mengenai potensi manfaat dari daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) sebagai antioksidan.

1.4.4 Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai penambah pengetahuan mengenai potensi antioksidan pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L).

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Peneliti	Judul	Persamaan	Perbedaan
(Daud <i>et al.</i> , 2011)	Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.) Berdaging Buah Putih	1. Memakai sampel daun jambu biji putih. 2. Metode uji antioksidan menggunakan difenilpikril hidrasil (DPPH). 3. Pelarut yang digunakan etanol.	1. Konsentrasi pelarut etanol yang digunakan yaitu etanol 96%. Sedangkan penelitian Daud <i>et al.</i>, 2011 menggunakan pelarut etanol 70%. 2. Memakai sampel daun jambu biji putih yang diambil dari daerah Manoko, Kec. Lembang Kab. Bandung Barat (Daud <i>et al.</i>, 2011). 3. Penelitian yang dilakukan oleh Daud <i>et al.</i> 2011 bertujuan membandingkan metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi sinambung menggunakan sokletasi. Sedangkan penelitian yang saya lakukan menggunakan ekstraksi perkolasi. 4. Konsentrasi sampel uji yang digunakan 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm dan 75 ppm. Sedangkan konsentrasi yang digunakan oleh Daud <i>et al.</i>, 2011 yakni 10 ppm, 30

			ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 90 ppm. 5. Penelitian yang dilakukan oleh Daud <i>et al</i> 2011 menggunakan instrument KLT. Sedangkan penelitian yang saya lakukan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis
Maulana <i>et al.</i> , 2016	Isolasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (<i>Psidium guajava</i> Linn)	1. Memakai sampel daun jambu biji putih. 2. Mengetahui aktivitas antioksidan daun jambu biji putih. 3. Metode uji antioksidan menggunakan difenilpikril hidrasil (DPPH).	1. Pelarut yang digunakan etanol dengan konsentrasi pelarut etanol 96%. Sedangkan penelitian Maulana <i>et al.</i>, 2016 menggunakan pelarut n-heksana. 2. Memakai sampel daun jambu biji yang diambil dari daerah Langsepan Jenggawah, Jember. Sedangkan penelitian oleh Maulana <i>et al.</i>, 2016 memakai sampel daun jambu biji yang diambil dari daerah Tampaksiring, Kabupaten Gianyar, Bali. 3. Penelitian yang dilakukan oleh Maulana <i>et al</i> 2016 menggunakan ekstraksi maserasi bertingkat. Sedangkan penelitian yang saya lakukan menggunakan ekstraksi perkolasi.

			4. Konsentrasi sampel uji yang digunakan 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm dan 75 ppm. Sedangkan konsentrasi yang digunakan oleh Maulana <i>et al</i> , 2016 yakni 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm, dan 16 ppm.
--	--	--	---

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Daun Jambu Biji Putih

Nama ilmiah jambu biji putih adalah *Psidium guajava*. *Psidium* berasal dari bahasa Yunani, yaitu “*psidium*” yang berarti delima. Sementara “*guajava*” berasal dari nama yang diberikan oleh orang spanyol. Secara Taksonomi jambu biji putih dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Rochmasari, 2011):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Spesies : *Psidium guajava* L.



Gambar 2.1 Daun Jambu Biji

2.1.2 Morfologi Daun Jambu Biji Putih

Jambu biji tersebar luas di daerah tropis seperti Asia Tenggara termasuk

Indonesia, Asia Selatan, India, dan Sri Lanka. Jambu biji putih dapat tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian 1.200 mdpl. Jambu biji putih merupakan tanaman perdu bercabang banyak dan tingginya dapat mencapai 3-10 m. Umumnya umur tanaman jambu biji putih sekitar 30-40 tahun. Tanaman yang berasal dari biji relatif berumur lebih panjang dibandingkan hasil cangkokan atau okulasi. Tanaman yang berasal dari okulasi memiliki postur lebih pendek (*dwarfing*) dan bercabang lebih banyak sehingga memudahkan perawatan tanaman. Tanaman ini sudah mampu berbuah saat berumur sekitar 2-3 bulan meskipun ditanam dari biji (Rochmasari, 2011).

Jambu biji putih putih berbunga sepanjang tahun dan memiliki percabangan banyak. Batangnya berkayu dan keras, permukaan kulit batang halus dan licin, berwarna kekuningan dengan bagian dalam kehijauan. Bunga tunggal, bertangkai, keluar dari ketiak daun, berkumpul 1-3 bunga, berwarna putih. Buahnya buah buni, 6 berbentuk bulat sampai bulat telur, berwarna hijau sampai hijau kekuningan. Biji buah banyak mengumpul ditengah, kecil-kecil, keras, berwarna kuning kecoklatan.

Daun jambu biji putih merupakan daun tidak lengkap yang hanya memiliki tangkai daun (*petiolus*) dan helaian daun (*lamina*). Daun jambu biji putih berbentuk oval dengan warna kehijauan muda hingga tua dengan bagian tepi merata yang berdiameter 2-3 cm. Susunan tulang daun jambu biji putih yaitu daun bertulang menyirip (*penninervis*) dimana daun mempunyai ibu tulang daun yang sejajar dan tersusun dari tangkai. Pada ibu tulang daun muncul cabang pada sisi kanan dan kiri sehingga menyerupai sirip ikan. Bagian pangkal dan ujung daun tumpul. Tekstur daun jambu biji putih pada bagian atas berkerut dengan rambut penutup sedangkan

tekstur pada bagian bawah berkerut dengan banyak rambut penutup (Wahyuni *et al.*, 2022).

2.1.3 Kandungan dan Khasiat Daun Jambu Biji Putih

Tanaman jambu biji putih memiliki beberapa kelebihan, antara lain buahnya dapat dimakan sebagai buah segar, dapat diolah menjadi berbagai bentuk makanan dan minuman. Selain itu, buah jambu biji bermanfaat untuk pengobatan (terapi) bermacam-macam penyakit, seperti memperlancar pencernaan, menurunkan kolesterol, antioksidan, menghilangkan rasa lelah dan lesu, demam berdarah, dan sariawan. Selain buahnya, bagian tanaman jambu biji seperti daun, kulit akar maupun akarnya dapat berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari (Septa Desiyana *et al.*, 2015).

Daun jambu biji putih digunakan untuk pengobatan secara tradisional dan sudah banyak produk herbal dari sediaan jambu biji. Daun jambu biji putih memiliki khasiat sebagai antidiare, antiinflamasi, antimutagenik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi, analgesik, penambah trombosit dan mengurangi demam (Chludil *et al.*, 2008). Selain itu jambu biji juga berkhasiat dalam mengobati kanker, batuk flu, merawat kulit, mencegah sembelit, menurunkan berat badan dan demam berdarah. Kandungan senyawa yang terdapat dalam daun jambu biji putih yaitu senyawa saponin, tanin, steroid, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Maulana *et al.*, 2016). Daun jambu biji putih telah terbukti secara klinis menghambat pertumbuhan rotavirus yang menyebabkan enteritis pada anak-anak dan menyembuhkan kejang dan penyakit diare akut.

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal bebas cenderung akan membentuk reaksi berantai, apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus-menerus (Wahdaningsih *et al.*, 2011). Radikal bebas dapat berasal dari tubuh makhluk hidup itu sendiri sebagai akibat aktivitas tubuh seperti aktivitas autooksidasi, oksidasi enzimatik, organel subseluler, aktivitas ion logam transisi, dan berbagai system enzim lainnya.

Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya, ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, seringkali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya hydrogen peroksida (H_2O_2), ozon dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilakan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau Reactive Oxygen Species (ROS) (T. T. Irianti *et al.*, 2020).

Radikal bebas dan Reactive Oxygen Species (ROS) yang diproduksi dalam jumlah yang normal sebenarnya juga diperlukan untuk fungsi biologis tubuh seperti untuk melawan radang dan membunuh bakteri. Namun produksi radikal bebas dan

Reactive Oxygen Species (ROS) yang berlebihan dalam tubuh dapat merusak membrane sel, protein DNA yang berakibat fatal (Anggiane Putri, 2019).

Kerja radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan yakni zat yang dapat memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi molekul. Adanya senyawa antioksidan mengurangi timbulnya penyakit kronis yang disebabkan karena kerja radikal bebas dalam tubuh seperti, kanker, disfungsi otak dan antiinflamasi yang dapat menyebabkan kematian. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan dari metabolisme sel tubuh namun dengan meningkat jumlah radikal bebas, tubuh perlu didukung oleh asupan antioksidan. Hal tersebut melatarbelakangi dilakukannya penelitian sebagai upaya menemukan sumber baru antioksidan yang dapat mengimbangi peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Ginting *et al.*, 2011).

2.2.2 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas terdiri dari dua yaitu sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (endogenus) dan sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogenus). Radikal bebas endogenus terbentuk akibat proses autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, tranpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi atau melalui iskemik (Sari, 2015).

Proses autoksidasi merupakan senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hydrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Oksidasi enzimatis menghasilkan oksidan asam hipoklorit. Sekitar 70-90% O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan bersama dengan OH dan HOCl membentuk H_2O_2 dengan bantuan bakteri. Fagositosis dalam respirasi yaitu proses fagositosis mikroorganisme oleh tubuh sel leukosit menggunakan oksigen dalam

jumlah yang besar, hamper 70-90% penggunaan oksigen dapat memproduksi superoksid. Radikal bebas eksogenus yaitu radikal bebas yang berasal dari luar sistem tubuh, seperti sinar ultraviolet (UV), pencemaran lingkungan, zat pewarna, dan asap rokok (Sari, 2015).

2.2.3 Mekanisme Radikal Bebas

Radikal bebas terbentuk ketika suatu radikal bebas menyumbangkan satu elektronnya, mengambil satu elektron dari molekul lain atau bergabung dengan molekul nonradikal lainnya. Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang sangat tinggi untuk menarik elektron. Hal ini yang dapat mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi yang menghasilkan radikal baru. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses radikal bebas meliputi reaksi inisiasi, reaksi propagasi, dan reaksi terminasi (Sutiofani, 2021).

Reaksi inisiasi terjadi pada awal terbentuknya radikal bebas, pada tahap ini radikal bebas dibentuk dan menyerang lipid sehingga terbentuk radikal lipid. Tahap propagasi terjadi pemanjangan rantai radikal. Reaksi ini melanjutkan rangkaian proses oksidasi kedua sehingga reaksi menyebar dan satu molekul radikal dari proses inisiasi dapat menyebabkan oksidasi banyak molekul. Tahap terminasi terjadi reaksi senyawa radikal dengan senyawa radikal lainnya sehingga menurunkan potensi propagasinya (Labola & Puspita, 2018).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Menurut Jusmiati (2015), antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan

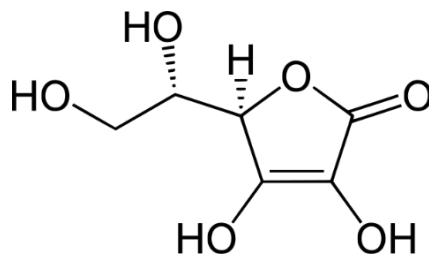
suatu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Saleh *et al.*, 2012). Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi mencegah terjadinya reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal aktivitas radikal bebas yang secara kontinu dibentuk dalam tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar (Rahayu *et al.*, 2015). Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Hermawan *et al.*, 2018).

Antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hydroxy aniLine) dan BHT (butylated hydroxy toluen) telah diketahui mengetahui efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan hati. Disisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, polifenol dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan. Antioksidan bereaksi dengan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hydrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH-H) yang stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Putrawan *et al.*, 2014).

2.3.2 Jenis Antioksidan Alam

1. Vitamin C

Menurut Kumalaningsih (2006) vitamin C merupakan antioksidan yang berperan penting dalam membantu menjaga kesehatan sel. Vitamin C merupakan suatu donor elektron dan agen pereduksi. Disebut antioksidan, karena dengan mendonorkan elektronnya, vitamin ini mencegah senyawasenyawa lain agar tidak teroksidasi. Walaupun demikian, vitamin C sendiri akan teroksidasi dalam proses antioksidan tersebut, sehingga menghasilkan asam dehidroaskorbat (Darlina, 2016). Vitamin C atau asam askorbat merupakan vitamin yang larut dalam air. Vitamin C bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan reduktor dan antioksidan.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Vitamin C (Inggrid & Santoso, 2014)

2. Polifenol

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini. Polifenol adalah produk sekunder dari metabolisme tanaman (Inggrid & Santoso, 2014).

3. Vitamin E

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E yang paling banyak dipelajari adalah β tokoferol karena memiliki keterdesiaan hayati yang tinggi (Inggrid & Santoso, 2014).

2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya (pemberi atom hidrogen) kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil.

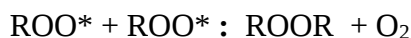
Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:

Tahap inisiasi : $RH : R^* + H^*$

Tahap propagasi : $R^* + O_2 : ROO^*$

$ROO^* + RH : ROOH + R^*$

Tahap terminasi : $R^* + R^* : R - R$



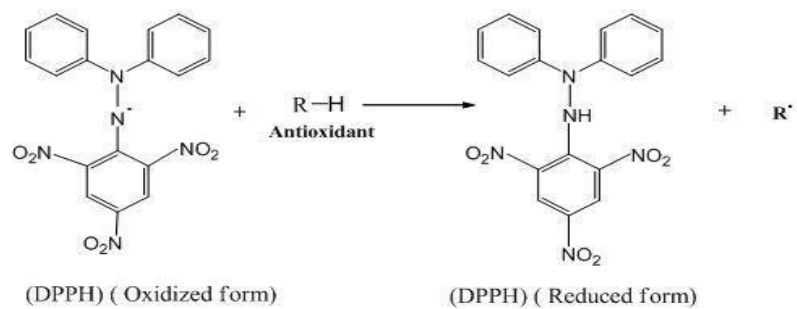
Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R^*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hydrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Ningsih, 2017).

2.4 Metode uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kapasitas senyawa aktif dalam ekstrak untuk menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Psidium guajava* L diukur menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Uji aktivitas antioksidan ini didasarkan pada hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan dalam sampel, sehingga menghasilkan senyawa DPP Hidrazin (DPPH) berwarna kuning. Metode ini tidak memerlukan subtract sehingga lebih sederhana dengan waktu analisis yang lebih cepat (Moluneux, 2004). Metode DPPH telah banyak digunakan dalam analisis antioksidan seperti pada penelitian Tristantini *et al* (2016) mengkaji aktivitas antioksidan daun tanjung (*Mimusops elengi* L) dengan metode DPPH. Selain itu, Adriani dan Murtisiwi

(2020) menguji aktivitas antioksidan DPPH oleh ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

Metode peredaman radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) didasarkan pada reduksi larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus prikil (Tristantini *et al.*, 2016).



Gambar 2.3 DPPH (Tristantini *et al.*, 2016)

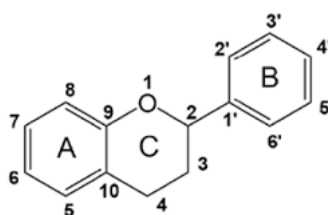
Pengertian dari IC_{50} (Inhibitor Concentration) adalah konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Widyasanti *et al.*, 2016). Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm (Parts per million) maka aktivitas antioksidannya kategori:

- a. Sangat kuat : nilai IC_{50} berada <50 ppm
- b. Kuat : nilai IC_{50} berada antara 50-100 ppm
- c. Sedang : nilai IC_{50} berada antara 100-150 ppm
- d. Lemah : nilai IC_{50} berada antara 150-200 ppm

2.5 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenol alam yang terbesar

dalam tanaman dan tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆- C₃-C₆. Artinya kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C₆ (cincin benzene tersubsitusi) disambungkan oleh rantai alifatik 3 karbon. Dalam tumbuhan flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida. Flavonoid memiliki kontribusi yang penting dalam kesehatan manusia. Senyawa flavonoid yang dikonsumsi mempunyai efek aditif terhadap pembersihan radikal bebas. Flavonoid dapat bekerja sebagai antioksidan untuk melindungi stres oksidatif sel. Flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang pembentukan nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah, dan juga menghambat sel kanker. Selain berfungsi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas, flavonoid juga memiliki sifat sebagai hepatoprotektif, antitrombotik, antiinflamasi, dan antivirus (Kusuma, 2012).



Gambar 2.4 Struktur Flavonoid

2.6 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi adalah salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi diantaranya (Mukhriani,

2016) :

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berada dalam kondisi yang berbeda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolomik.

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut.
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut nonpolar: n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya.

2.6.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika mencapai kesetimbangan Antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan

penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2016).

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan sebagai berikut:

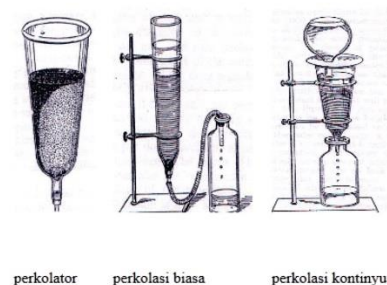
2.6.2 Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2016). Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2.6.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tingtur dan ekstrak cairan. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan

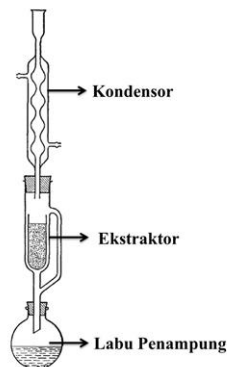
ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (R. Handayani & Natasia, 2018).



Gambar 2.5 Alat Perkolasi

2.6.4 Sokhletasi

Sokhletasi adalah penyarian simplisia secara berkesinambungan. Sokhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang akan diekstraksi berada dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2016).



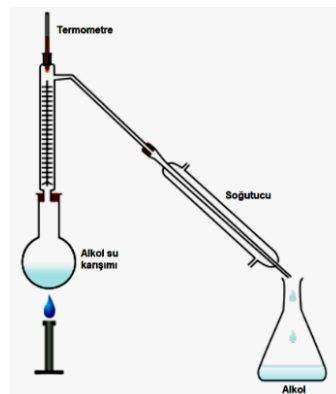
Gambar 2.6 Alat Sokhletasi

2.6.5 Ultrasound – Assisted Solvent Extraction

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultra-sonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

2.6.6 Reflux

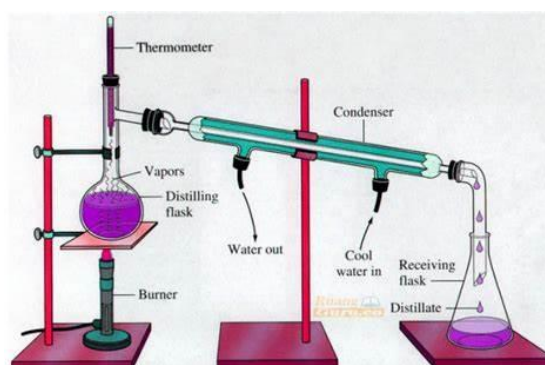
Reflux merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relative konstan dengan adanya pendinginan balik. Ekstraksi reflux digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan. Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Susanty & Bachmid, 2016).



Gambar 2.7 Alat Reflux

2.6.7 Destilasi Uap

Destilasi uap adalah istilah umum untuk destilasi campuran air dengan senyawa yang tidak larut dalam air. Destilasi uap biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor (Uly, 2022).



Gambar 2.8 Alat Destilasi Uap

2.7 Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis yang berdasarkan pada hasil interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Interaksi tersebut akan menghasilkan peristiwa berupa hamburan, serapan, dan emisi (Suhaling, 2012). Dalam penelitian ini, uji DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 515 nanometer dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Penurunan nilai absorbansi sebagai akibat dari penurunan intensitas warna dari larutan yaitu dari warna ungu menjadi warna kuning. Penurunan intensitas warna terjadi karena penambahan radikal hidrogen dari senyawa antioksidan pada elektron yang tak berpasangan pada radikal nitogren dalam struktur senyawa DPPH (Rorong, 2008). Spektrofotometer Uv-Vis (Ultra Violet Visible) atau spektrofotometer ultraviolet sinar tampak memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah visible atau sinar tampak.

Spektrofotometer ini jenisnya terdiri dari Was berkas tunggal (*single beam*) dan berkasi rangkap (*double beam*). Pebedaan pada keduanya adalah pada spektrofotometer double beam pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan contoh atau standard an kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blangko dan zat diukur pada saat yang bersamaan (Warono & Syamsudin, 2013).

Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detector, dan tampilan (display).

2.7.1 Sumber radiasi

Sumber radiasi berfungsi memberikan energy radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-VIS adalah lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 250 nm.

2.7.2 Monokromator

Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar.

2.7.3 Sel atau Kuvet

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang dianalisis. Kuvet ini bentuk biasanya terbuat dari quartz atau leburan silika dan ada yang dari gelas dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1x1 cm, dengan tinggi kurang lebih 5 cm. Pada pengukuran di daerah ultra lembayung dipakai quartz atau leburan silika, sedang kuvet dari gelas tidak dipakai, sebab gelas mengabsorpsi sinar ultra lembayung.

2.7.4 Foto sel

Foto sel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energy listrik yang kemudian akan disampaikan detektor.

Detektor adalah material yang dapat menyerap energi dan foton dan mengubahnya dalam bentuk lain, yaitu energi listrik.

2.7.5 Display

Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Prinsip kerja spektrofotometer adalah berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan suatu larutan panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan.

Pada spektrofotometer UV-VIS, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna adalah analit yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak bewarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna.

Tahap awal yang dilakukan pada penentuan aktivitas antioksidan ini adalah penetapan panjang gelombang maksimum (λ maks) larutan DPPH. Penetapan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang larutan DPPH yang dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometer Uv-Vis. Hal ini dengan berkenaan dengan kepekaan analisis yang maksimum (Salamah *et al.*, 2015). Panjang gelombang maksimum yang digunakan

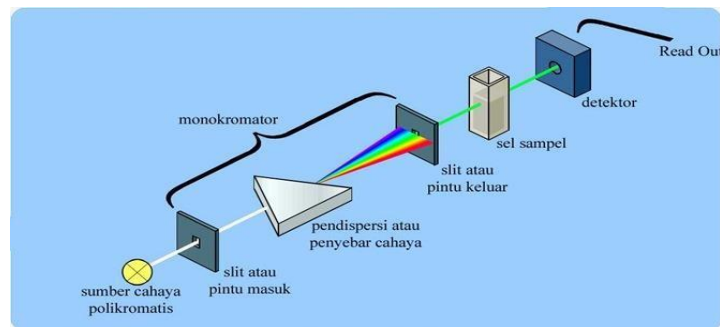
untuk pengujian antioksidan ini adalah 515 nm dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (Aminah *et al.*, 2016).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Putri, 2017).

Spektrum absorpsi dalam daerah-daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-tampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat elektron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energy tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Putri, 2017).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Putri, 2017). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

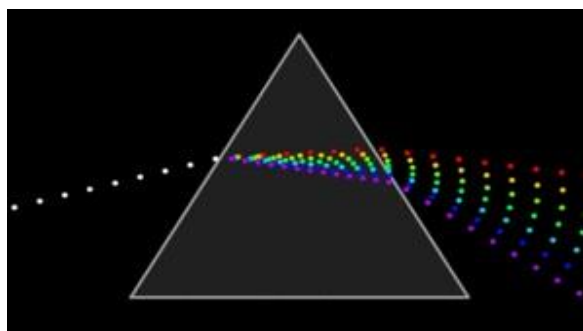
Sumber cahaya – monokromatis – sel sampel – detector- read out



Gambar 2.9 Pembacaan Spektrofotometer

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti yang tertera pada gambar.



Gambar 2.10 Cahaya pembacaan spektrofotometer

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa

atau gelas.

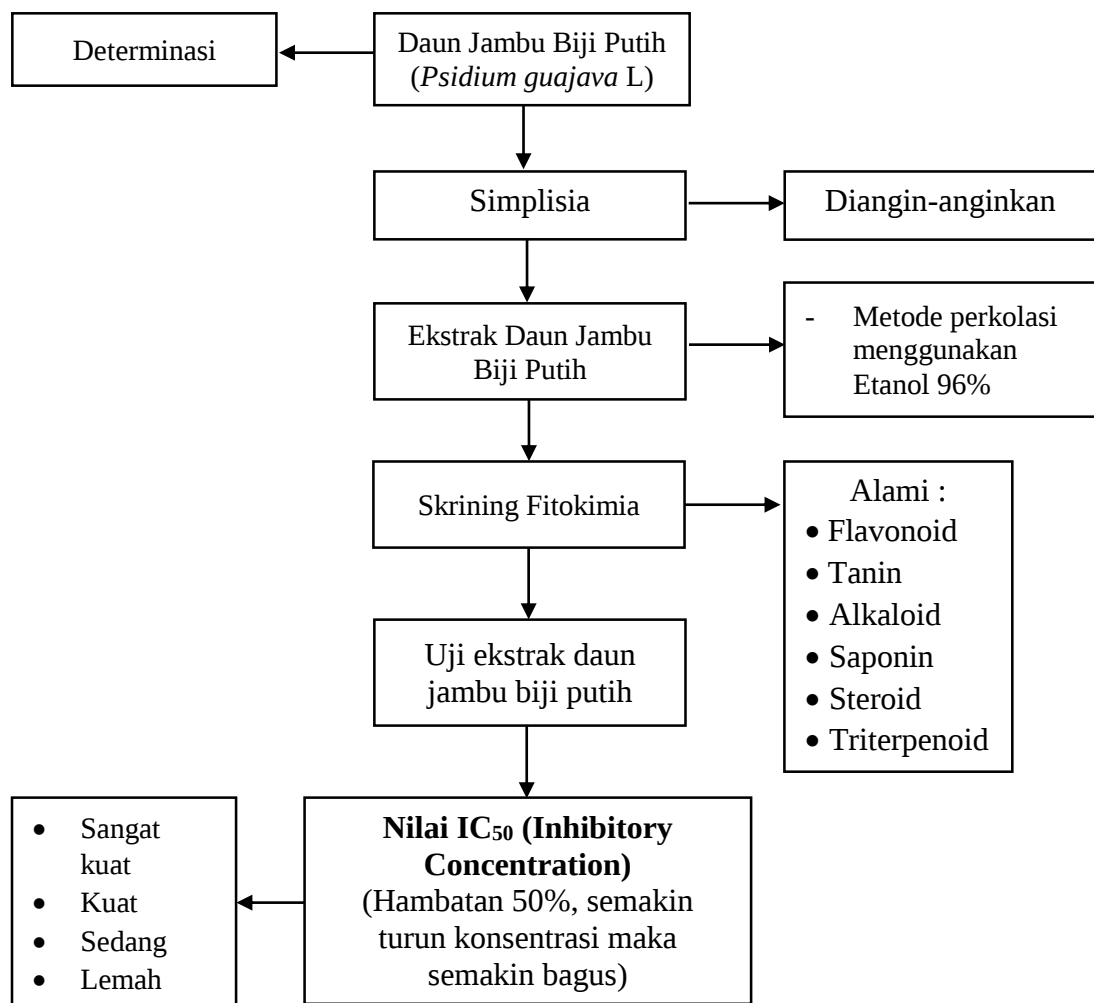
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
5. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector.

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Jika sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan (db), maka penurunan intensitas sinar (dl) karena melewati lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi (I), konsentrasi spesies yang menyerap (c), dan dengan ketebalan lapisan larutan (db).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka konsep merupakan abstraksi dari suatu realita agar dapat dikomunikasikan dan membentuk suatu teori yang menjelaskan keterkaitan antara variabel (baik variabel yang diteliti maupun yang tidak diteliti). Kerangka konsep akan membantu peneliti dalam menghubungkan hasil penemuan dengan teori (Marthen, 2020).



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis atau hipotesa merupakan suatu pernyataan yang sifatnya sementara, atau kesimpulan sementara atau dugaan yang bersifat logis tentang suatu populasi.

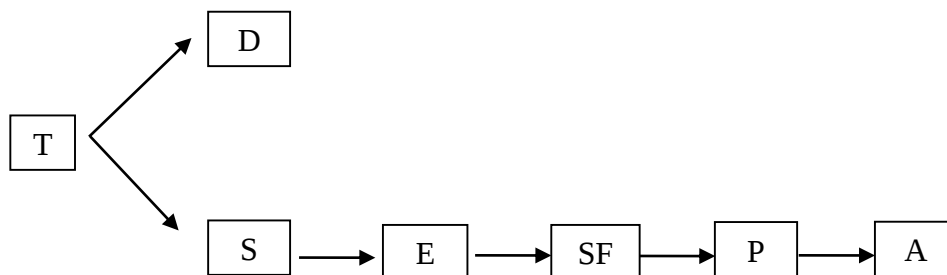
Berdasarkan konseptual di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

Ha : Terdapat aktivitas antioksidan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah suatu tahapan rencana kerja yang harus dilalui atau dibuat oleh seorang peneliti agar penelitian yang akan dilakukan dapat terlaksana sesuai dengan tujuan yang akan dicapai (Mulyadi, 2012). Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil).



Gambar 4.1 Desain Penelitian

Keterangan :

T	=	Tumbuhan daun jambu biji putih
D	=	Determinasi
S	=	Simplisia daun jambu biji putih
E	=	Proses ekstraksi
SF	=	Skrining Fitokimia
P	=	Pengujian DPPH
A	=	Analisa (%Inhibisi)

4.2 Populasi

Populasi merupakan keseluruhan dari kumpulan elemen yang memiliki

sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk diteliti (Nuha, 2017).

Populasi pada penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang diambil di dusun Langsepan, Jenggawah yang diambil secara acak.

4.3 Sampel

Sampel merupakan suatu sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Nuha, 2017). Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.).

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember dan penelitian ini dimulai pada bulan September 2022.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu atribut, sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Nikmatur, 2017).

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau variabel independent merupakan variabel yang mempengaruhi atau variabel yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (Nikmatur, 2017). Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm.

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau variabel dependen merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Nikmatur, 2017). Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai *Inhibition Concentration* (IC_{50}).

4.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, pengambilan sampel daun jambu biji putih, metode ekstraksi serbuk simplisia dan skrining fitokimia.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L)	Hasil nilai absorbansi pada sampel daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L) yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC50)	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 4 mL DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 515 nm.	Spektrofotometer Uv-Vis	Ordinal	Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 µg/mL Kuat, jika yang di dapat 50-100 µg/mL Sedang, jika yang didapat 101-150 µg/mL Lemah, jika yang didapat >150 µg/mL

Kadar flavonoid total	Hasil nilai kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L) yang dinyatakan dalam massa (gram) ekuivalen kuersetin per massa ekstrak	Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan dengan cara memipet 1 mL dari larutan uji sampel, ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 16 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 416 nm.	Spektrofotometer Uv-Vis	Ordinal	<i>Quercetine equivalent</i> (QE) merupakan kadar flavonoid total pada ekstrak daun jambu biji putih yang dinyatakan dalam massa (gram) ekuivalen kuersetin per massa (gram) ekstrak
-----------------------	--	--	-------------------------	---------	--

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

1) Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : timbangan analitik, alat-alat gelas, perkulator, corong pisah, corong kaca, batang pengaduk, mikropipet, aluminium foil, ultrasonik, kuvet disposable, spatula, vial, blender, kertas saring, cawan, desikator, stopwatch, dan spektrofotometer UV-Vis.

2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L), etanol 96% teknis, etanol pa, DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazi), kuersetin, serbuk magnesium, HCl pekat, FeCl₃, aquadest, pereaksi dragendorf, asetat anhidrat, (AlCl₃) Aluminium klorida 10%, asam asetat 5% dan kloroform.

4.7.2 Determinasi Tanaman

Sebelum dilakukan penelitian terhadap Daun jambu biji putih, terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia. Determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji Putih

Daun jambu biji putih yang telah dikumpulkan dibuat simplisia terlebih dahulu yang dilakukan dengan cara diangin-anginkan, simplisia daun jambu biji putih dihaluskan dengan blender.

Ekstraksi daun jambu biji putih menggunakan metode perkolasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak daun jambu biji putih didapat dari 100 g serbuk daun jambu biji putih. Sampel direndam terlebih dahulu selama 3 jam dengan pelarut etanol 96% dalam bejana tertutup. Kemudian proses ekstraksi dilanjutkan pada alat perkolator selama 2 hari, hingga cairan yang menetes dari alat perkolator berwarna bening. Kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

4.7.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun jambu biji putih seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

1. Flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium. Kemudian ditetesi 10 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid dalam sampel ditandai warna jingga, merah muda atau merah (Febryana, 2020).

2. Tanin

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan larutan FeCl_3 5%. Keberadaan tanin dalam sampel ditandai warna ungu atau hitam yang kuat (Febryana, 2020).

3. Saponin

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dengan 10 mL aquades 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 (Febryana, 2020).

4. Alkaloid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 2-3 tetes pereaksi wagner. Bila bereaksi positif maka akan menghasilkan endapan coklat muda sampai kuning (Febryana, 2020).

5. Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL kloroform, 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes HCl pekat. Reaksi positif adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna biru dan terbentuknya warna merah jingga atau ungu untuk positif adanya triterpenoid (Febryana, 2020).

4.7.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH menggunakan konsentrasi induk 40 ppm, dengan cara kristal DPPH ditimbang sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dalam etanol pa sampai 100 mL.

b. Penentuan Absorbansi DPPH

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL etanol pa dan dikocok hingga homogen. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 3 mL dan diukur pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Jambu Biji Putih Menggunakan Etanol pa.

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak daun jambu biji putih 10 mg di larutkan dengan etanol pa dihomogenkan lalu dicukupkan volume hingga 100 mL hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm. Pelarutan ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat larut seluruhnya. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi

konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing- masing ekstrak.

d. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin, dibuat dengan ditimbang 10 mg kuersetin dilarutkan dengan etanol pa dalam labu ukur 100 mL dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar kuersetin 100 ppm. Lalu dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm dengan cara masing-masing stok dipipet 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL. Lalu dicukupkan dengan etanol pa sampai volume akhir 25 mL.

e. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 1 mL dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm) kemudian ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 515 nm yang didapat mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit.

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Uji Ekstrak Daun Jambu Biji Putih

Larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi (15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, 75 ppm) dipipet sebanyak 2 mL. kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 mL. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak tersebut dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

A Blanko = Absorbansi tanpa sampel

A Sampel = Absorbansi mengandung sampel

Adapun rumus persamaan linear sebagai berikut:

$y = ax + b$, Keterangan:

x = Absorbansi sampel

y = Konsentrasi sampel

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 (Candra Eka Setiawan & Febriyanti, 2017).

4.7.6 Analisis Kandungan Flavonoid Total

a. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Dibuat seri kadar sebesar 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama 16 menit pembacaan absorbansi seri kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 416 nm.

b. Penentuan Flavonoid Total

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 16 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 416 nm. Nilai pengukuran absorbansi dimasukkan pada persamaan regresi linier kuersetin sehingga didapatkan konsentrasi sampel (ppm). Kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{\text{Konsentrasi sampel} \times \text{volume awal} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{massa ekstrak}} \times 100\%$$

4.8 Teknik Analisa Data

Data pengamatan pada penelitian ini adalah berupa kuantitatif. Data kuantitatif berupa uji aktivitas antioksidan. Selanjutnya data hasil analisis aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian dideskripsikan hasilnya. Daya antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang dihitung dengan menggunakan regresi linear yang didapatkan dari

hubungan antara konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) dengan % inhibisi dan pengolahan data dilakukan menggunakan Microsoft Excel.

BAB 5 HASIL

Penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L) dengan Metode DPPH (2,2-*Diphenyl-1-Picrylhydrazil*) dimana pengambilan sampel dilakukan secara acak di dusun Langsepan, Jenggawah. Determinasi tanaman daun jambu biji putih dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Jember. Pembuatan ekstrak dilakukan berdasarkan metode perkolasi sebanyak 100 gram.

5.1 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm dengan Menggunakan Metode DPPH

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan ekstrak etanol daun jambu biji putih dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi DPPH sebagai blanko ekstrak etanol daun jambu biji putih yaitu 0,587. Kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dari masing-masing konsentrasi, diukur dengan panjang gelombang 515 nm yang diinkubasi selama 30 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.1.

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan kuersetin dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi DPPH sebagai kuersetin yaitu 0,720. Kemudian replika dari masing-masing konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm yang diinkubasi selama 30 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.1. Replikasi dilakukan sebanyak

3 kali bertujuan untuk mengoptimalkan terjadinya kesalahan dalam menganalisis sampel dan mengetahui pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas.

Tabel 5.1 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm

Sampel	Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	IC ₅₀
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	1	15 ppm	0,338	46,70 µg/mL
		30 ppm	0,325	
		45 ppm	0,303	
		60 ppm	0,267	
		75 ppm	0,248	
	2	15 ppm	0,334	43,04 µg/mL
		30 ppm	0,323	
		45 ppm	0,300	
		60 ppm	0,251	
		75 ppm	0,243	
	3	15 ppm	0,335	41,01 µg/mL
		30 ppm	0,323	
		45 ppm	0,299	
		60 ppm	0,240	
		75 ppm	0,232	
Kuersetin	1	2 ppm	0,475	18,23 µg/mL
		4 ppm	0,454	
		6 ppm	0,445	
		8 ppm	0,423	
		10 ppm	0,422	
	2	2 ppm	0,475	16,40 µg/mL
		4 ppm	0,451	
		6 ppm	0,444	
		8 ppm	0,420	
		10 ppm	0,413	
	3	2 ppm	0,476	17,17 µg/mL
		4 ppm	0,450	
		6 ppm	0,444	
		8 ppm	0,420	
		10 ppm	0,418	

5.2 Analisis Nilai Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Pada Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L.)

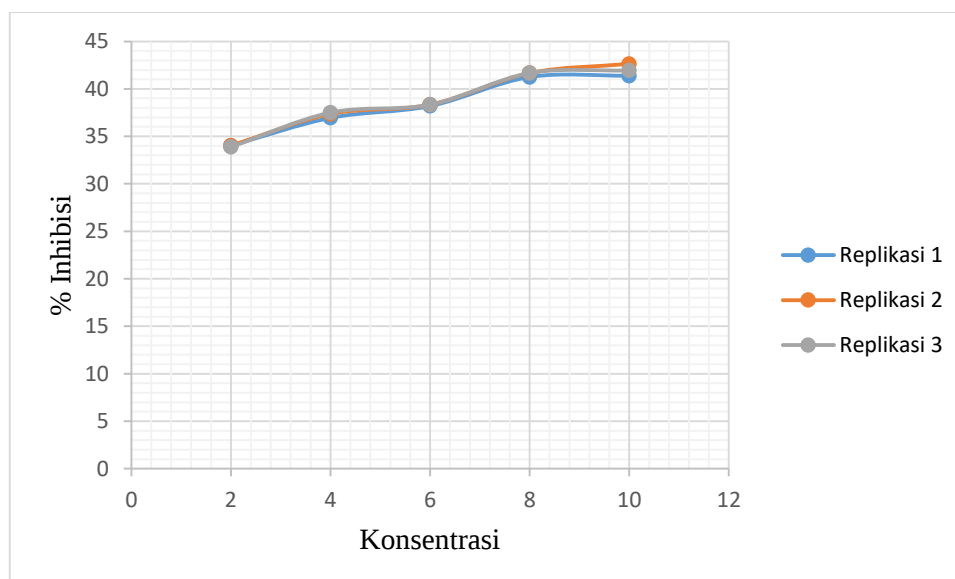
Aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC₅₀ yang dihitung menggunakan persamaan regresi linear. Semakin kecil nilai IC₅₀ pada sampel, maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Begitupun sebaliknya, semakin besar nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin lemah. Aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari perubahan warna sampel setelah ditambahkan larutan DPPH. Semakin larutan berwarna kuning, maka larutan tersebut berpotensi sebagai antioksidan.

Tabel 5.2 Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih

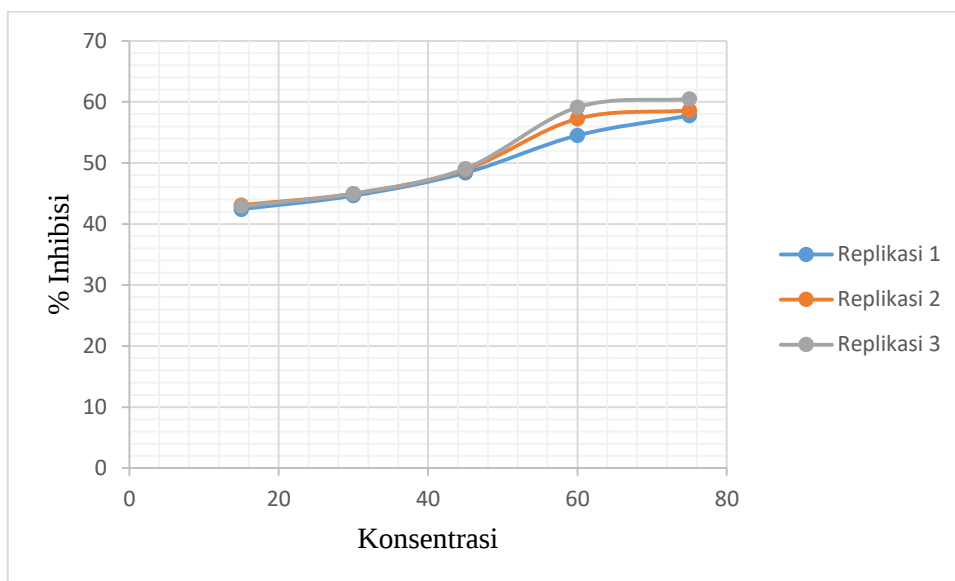
Sampel	Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	IC ₅₀	$\bar{X}$ IC ₅₀	Kategori
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	1	15 ppm	0,338	46,70 $\mu\text{g/mL}$	45,58 $\mu\text{g/mL}$	Sangat Kuat
		30 ppm	0,325			
		45 ppm	0,303			
		60 ppm	0,267			
		75 ppm	0,248			
	2	15 ppm	0,334	43,04 $\mu\text{g/mL}$		
		30 ppm	0,323			
		45 ppm	0,300			
		60 ppm	0,251			
		75 ppm	0,243			
	3	15 ppm	0,335	41,01 $\mu\text{g/mL}$		
		30 ppm	0,323			
		45 ppm	0,299			
		60 ppm	0,240			
		75 ppm	0,232			
Kuersetin	1	2 ppm	0,475	18,23 $\mu\text{g/mL}$	17,26 $\mu\text{g/mL}$	Sangat Kuat
		4 ppm	0,454			
		6 ppm	0,445			
		8 ppm	0,423			
		10 ppm	0,422			
	2	2 ppm	0,475	16,40 $\mu\text{g/mL}$		
		4 ppm	0,451			
		6 ppm	0,444			
		8 ppm	0,420			
		10 ppm	0,413			

	3	2 ppm	0,476	17,17 $\mu\text{g/mL}$		
		4 ppm	0,450			
		6 ppm	0,444			
		8 ppm	0,420			
		10 ppm	0,418			

Hasil grafik antara konsentrasi (x) dan % inhibisi (y) dapat dilihat pada gambar 5.1 dan gambar 5.2. Dari grafik dibawah ini dapat dibuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin naik nilai % inhibisi pada larutan uji.



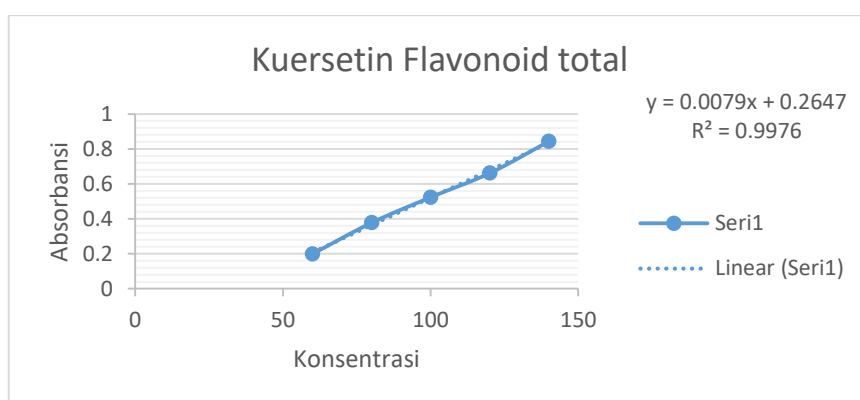
Gambar 5.1 Grafik Antioksidan Larutan Kuersetin



Gambar 5.2 Grafik Antioksidan Larutan Ekstrak Daun Jambu Biji Putih

5.3 Identifikasi Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L) Menggunakan Metode DPPH

Pengujian kuersetin dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan ekstrak etanol daun jambu biji putih dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dari masing-masing konsentrasi, diukur dengan panjang gelombang 416 nm. Hasil grafik kuersetin dapat dilihat pada gambar 5.3.



Grafik 5.3 Kuersetin Flavonoid Total

Grafik 5.3 menunjukkan bahwa kurva baku yang dihasilkan linear. Kurva baku yang linear dapat diperoleh jika konsentrasi dengan absorbansi berbanding lurus proporsional, yang artinya konsentrasi meningkat diikuti dengan peningkatan absorbansi. Hubungan yang kuat antara konsentrasi dengan absorbansi dinyatakan dengan nilai r (koefisien korelasi) yang nilainya mendekati +1. Regresi linear pada kurva baku digunakan untuk menghitung kadar sampel.

Pengujian flavonoid total dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan ekstrak etanol daun jambu biji putih dan ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali diukur absorbansinya pada panjang gelombang 416 nm yang diinkubasi selama 16 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Flavonoid Total

Replikasi	Penimbangan	Absorbansi
1	25,1	0,333
2	25,6	0,340
3	25,4	0,335

Hasil pengukuran flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dengan rumus $y = bx + a$. Persamaan regresi didapatkan dari kurva kalibrasi kuersetin yaitu : $y = 0.0079 + 0,2647$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9976. Pada replikasi 1 didapatkan hasil 8,61% mgQE/g ekstrak, 9,31% mgQE/g ekstrak pada replikasi 2, dan pada replikasi 3 didapatkan hasil 8,76% mgQE/g ekstrak. Diperoleh rata-rata kadar flavonoid yaitu sebesar 8,89% mgQE/g ekstrak.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L) dengan Konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm Menggunakan Metode DPPH

Berdasarkan hasil penelitian identifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm yang direplikasi sebanyak 3 kali didapatkan hasil perhitungan nilai IC_{50} yaitu 46,70 $\mu\text{g/mL}$ pada replikasi 1, pada replikasi 2 43,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 41,01 $\mu\text{g/mL}$ pada replikasi 3. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Maulana et al, 2016) yang menunjukkan bahwa hasil nilai IC_{50} pada penelitian yang dilakukan yaitu 37,14 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong baik.

Menurut Sepriyani, 2020 antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh sehingga memiliki peran mampu mencegah timbulnya penyakit. Antioksidan sebagai inhibitor yang bekerja yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil sehingga dapat melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif. Menurut Pawarta (2016) berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi tiga yaitu antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia, antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Menurut Wayan *et al*, 2014 adanya aktivitas antioksidan

dipengaruhi oleh adanya golongan senyawa flavonoid. Senyawa golongan flavonoid memiliki peran penting pada aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah (Molyneux, 2004 dalam Purwanto *et al*, 2017). Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat memiliki nilai IC₅₀ berada pada kisaran 50 ppm hingga 100 ppm, antioksidan sedang memiliki nilai IC₅₀ berkisar antara 100 ppm hingga 150 ppm, antioksidan lemah memiliki kisaran 150 ppm hingga 200 ppm dan nilai IC₅₀ lebih dari 200 ppm merupakan antioksidan berkategori sangat lemah (Purwanto *et al*, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, identifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm memiliki nilai IC₅₀ yang baik. Hal ini dikarenakan aktivitas antioksidan pada daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) kemungkinan disebabkan adanya senyawa yang mampu medonorkan elektron pada radikal DPPH dengan jumlah yang besar.

6.2 Analisis Nilai Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Pada Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L).

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) didapat nilai rata-rata dari 3 kali replikasi yaitu 45,58 µg/mL yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Hasil penelitian ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Daud *et al*, 2011 bahwa nilai IC₅₀ yang di dapat termasuk antioksidan sangat kuat yaitu 23,45 µg/mL.

Menurut Rahman *et al*, 2022 nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) merupakan salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH, semakin rendah nilai IC_{50} dari suatu sampel maka kemampuannya sebagai antioksidan semakin besar. IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas DPPH. Prinsip metode DPPH adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H. Penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan menghasilkan perubahan warna ungu dan pembentukan kompleks diphenylpicrilhydrazine warna kuning yang bersifat non radikal (Dewi *et al*, 2018). Nilai IC_{50} didapatkan dari penginputan data menggunakan microsoft excel untuk mencari persamaan regresi linear.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, analisis nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) memiliki nilai IC_{50} yang masuk dalam kategori sangat kuat. Hasil penelitian ini disebabkan beberapa faktor diantaranya faktor suhu yang digunakan selama pengeringan sampel yang dapat menghasilkan sampel yang baik. Lamanya waktu ekstraksi yang tepat juga dapat menentukan hasil aktivitas antioksidan pada sampel yang baik. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dalam suatu sampel.

6.3 Identifikasi Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L) Menggunakan Metode DPPH

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa kandungan flavonoid total ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) menggunakan metode DPPH yaitu

8,61% mgQE/g ekstrak pada replikasi 1, pada replikasi 2 9,31% mgQE/g ekstrak dan pada replikasi 3 8,76% mgQE/g ekstrak. Diperoleh Rata-rata kadar flavonoid penelitian ini yaitu sebesar 8,89% ekstrak. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sultriana Elis (2021) kandungan flavonoid total pada daun jambu biji putih, setelah di maserasi menggunakan etanol 70% diperoleh hasil flavonoid total 5,71% mgQE/g ekstrak.

Menurut Haeria *et al*, 2016 flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana $R\bullet$ merupakan senyawa radikal bebas, $Fl-OH$ merupakan senyawa flavonoid sedangkan $Fl-OH\bullet$ merupakan radikal flavonoid. Flavonoid merupakan golongan senyawa yang larut dalam air. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap radikal bebas yang merusak sel dan jaringan (Pandey *et al*, 2014). Prinsip penetapan kadar flavonoid yaitu terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Penambahan $AlCl_3$ pada sampel menghasilkan perubahan warna, semakin tinggi konsentrasi kuersetin warna yang dihasilkan semakin nampak (Tari *et al*, 2022). Range kadar flavonoid total berdasarkan nilai absorbansinya berkisar antara 0,2-0,8. Kadar flavonoid memiliki hubungan linear dimana semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung di dalam daun juga semakin tinggi. Perhitungan yang digunakan menggunakan hukum Lambert-Beer tentang hubungan lurus antara absorbansi dan

kadar analit.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, Identifikasi Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L) Menggunakan Metode DPPH memiliki kandungan flavonoid yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Perbedaan hasil penelitian ini disebabkan beberapa faktor diantaranya faktor suhu pada saat melakukan pengentalan ekstrak, apabila suhu yang digunakan semakin tinggi maka kadar flavonoid akan mengalami penurunan. Hal tersebut diduga flavonoid yang ada pada daun jambu biji putih menjadi rusak pada suhu tinggi. Pelarut yang digunakan juga dapat mempengaruhi banyaknya kadar flavonoid yang dihasilkan, semakin polar pelarut yang digunakan maka flavonoid yang terekstrak semakin banyak.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 ppm dilakukan 3 kali replikasi dengan perolehan hasil IC₅₀ memiliki nilai sebesar 46,70 µg/mL replikasi 1, replikasi 2 43,04 µg/mL, dan 41,01 pada replikasi 3 yang termasuk dalam antioksidan sangat kuat.
2. Aktivitas antioksidan IC₅₀ ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) memiliki nilai sebesar 45,58 µg/mL yang termasuk dalam antioksidan sangat kuat.
3. Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L) sebesar 8,89% mgQE/g ekstrak.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini maka peneliti menyarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian eksperimen laboratorium ini, ekstrak etanol daun jambu biji putih yang diuji memiliki potensi sebagai antioksidan sangat kuat. Namun, perlu dilakukan penelitian antioksidan daun jambu biji putih yang diambil dari tempat atau wilayah yang berbeda.
2. Bagi peneliti lain, perlu dilakukan lebih lanjut terhadap bagian lain dari tanaman daun jambu biji putih untuk memperkuat hasil aktivitas antioksidan

nya sehingga dapat memberikan informasi tentang tanaman daun jambu biji putih.

3. Perlu dilakukan uji aktivitas lain seperti uji antibakteri terhadap ekstrak daun jambu biji putih sehingga dapat memberikan informasi terutama kepada masyarakat mengenai potensi daun jambu biji putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), 117–122.
- Aminah, Maryam, S., Baits, M., & Kalsum, U. (2016). Pebandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Peredaman DPPH. *Jurnal Farmasi*, 3(1), 146–150.
- Anggiane Putri, M. (2019). Peningkatan Antioksidan Endogen yang Dipicu Latihan Fisik. *YARSI Medical Journal*, 26(3), 163. <https://doi.org/10.33476/jky.v26i3.760>
- Candra Eka Setiawan, N., & Febriyanti, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi-fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Dengan Metode DPPH (*The Antioxidant Activity Of Extract And Factions Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Bulbs By DPPH Method). 1(1), 2598–2095.
- Chludil, H. D., Corbino, G. B., & Leicach, S. R. (2008). Soil quality effects on *Chenopodium album* flavonoid content and antioxidant potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5050–5056. <https://doi.org/10.1021/jf800421j>
- Darlina. (2016). Potensi Vitamin Sebagai Radioprotektor. *Buletin Alara*, 18(1), 7–15. <http://repo-nkm.batan.go.id/id/eprint/2411>
- Daud, M., Esti, S., & Endah, R. (2011). Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol dau jambu biji (*Psidium guajava* L.) berdaging buah putih. *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, Dan Kesehatan*, 2(2089–3582), 55–62.
- Febryana, S. (2020). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji Ungu (*Psidium guajava* L) Menggunakan Pelarut Yang Berbeda. *Konstruksi Pemberitaan Stigma Anti-China Pada Kasus Covid-19 Di Kompas.Com*, 68(1), 1–12.
- Ginting, E., Utomo, J. S., & Yulifianti, R. (2011). Potensi Ubijalar Ungu sebagai Pangan Fungsional. *Iptek Tanaman Pangan*, 6(1), 116–138.
- Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2018). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(8), 422–433.

<https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62>

- Handayani, R., & Natasia, G. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sangkareho (*Callicarpa longifolia* Lam.) Terhadap *Escherichia coli*. 23(62), 54–65.
- Handoyo, D., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.988>
- Hermawan, H., Sari, B. L., & Nashrianto, H. (2018). Kadar polifenol dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat dan metanol buah ketapang (*Terminalia catappa* L.). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1), 1–8.
- Inggrid, M., & Santoso, H. (2014). Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, III(3), 43.
- Irianti, T., Purnomo, H., Kuswandi, K., Nuranto, S., Kanistri, D. N., Murti, Y. B., & Farida, S. (2019). Uji Penangkapan Radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Oleh Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* (Bl.) Horan) Dan Buah Talok (*M. calabura* L.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(1), 41–53. <https://doi.org/10.22435/jtoi.v12i1.1582>
- Irianti, T. T., Kuswandi, Nuranto, S., & Purwanto. (2020). *Antioksidan dan Kesehatan*. 21(1), 1–9. <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>
- Kesuma, Y. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*.
- Khaira Kuntum. (2010). Meangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. In *Jurnal Sainstek* (Vol. 2, pp. 183–187).
- Kusuma, P. (2012). Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L). *Skripsi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alaudin, Makassar*, 1–26. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/1957/>
- Labola, Y. A., & Puspita, D. (2018). Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Farmasetika.Com (Online)*, 2(5), 12. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i2.13668>
- Marthen, R. (2020). Hubungan Tingkat Pengetahuan Perawat Tentang Bantuan Hidup Dasar Dengan Respon Time Pada Pasien Gangguan Napas & Gangguan Sirkulasi Di IGD RSUP DR.Wahidin Sudirohusodo MAKASSAR. *Skripsi*, 8(75), 147–154.

<https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125798><https://doi.org/10.1016/j.smr.2020.02.002><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/810049><http://doi.wiley.com/10.1002/anie.197505391><http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090409500205><http://>

- Maulana, E. A., Astiti Asih, I. A. R., & Arsa, M. (2016). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn). *Jurnal Kimia, band I*, 161–168. <https://doi.org/10.24843/jchem.2016.v10.i01.p22>
- Mukhriani. (2016). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Agripet*, 16(2), 76. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Mulyadi, M. (2012). Riset Desain Dalam Metodologi Penelitian Mohammad Mulyadi (. *Studi Komunikasi Dan Media*, 16(1), 71–80.
- Najoan, J. J., Runtuwene, M. J. R., & Wewengkang, D. S. (2016). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus Cobbe* L.). *Pharmacon*, 5(1), 266–274.
- Nikmatur, R. (2017). Proses Penelitian, Masalah, Variabel dan Paradigma Penelitian. *Jurnal Hikmah*, 14(1), 63.
- Ningsih, D. A. (2017). *Karakteristik Senyawa Aktif Antioksidan dari Ekstrak Biji Kecombrang (Etlingera elatior)*. 1–14.
- Nuha, A. (2017). Populasi Dan Sampel. *Pontificia Universidad Catolica Del Peru*, 8(33), 44.
- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana, April*, 1–54.
- Purwandari, R., Subagiyo, S., & Wibowo, T. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji. *Walisongo Journal of Chemistry*, 1(2), 66. <https://doi.org/10.21580/wjc.v2i2.3104>
- Putrawan, B., Rahman, N., & Diah, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 143–149.
- Putri, L. E. (2017). Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna KMnO₄ Dengan Metoda Spektroskopi UV Visible. *Natural Science Journal*, 3(1), 391–398.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *Al-Kimiya*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.345>

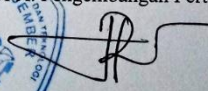
- Ramadhan, E., & Sudarsono. (2013). Radicals Arrest Of 2,2-diphenyl-1-*pycryl hydrazyl* (DPPH) In Ripe And Raw Papaya Fruit (*Carica papaya* L. (orentang). *Majalah Obat Tradisional*, 18(3), 167–172.
- Rochmasari, Y. (2011). *Senyawa Kimia dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia (Psidium guajava L.)*. 82.
- Rorong, J. A. (2008). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Cengkeh (*Eugenia Carryophyllus*) Dengan Metode DPPH. *Chemistry Progress*, 1(2). <https://doi.org/10.35799/cp.1.2.2008.4961>
- Salamah, N., Widyaningsih, W., Izati, I., & Susanti, H. (2015). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Etanol Ganggang Hijau *Spirogyra* sp . dan *Ulva lactuca* dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 145–150.
- Saleh, L. P., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2012). Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon*, 1(2), 20–24.
- Sari, A. N. (2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology*, 1(1), 63–68. www.jurnal.ar-raniry.com/index.php/elkawnie
- Sastrawan, I. N., Sangi, M., & Kamu, V. (2013). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), 110. <https://doi.org/10.35799/jis.13.2.2013.3054>
- Septa Desiyana, L., Ali Husni, M., & Zhafira, S. (2015). Uji Efektivitas Sediaan Gel Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Terhadap Penyembuhan Luka Terbuka Pada Mencit (*Mus musculus*)*. *Seminar Nasional: Indonesian StudentsConference on Science and Mathematics*, 16(2), 11–12.
- Suhaling, S. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Metode DPPH. *Skripsi*, 1–68.
- Surya, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Dengan Tiga Pelarut Yang Berbeda Kepolaran. 3(1), 88–96.
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi MaserasiI Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Sutiofani, R. (2021). Pengaruh RasioDengan Media Pasir Hitam Terhadap Karakteristik Fisik Minyak Kemiri Dari Daerah Kalimantan. *Karya Tulis*

Ilmiah, 12–13.

- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Universitas Indonesia*, 2.
- Uly, M. A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L) Dan Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara *IN-VITRO*. *Skripsi*, 8.5.2017, 2003–2005. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>
- Wahdaningsih, S., Prawita Setyowati, E., Wahyuono, S., Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura Pontianak, P., Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, B., & Abstrak, J. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm) Free Radical Scavenging Aactivity Of (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 2011.
- Wahyuni, S., Afidah, M., & Suryanti, S. (2022). Studi Morfologi Organ Vegetatif Dan Generatif Varietas Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Bio-Lectura : Jurnal Pendidikan Biologi*, 9(1), 103–113. <https://doi.org/10.31849/bl.v9i1.9824>
- Warono, D., & Syamsudin. (2013). Unjuk Kerja Spektrofotometer Analisa Zat Aktif Ketoprofein. *Konversi*, 2, 57–65.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D., & Ekatama, N. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Journal Fortech*, 1(1), 1–9.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Daun Jambu Biji Putih

	KODE DOKUMEN : FR-AUK-064 REVISI : 0 KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI POLITEKNIK NEGERI JEMBER UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http://www.Polije.ac.id
<u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN</u> No: 171/PL17.8/PG/2022	
Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 2965/FIKES.UDS/U/VIII/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh: Nama : Noveramli Sidonika Tefi NIM : 18040077 Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: <i>Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Myrtales; Famili: Myrtaceae; Genus: Psidium; Spesies: Psidium guajava, L.</i> Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.	
Jember, 12 September 2022 Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM NIP. 197106212001121001 	

Lampiran 2. Hasil Pengambilan dan Pengolahan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih

Sortasi basah daun jambu biji putih	Pengeringan	Sortasi kering
		
Serbuk Simplisia	Hasil perkolasi	Pengentalan Ekstrak
		
Ekstrak kental	Larutan uji daun jambu biji putih	Larutan uji kuersetin
		

Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia



Senyawa	Perubahan Reaksi	Hasil
Flavonoid	Hijau	Positif
Alkaloid	Endapan coklat	Positif
Saponin	Busa	Positif
Tanin	Hitam	Positif
Steroid/Triterpenoid	Tidak ada perubahan	Negatif

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

Replikasi 1 :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{31,76 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 31,76\% \end{aligned}$$

Replikasi 2 :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{29,50 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 29,5\% \end{aligned}$$

Replikasi 3 :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{30 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 30\% \end{aligned}$$

Replikasi	Berat Simplisia	Berat Ekstrak Kental	Rendemen
1	100 g	31,76 g	31,76 %
2	100 g	29,50 g	29,5%
3	100 g	30 g	30%
Rata-rata ± SD	30,42 ± 1.187097		

Lampiran 5. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Jambu Biji Putih dan Larutan Kuersetin

1. Perhitungan larutan induk ekstrak daun jambu biji putih (100 ppm)

$$= \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ppm}$$

Rumus Pengenceran : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$15 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$$

$$30 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 3 \text{ mL}$$

$$45 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 45 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{45 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 4,5 \text{ mL}$$

$$60 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 60 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{60 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 6 \text{ mL}$$

$$75 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 7,5 \text{ mL}$$

2. Perhitungan larutan induk kuersetin (100 ppm)

$$= \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ppm}$$

Rumus Pengenceran : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$2 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

$$4 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 0,4 \text{ mL}$$

$$6 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0,6 \text{ mL}$$

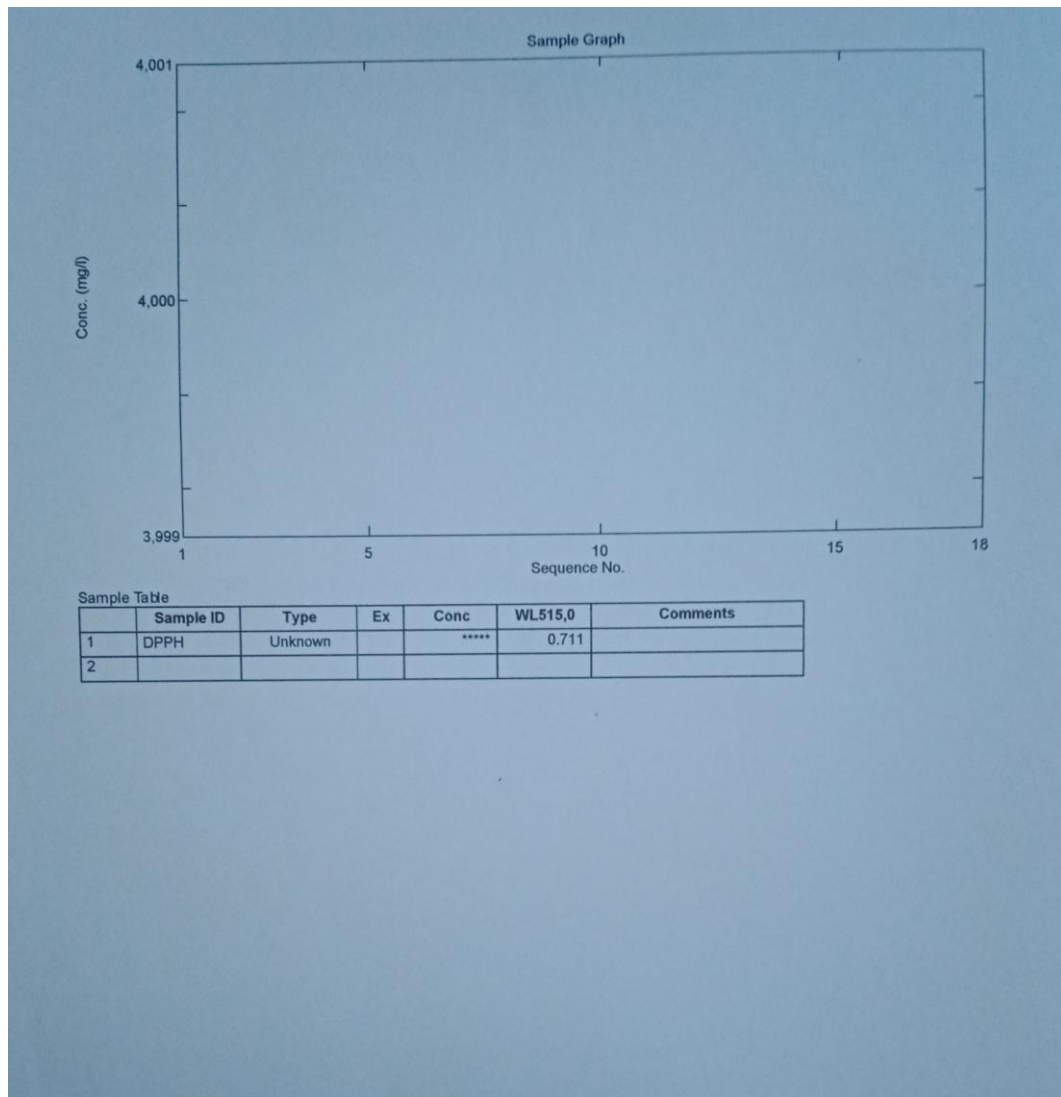
$$8 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 8 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{8 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0,8 \text{ mL}$$

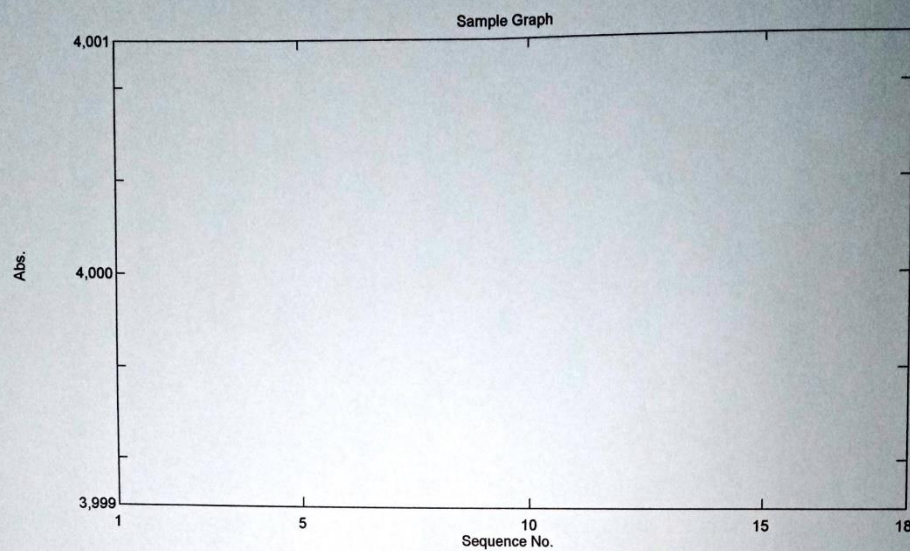
$$10 \text{ ppm} : 100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$= \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 1 \text{ mL}$$

Lampiran 6. Nilai Absorbansi Pada Panjang Gelombang 515 nm Larutan DPPH 40 ppm



Lampiran 7. Data Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.720	
2	2rep1	Unknown		*****	0.475	
3	4rep1	Unknown		*****	0.454	
4	6rep1	Unknown		*****	0.445	
5	8rep1	Unknown		*****	0.423	
6	10rep1	Unknown		*****	0.422	
7	2rep2	Unknown		*****	0.475	
8	4rep2	Unknown		*****	0.451	
9	6rep2	Unknown		*****	0.444	
10	8rep2	Unknown		*****	0.420	
11	10rep2	Unknown		*****	0.413	
12	2rep3	Unknown		*****	0.476	
13	4rep3	Unknown		*****	0.450	
14	6rep3	Unknown		*****	0.444	
15	8rep3	Unknown		*****	0.420	
16	10rep3	Unknown		*****	0.418	
17						

Lampiran 8. Grafik dan Perhitungan Nilai IC₅₀ Kuersetin

▪ % Inhibisi replikasi 1

$$2 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,475)}{0,720} \times 100\% = 34,027 \%$$

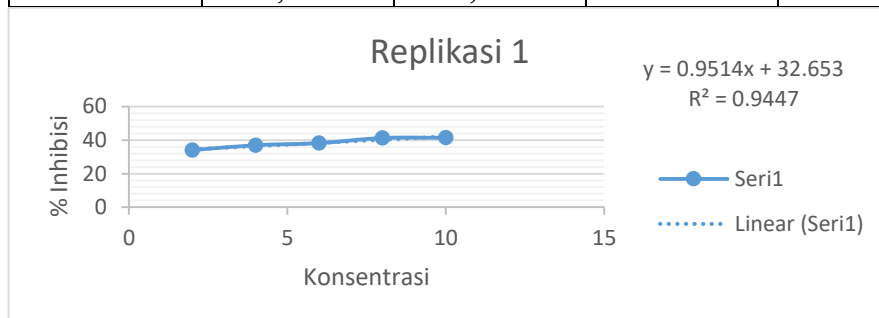
$$4 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,454)}{0,720} \times 100\% = 36,944\%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,445)}{0,720} \times 100\% = 38,194\%$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,423)}{0,720} \times 100\% = 21,384\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,422)}{0,720} \times 100\% = 41,388\%$$

Replikasi 1				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,720	0,475	34.02778	18,23
4	0,720	0,454	36.94444	
6	0,720	0,445	38.19444	
8	0,720	0,423	41.25	
10	0,720	0,422	41.38889	



$$a = 32,653$$

$$b = 0,9514$$

$$r = 0,9447$$

IC₅₀ = jika nilai y = 50

$$50 = 0,9514x + 32,653$$

$$x = \frac{50 - 32,653}{0,9514} = 18,23 \text{ ppm}$$

Persamaan garis = $y = bx + a$

$$y = 0,9514x + 32,653$$

▪ **% Inhibisi replikasi 2**

$$2 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,475)}{0,720} \times 100\% = 34,027 \%$$

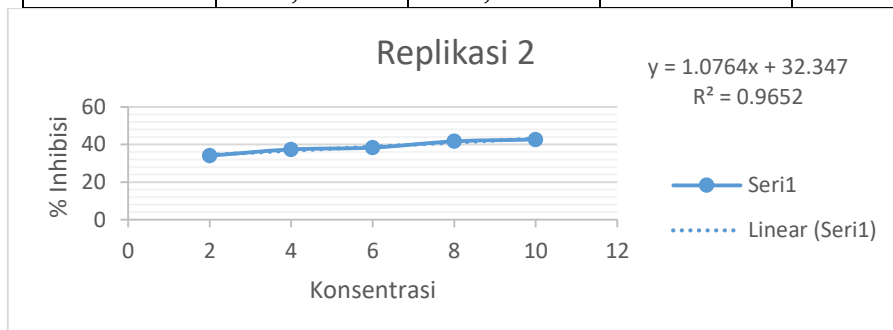
$$4 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,451)}{0,720} \times 100\% = 37,361\%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,444)}{0,720} \times 100\% = 38,333\%$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,420)}{0,720} \times 100\% = 41,666\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,413)}{0,720} \times 100\% = 42,638\%$$

Replikasi 2				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,720	0,475	34.02778	16,40
4	0,720	0,451	37.36111	
6	0,720	0,444	38.33333	
8	0,720	0,420	41.66667	
10	0,720	0,413	42.63889	



$$a = 32,347$$

$$b = 1,0764$$

$$r = 0,9652$$

$$\text{IC}_{50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 1,0764x + 32,347$$

$$x = \frac{50 - 32,347}{1,0764} = 16,40 \text{ ppm}$$

$$\text{Persamaan garis} = y = bx + a$$

$$y = 1,0764x + 32,347$$

▪ **% Inhibisi replikasi 3**

$$2 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,476)}{0,720} \times 100\% = 33,888 \%$$

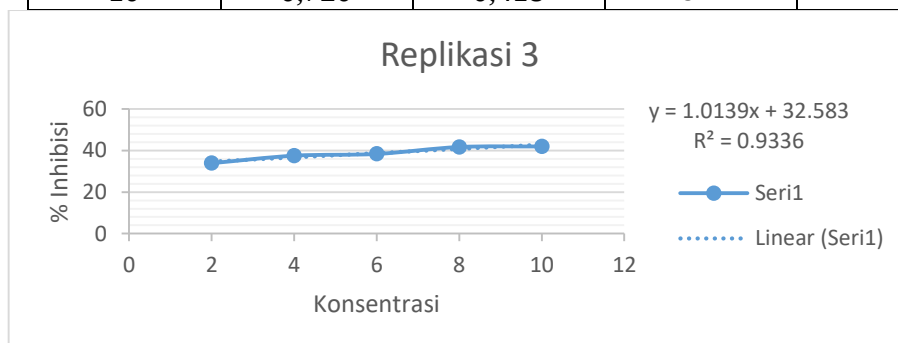
$$4 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,450)}{0,720} \times 100\% = 37,5\%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,444)}{0,720} \times 100\% = 38,333\%$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,420)}{0,720} \times 100\% = 41,666\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,720-0,418)}{0,720} \times 100\% = 41,944\%$$

Replikasi 3				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,720	0,476	33.88889	17,17
4	0,720	0,450	37.5	
6	0,720	0,444	38.33333	
8	0,720	0,420	41.66667	
10	0,720	0,418	41.94444	



$$a = 32,583$$

$$\text{Persamaan garis} = y = bx + a$$

$$b = 1,0139$$

$$y = 1,0139x + 32,583$$

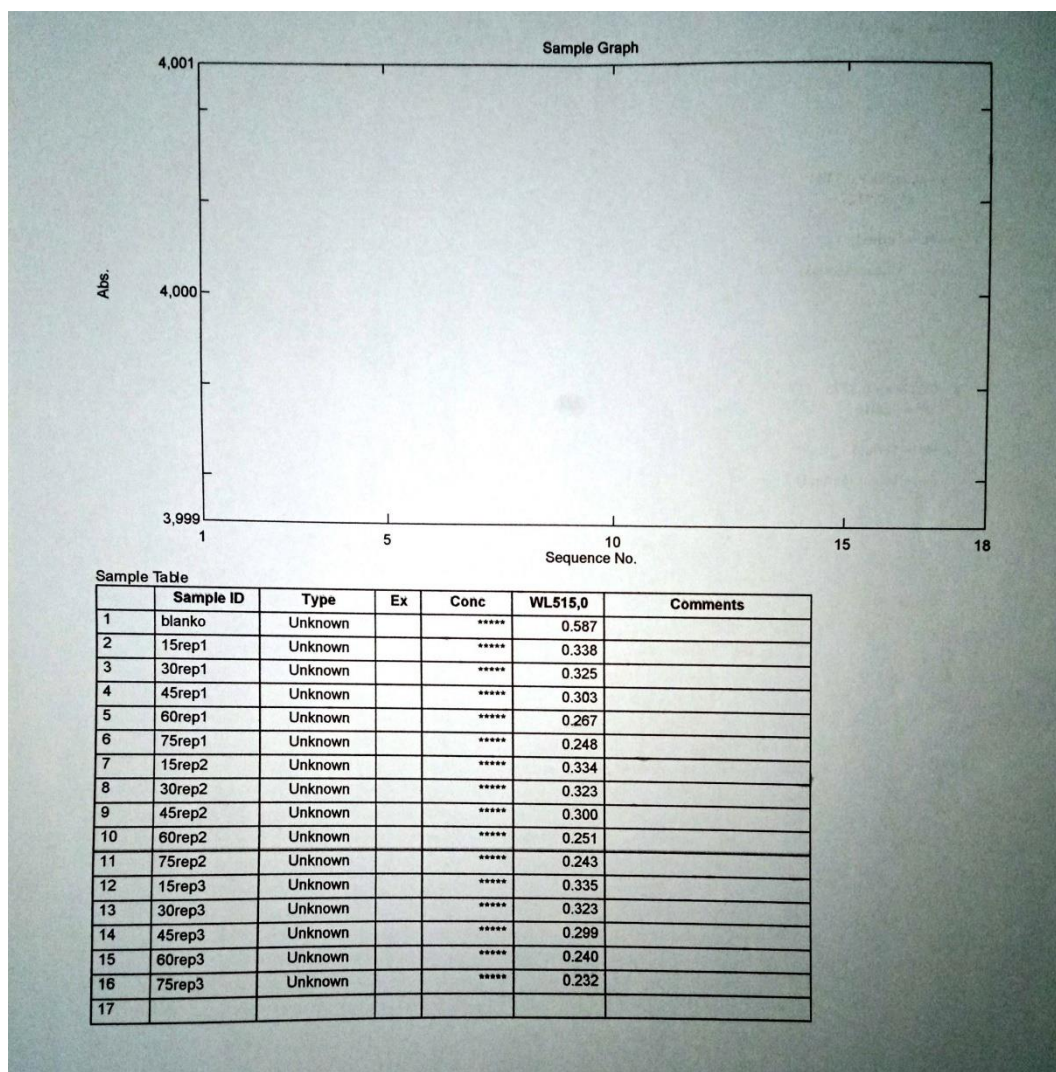
$$r = 0,9336$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 1,0139x + 32,583$$

$$x = \frac{50 - 32,583}{1,0139} = 17,17 \text{ ppm}$$

Lampiran 9. Data Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Biji Putih



Lampiran 10. Grafik dan Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Daun Jambu Biji Putih

▪ % Inhibisi replikasi 1

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,338)}{0,587} \times 100\% = 42,419 \%$$

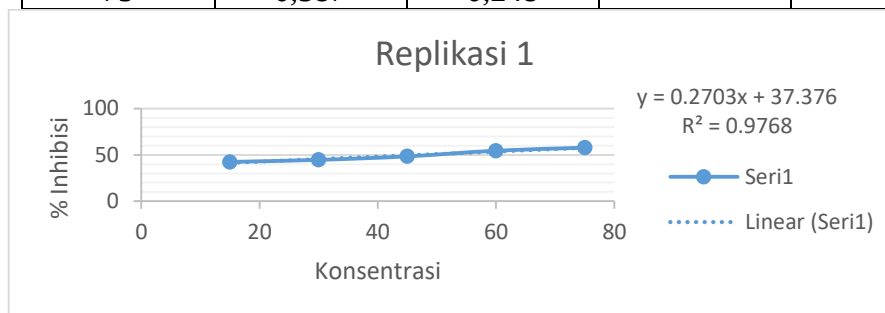
$$30 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,325)}{0,587} \times 100\% = 44,634\%$$

$$45 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,303)}{0,587} \times 100\% = 48,381\%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,267)}{0,587} \times 100\% = 54,514\%$$

$$75 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,248)}{0,587} \times 100\% = 57,751\%$$

Replikasi 1				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
15	0,587	0,338	42.41908	46,70
30	0,587	0,325	44.63373	
45	0,587	0,303	48.3816	
60	0,587	0,267	54.51448	
75	0,587	0,248	57.75128	



$$a = 37,376$$

$$b = 0,2703$$

$$r = 0,9768$$

IC₅₀ = jika nilai y = 50

$$50 = 0,2703x + 37,376$$

$$x = \frac{50 - 37,376}{0,2703} = 46,70 \text{ ppm}$$

Persamaan garis = $y = bx + a$

$$y = 0,2703x + 37,376$$

▪ **% Inhibisi replikasi 2**

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,334)}{0,587} \times 100\% = 43,102 \%$$

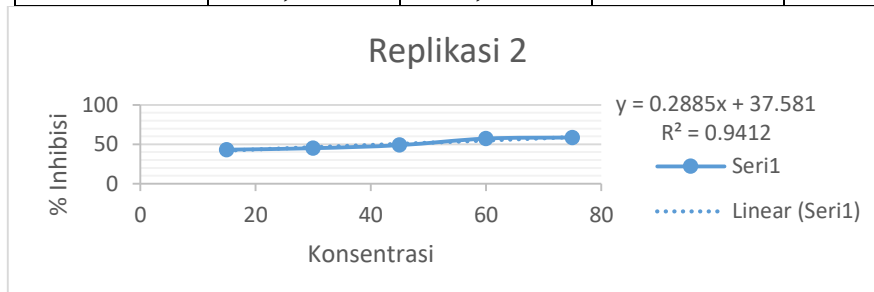
$$30 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,323)}{0,587} \times 100\% = 44,974\%$$

$$45 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,300)}{0,587} \times 100\% = 48,893\%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,251)}{0,587} \times 100\% = 57,240\%$$

$$75 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,243)}{0,587} \times 100\% = 58,603\%$$

Replikasi 2				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
15	0,587	0,334	43.10051	43,04
30	0,587	0,323	44.97445	
45	0,587	0,300	48.89267	
60	0,587	0,251	57.2402	
75	0,587	0,243	58.60307	



$$a = 37,581$$

$$b = 0,2885$$

$$r = 0,9412$$

$$\text{Persamaan garis} = y = bx + a$$

$$y = 0,2885x + 37,581$$

IC50 = jika nilai $y = 50$

$$50 = 0,2885x + 37,581$$

$$x = \frac{50 - 37,581}{0,2885} = 43,04 \text{ ppm}$$

▪ **% Inhibisi replikasi 3**

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,335)}{0,587} \times 100\% = 42,930 \%$$

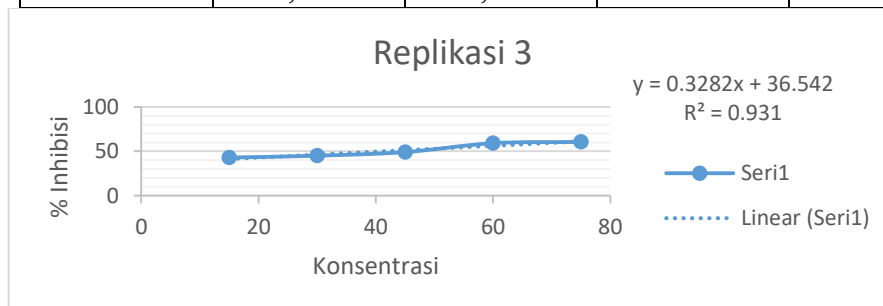
$$30 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,323)}{0,587} \times 100\% = 44,974\%$$

$$45 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,299)}{0,587} \times 100\% = 49,063\%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,240)}{0,587} \times 100\% = 59,114\%$$

$$75 \text{ ppm} = \frac{(0,587-0,232)}{0,587} \times 100\% = 60,477\%$$

Replikasi 3				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
15	0,587	0,335	42.93015	41,01
30	0,587	0,323	44.97445	
45	0,587	0,299	49.06303	
60	0,587	0,240	59.11414	
75	0,587	0,232	60.477	



$$a = 36,542$$

$$b = 0,3282$$

$$r = 0,931$$

IC50 = jika nilai $y = 50$

$$50 = 0,3282x + 36,542$$

$$x = \frac{50 - 36,542}{0,3282} = 41,01 \text{ ppm}$$

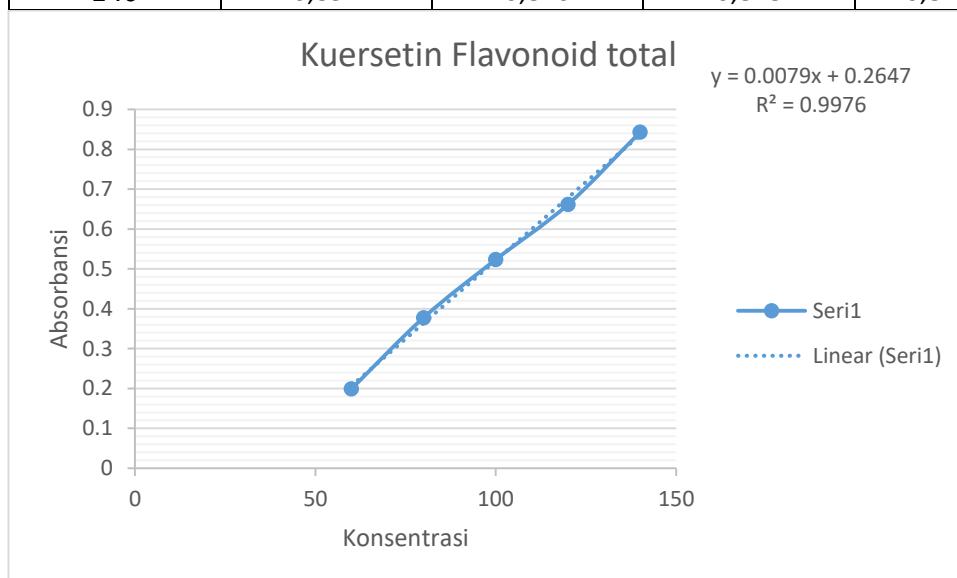
Persamaan garis = $y = bx + a$

$$y = 0,3282x + 36,542$$

Lampiran 11. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

a. Regresi Linear Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
60	0,212	0,198	0,187	0,199
80	0,381	0,386	0,366	0,377667
100	0,489	0,533	0,548	0,523333
120	0,678	0,651	0,655	0,661333
140	0,854	0,846	0,828	0,842667



b. Kadar flavonoid dari ekstrak daun jambu biji putih

Replikasi	Penimbangan	Absorbansi
1	25,1	0,333
2	25,6	0,340
3	25,4	0,335

1) Replikasi 1

$$y = 0,0079x + 0,2647$$

$$0,333 = 0,0079x + 0,2647$$

$$x = \frac{0,333 - 0,2647}{0,0079}$$

$$x = 8,64 \text{ ppm}$$

2) Replikasi 2

$$y = 0,0079x + 0,2647$$

$$0,340 = 0,0079x + 0,2647$$

$$x = \frac{0,340 - 0,2647}{0,0079}$$

$$x = 9,53 \text{ ppm}$$

3) Replikasi 1

$$y = 0,0079x + 0,2647$$

$$0,335 = 0,0079x + 0,2647$$

$$x = \frac{0,335 - 0,2647}{0,0079}$$

$$x = 8,89 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar} = \frac{C \times V \times Fp}{\text{Volume Ekstrak}} \times 100\%$$

- Replikasi 1 sebesar 8,61% mgQE/g ekstrak
- Replikasi 2 sebesar 9,31% mgQE/g ekstrak
- Replikasi 3 sebesar 8,75% mgQE/g ekstrak

Jika didapatkan rata-rata kadar flavonoid total sebesar 8,89% mgQE/g ekstrak.

Lampiran 12. Optimasi Waktu Inkubasi

Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
DPPH			0,765	DPPH			0,587
Kuersetin	0	2 ppm	0,571	Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	0	15 ppm	0,427
		4 ppm	0,553			30 ppm	0,372
		6 ppm	0,555			45 ppm	0,370
		8 ppm	0,562			60 ppm	0,363
		10 ppm	0,557			75 ppm	0,333
	10	2 ppm	0,570		10	15 ppm	0,425
		4 ppm	0,551			30 ppm	0,353
		6 ppm	0,543			45 ppm	0,348
		8 ppm	0,583			60 ppm	0,344
		10 ppm	0,547			75 ppm	0,319
	20	2 ppm	0,566		20	15 ppm	0,380
		4 ppm	0,575			30 ppm	0,347
		6 ppm	0,541			45 ppm	0,332
		8 ppm	0,543			60 ppm	0,311
		10 ppm	0,545			75 ppm	0,283
	30	2 ppm	0,564		30	15 ppm	0,357
		4 ppm	0,568			30 ppm	0,336
		6 ppm	0,535			45 ppm	0,334
		8 ppm	0,528			60 ppm	0,296
		10 ppm	0,540			75 ppm	0,281
	40	2 ppm	0,561		40	15 ppm	0,335
		4 ppm	0,564			30 ppm	0,331
		6 ppm	0,530			45 ppm	0,321
		8 ppm	0,522			60 ppm	0,294
		10 ppm	0,536			75 ppm	0,267
	50	2 ppm	0,558		50	15 ppm	0,330
		4 ppm	0,558			30 ppm	0,326
		6 ppm	0,525			45 ppm	0,273
		8 ppm	0,517			60 ppm	0,248
		10 ppm	0,530			75 ppm	0,226
	60	2 ppm	0,555		60	15 ppm	0,334
		4 ppm	0,556			30 ppm	0,323
		6 ppm	0,528			45 ppm	0,270
		8 ppm	0,523			60 ppm	0,254
		10 ppm	0,513			75 ppm	0,235