

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN JAMBU AIR (*SYZYGIIUM SAMARANGENSE (BL.) MERR ET. PERRY*) SERTA OPTIMASI SUHU DAN LAMA PENYEDUHAN

Ulil Albab^{1*}, Ratih Rizki Nirwana.², R. Arizal Firmansyah³

¹Bukit Perak Semarang Corporation, Indonesia

^{2,3}Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang, Indonesia

*Email: ulilalbab270894@gmail.com

Abstrak

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan dan struktur pada fungsi sel yang dapat dicegah dengan antioksidan. Antioksidan dihasilkan dari ekstraksi seperti pada air seduhan teh. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui suhu dan waktu yang optimum dalam mengesktrak daun jambu air (*Syzygium samarangense (BL.) Merr.et Perry*) dan mengetahui nilai aktivitas antioksidan berupa *Inhibisi Concentration* (IC_{50}). Dalam penelitian ini metode yang digunakan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara terpisah dan dirancang secara faktorial (4 x 3) dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah suhu yaitu 70°C, 80°C, 90°C, 100°C. Faktor kedua adalah waktu yaitu 5 menit, 10 menit, 15 menit. Untuk mengetahui aktivitas antioksidannya berupa IC_{50} digunakan metode penangkal radikal bebas DPPH (*1,1 -diphenyl-2-picylhydrazyl*). Kemudian hasil absorbansi dari spektrofotometer Visibel dianalisa statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis yang menyatakan bahwa suhu tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu air Semarang. Sedangkan waktu berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu air Semarang. Suhu dan waktu optimum penyeduhan yang disarankan yaitu pada 70°C selama 5 menit dengan persen (%) hambatan yaitu 77,46%. Sementara itu aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yaitu 41,01 ppm.

Kata kunci : waktu; suhu penyeduhan; daun jambu air; aktivitas antioksidan

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul, atom atau beberapa grup atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Winarti, 2010). Hal ini

menyebabkan radikal bebas memiliki reaktifitas yang sangat tinggi, mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau asam deoksiribonukleat (DNA) sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel. (Winarti, 2010 ; Lampe, 1999 ; Wijaya, 1996). Sehingga akan

menyebabkan berbagai macam keadaan patologik seperti penyakit karsinogenesis, proses inflamasi, juga penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, diabetes, atherosclerosis, kanker, serta ikut berperan dalam proses penuaan (*aging process*) (Irene, 2000).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan menetralkannya melalui cara menerima atau mendonorkan satu elektron untuk menghilangkan elektron tidak berpasangan yang berada pada radikal bebas (Winarsi, 2007). Antioksidan mempunyai fungsi sebagai pengawet dalam bahan pangan dengan menghambat proses oksidasi lemak/minyak. Antioksidan dalam sistem biologis berperan sebagai penangkal radikal bebas dalam tubuh sehingga dapat melawan kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. (Kesuma & Yenrina, 2015)

Salah satu jenis tanaman lokal yang berpotensi sebagai antioksidan adalah daun jambu air varietas deli hijau. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ragasa, dkk (2014), melaporkan terdapat senyawa baru dari isolasi daun jambu air yang kemudian dilakukan uji antimikroba dan antidiabetesnya yang menunjukkan aktivitas antimikroba dan antidiabetes yang lemah. Penelitian tersebut hanya menggunakan pelarut non polar yaitu diklorometana dan hanya meneliti antimikroba dan antidiabetes. Dilanjutkan pada penelitian yang dilakukan Adesegun, dkk (2013), melaporkan bahwa daun jambu air berpotensi sebagai antimikroba *Escherichia coli*. Namun penelitian tersebut terbatas pada antimikroba. Dilanjutkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ayyida (2014) melaporkan bahwa ekstrak methanol daun jambu air semarang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari pada ekstrak n-heksana, sehingga berpotensi dibuat produk minuman untuk dikonsumsi sehari-hari. Akan tetapi, penelitian tentang aktivitas

antioksidan pada ekstrak air daun jambu Semarang belum pernah dilakukan serta waktu dan suhu penyeduhan yang optimum sebagai pemanfaatan minuman dari daun jambu air. Metode yang digunakan pada penelitian ini *radical scavenger* dengan DPPH pada air seduhan daun jambu air dengan variasi suhu dan waktu. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat sehingga bisa memanfaatkan daun jambu air sesuai hasil yang didapat dari penelitian mengenai waktu dan suhu penyeduhan yang optimum.

Sesuai dengan potensi dari daun jambu air yang memiliki aktivitas antioksidan dan dapat dibuat menjadi produk minuman untuk dikonsumsi dalam kehidupan sehari-hari (Ayyida, 2014 : Evangeline, dkk, 2005).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Neraca analitik, gelas ukur, tabung reaksi, gelas beker, corong kaca, batang pengaduk, labu ukur, pemanas listrik, thermometer, pipet ukur, pipet volum, blender Panasonic, Freeze dryer PowerDry LL1500 dan spektrofotometer Visible Genesys 20.

Bahan yang digunakan adalah daun jambu air (*Syzygium samarangense*(BL.) Merr.et Perry) var. deli hijau sebagai sumber antioksidan. Bahan-bahan lain: serbuk DPPH (1,1 -*diphenyl-2-picrylhydrazyl*), metanol teknis 95%, N- heksana teknis 95%, etil asetat teknis 95%, metanol p.a, aquades.

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel

Daun jambu air Semarang diambil 1,5 Kg daun segar. Kemudian diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung hingga kering selama 7 hari. Daun kering diblender sampai halus.

Optimasi Suhu dan Waktu Penyeduhan

Penyeduhan Daun Jambu Semarang

Aquades 50 mL di panaskan dengan variasi suhu yaitu 70, 80, 90, 100°C dan dijaga suhunya. Kemudian dimasukkan daun jambu air kering sebanyak 1 g dan direndam selama variasi waktu 5, 10, 15 menit. Selama perendaman dilakukan pengadukan. Disaring dan diambil filtratnya.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prosedur Blois, yaitu absorbansi yang dihitung dari 2 ml sampel dicampur 4 ml DPPH (Murni, 2012 : Molyneux, 2004; Dwiynati & Nurani : 2014).

a. Pembuatan larutan DPPH

2 mg DPPH dilarutkan dalam 10 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 200 µg/ml. Diambil sebanyak 1 mL diencerkan dengan methanol sampai 20 ppm.

b. Optimasi panjang gelombang DPPH

4 ml larutan DPPH 20 µg/ml ditambahkan 2 ml metanol dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Diinkubasi dalam penangas air 37°C selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510-525 nm untuk menentukan λ optimumnya.

c. Pengujian air seduhan daun jambu air Semarang

Air seduhan daun jambu diambil 2 mL ditambahkan 4 mL larutan DPPH 20 ppm ke dalam labu reaksi dan dikocok hingga homogen. Diinkubasi pada penangas air bersuhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer Visible pada panjang gelombang 516 nm. Dilakukan 3 kali pengulangan pengukuran absorbansi pada sampel baru.

Penentuan IC₅₀

Pengeringan Daun Jambu air Semarang

Daun jambu air Semarang diambil 1,5 Kg daun segar. Kemudian diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari secara

langsung hingga kering selama 7 hari. Daun kering diblender sampai halus.

Perendaman Daun Jambu air Semarang

1. Daun jambu kering sebanyak 300 gram direndam dalam pelarut n-heksana 3 liter selama 24 jam, dilakukan pengulangan 2 kali dengan pelarut baru. Filtrat diambil dan daun diangin-anginkan selama 24 jam untuk menghilangkan pelarut.
2. Daun direndam kembali dalam pelarut etil asetat 3 liter selama 24 jam, dilakukan pengulangan 2 kali dengan pelarut baru. Filtrat diambil dan daun diangin-anginkan selama 24 jam untuk menghilangkan pelarut.
3. Daun direndam kembali dalam pelarut methanol 3 liter selama 24 jam, dilakukan pengulangan 2 kali dengan pelarut baru. Filtrat diambil dan daun diangin-anginkan selama 24 jam untuk menghilangkan pelarut.
4. Daun direndam dalam pelarut air 3 liter selama 24 jam, dilakukan pengulangan 2 kali dengan pelarut baru. Filtrat diambil dan dilakukan penguapan dengan menggunakan freeze dryer.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dihitung dari 0,1 ml sampel dicampur 3,9 ml DPPH (molyneux, 2004 : Gramza, 2005).

a. Pembuatan larutan DPPH

1 mg DPPH dilarutkan dalam 40 ml metanol p.a, hingga konsentrasi 25 µg/ml diencerkan menjadi 0,25 µg/ml menggunakan labu ukur 10 ml.

b. Optimasi panjang gelombang DPPH

3,9 ml larutan DPPH 0,25 µg/ml ditambahkan 0,1 ml metanol p.a, dimasukkan dalam tabung reaksi. Diinkubasi dalam penangas air 37° C selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510-525 nm untuk menentukan λ optimumnya.

c. Pengujian Ekstrak air daun jambu air semarang

20 mg ekstrak air daun jambu air semarang dilarutkan dalam 20 ml aquades hingga

konsentrasi 1000 µg/ml. Dilakukan pengenceran sampai diperoleh larutan dengan konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml dan 100 µg/ml. Caranya dengan memipet larutan induk berturut-turut sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml ;1 ml, dimasukkan pada labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan aquades hingga tanda batas. Larutan diambil masing-masing sebanyak 0,1 ml tiap konsentrasi larutan sampel. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 3,9 ml DPPH 0,25 µg/ml dikocok hingga homogen. Diinkubasi dalam penangas air 37^o C selama 30 menit. Masing-masing diukur absorbansinya pada λ 516 nm

Teknik Analisa Data

Data hasil absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk mencari % inhibisinya. Perhitungan yang digunakan adalah (Maria, 2010):

$$\%inhibisi = \frac{A_{Blanko} - A_{Sampel}}{A_{Blanko}} \times 100\%$$

A_{blanko} = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

A_{Sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat % inhibisi sebesar 50 dari persamaan $Y=aX+b$

Pada saat %Inhibisi=50, maka untuk menghitung nilai IC_{50} persamaannya menjadi:

$$50 = aX+b$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$

Harga X adalah IC_{50} dengan satuan µg/ml

Semua data kuantitatif optimasi suhu dan waktu dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Kruskal-wallis (Daniel, 1991). Data IC_{50} dihitung menggunakan analisis probit. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

A. Hasil

1. Preparasi Sampel

Daun jambu air varietas deli hijau sebanyak 1,5 Kg dikeringkan di tempat yang tidak

terkena cahaya matahari selama 7 hari. Pengeringan ini menghasilkan 417,46 gram. Daun kering sebanyak 117,16 digunakan untuk sampel yang diseduh. Sisa daun kering sebanyak 300 gram dimaserasi dengan pelarut n-heksana 3 L, etil asetat 3 L, metanol 3 L, aquades 3L, masing-masing dilakukan 2 kali pengulangan. Filtrat dari aquades diambil untuk diuapkan dengan menggunakan alat freeze dryer. Penguapan ini menghasilkan 8 gram serbuk ekstrak daun jambu air. Serbuk tersebut digunakan untuk penentuan IC_{50} .

2. Optimasi waktu dan suhu penyeduhan

a. Penyeduhan Sampel

Penyeduhan sampel dilakukan pada suhu 70, 80, 90, 100^oC dengan waktu 5, 10, 15 menit. Masing-masing penyeduhan dimasukkan sampel 1 gram daun kering. Penyeduhan ini dilakukan 3 kali pengulangan. Disaring dan diambil filtratnya. Tahap ini menghasilkan sampel penyeduhan sebanyak 36 sampel.

b. Uji Aktivitas Antioksidan

Pada uji aktivitas antioksidan ini sebelumnya dilakukan beberapa tahapan:

1. Pembuatan Larutan DPPH

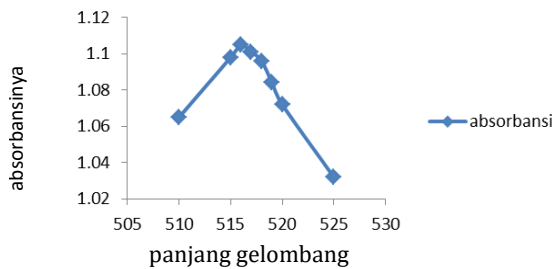
Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 20 ppm. Adapun perhitungan lengkapnya ada di lampiran 1. Larutan DPPH 20 ppm digunakan untuk menentukan optimasi suhu dan waktu pada penyeduhan sampel.

2. Optimasi Panjang Gelombang

Larutan DPPH 20 ppm diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Vis dengan panjang gelombang 510 – 525 nm. Panjang gelombang maksimal yang didapatkan yaitu 516 nm ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 1 di bawah ini:

Tabel 1. Absorbansi Larutan DPPH 20 ppm

λ (nm)	Absorbansi
510	1,065
515	1,098
516	1,105
517	1,101
518	1,096
519	1,084
520	1,072
525	1,032



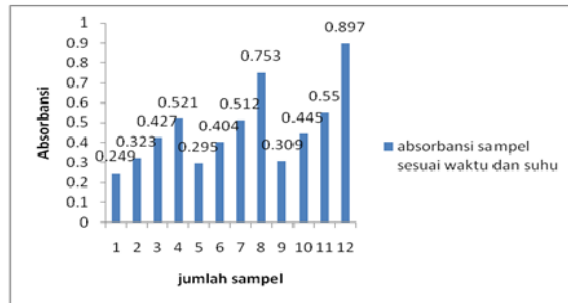
Gambar 1. Grafik Absorbansi Larutan DPPH 20 ppm

3. Pengujian Air Seduhan Daun Jambu Air

Uji ini menggunakan perbandingan 2 ml air seduhan ditambahkan dengan 4 ml larutan DPPH 20 ppm. Dihomogenkan dan diinkubasi pada penangas air dengan suhu 37°C selama 30 menit. Serta diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Kemudian diukur absorbansinya. Absorbansi terendah terdapat pada waktu 5 menit dengan suhu 70°C sedangkan absorbansi tertinggi terdapat pada waktu 15 menit dengan suhu 100°C. Hasil absorbansinya ditunjukkan pada tabel 2 dan gambar 2 di bawah ini :

Tabel 2. Absorbansi Air Seduhan

Waktu/ suhu	70°C	80°C	90°C	100°C
5 menit	1 0.16	0.31	0.374	0.462
	2 0.263	0.311	0.426	0.468
	3 0.325	0.376	0.482	0.634
Rata-rata absorban si	0.249	0.323	0.427	0.521
10 menit	1 0.247	0.355	0.434	0.543
	2 0.295	0.413	0.498	0.73
	3 0.343	0.445	0.605	0.986
Rata-rata absorban si	0.295	0.404	0.512	0.753
15 menit	1 0.264	0.384	0.464	0.656
	2 0.31	0.458	0.543	0.996
	3 0.355	0.492	0.643	1.039
Rata-rata absorban si	0.309	0.445	0.550	0.897



Gambar 2. Grafik Diagram Rata-rata Absorbansi Sampel

3. Penentuan IC₅₀

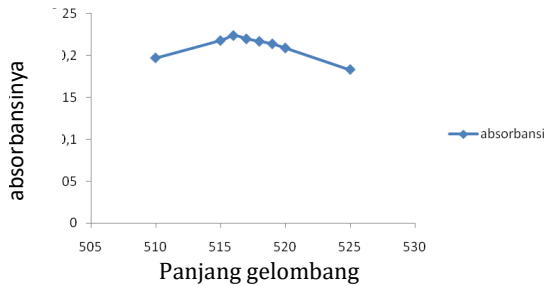
a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat 25 ppm lalu diencerkan menjadi konsentrasi 0,25 ppm digunakan untuk menentukan IC₅₀ pada serbuk dari ekstrak air daun jambu.

b. Optimasi Panjang Gelombang

Larutan DPPH 0,25 ppm di ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 510 – 525 nm.

Panjang gelombang maksimal yang didapatkan yaitu 516 nm ditunjukkan pada gambar 3 di bawah ini:



Gambar 3. Grafik Absorbansi Larutan DPPH 0,25 ppm

c. Pembuatan larutan ekstrak daun jambu air

Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian larutan induk diencerkan menjadi konsentrasi 25, 50, 75, 100 ppm.

d. Pengujian Ekstrak Daun Jambu Air

Uji ini menggunakan perbandingan 0,1 ml larutan ekstrak daun jambu air dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100 ppm ditambahkan dengan 3,9 ml larutan DPPH 20 ppm. Dihomogenkan dan diinkubasi pada penangas air dengan suhu 37°C selama 30 menit. Serta diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Diukur absorbansinya. Hasil absorbansinya ditunjukkan pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 3. Absorbansi Sampel Ekstrak Daun Jambu Air

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi 1	Absorbansi 2
0	0,224	0,203
25	0,176	0,089
50	0,128	0,056
75	0,099	0,029
100	0,055	0,016

1. Ekstraksi Daun Jambu Air Semarang

Preparasi sampel daun jambu air dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Pengeringan ini bertujuan untuk menurunkan kadar air sebanyak 8-10% yang banyak terkandung dalam daun (Hernani, 1997). Agar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun tidak rusak akibat suhu yang tinggi

karena cahaya sinar matahari maka pengeringan dilakukan pada suhu kamar (Guenther, 1988 : Robinson, 1995).

Daun jambu air yang telah kering dihaluskan. Penghalusan daun dilakukan untuk memperluas permukaan zat sehingga daya difusi sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi dapat berjalan dengan optimal. Lalu sampel disimpan di dalam wadah kedap udara dan kedap cahaya untuk menjaga mutu sampel dan mencegah kerusakan.

Pada penelitian ini sampel diekstraksi dengan cara penyeduhan dan maserasi. Menurut Astil dkk. (2001), perbedaan penyeduhan teh dapat mempengaruhi senyawa yang terkestrak dalam air seduhan. Perbedaan penyeduhannya meliputi jumlah teh dan pelarut yang digunakan, pengadukan, suhu, waktu, dan penambahan bahan lain seperti gula. Penelitian ini menggunakan daun jambu air sebanyak 1 gram yang di seduh dalam 50 ml air. Menurut Laresolo (2008), perbandingan penyeduhan sampel:air 1:5 akan menghasilkan air seduhan dengan cita rasa yang pas. Pada umumnya formula ini sering digunakan dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Pada penelitian ini menggunakan air destilat (aquades) karena air mempengaruhi kualitas minuman. Menurut Rohdiana (2006), air yang mengandung unsur Ca/Mg atau air sadah akan membuat hasil ekstraksi tidak maksimal (kurang pekat).

Penyeduhan daun jambu air dilakukan dengan memvariasikan waktu dan suhu. Waktu penyeduhan yang digunakan yaitu 5,10,15 menit. Hal ini disebabkan agar ekstraksi berlangsung maksimal serta kebiasaan masyarakat Indonesia yang menyeduh daun teh sambil didiamkan hingga menunggu suhu tidak terlalu panas agar mulut dan lidah tidak kepanasan.

Suhu penyeduhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 70°, 80°, 90°, 100°C. Suhu 70°C digunakan karena suhu tersebut merupakan suhu air hangat pada dispenser. Sebagian besar masyarakat Indonesia melakukan penyeduhan dengan menggunakan air hangat dari dispenser. Suhu 100°C digunakan karena merupakan titik didih air. Sedangkan suhu 80° dan 90°C merupakan suhu tengah-tengahnya. Interval suhu menggunakan 10°C mengacu pada selisih suhu pada perubahan laju reaksi yang umum digunakan.

Pada penyeduhan dilakukan 3 kali pengulangan untuk menguatkan data yang di dapatkan dalam penelitian.

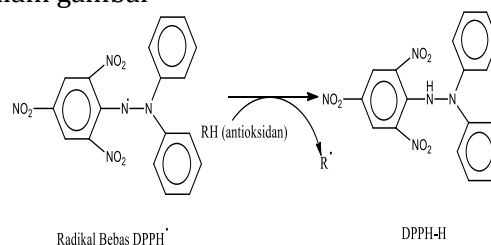
Pada penentuan IC_{50} , daun jambu diekstraksi dengan metode maserasi. Metode ini digunakan untuk mencegah terurainya metabolit yang tidak tahan dengan pemanasan. Ekstraksi dilakukan secara berturut-turut dan bertingkat yaitu pelarut n-heksana, etil asetat, methanol, air. Pelarut yang pertama kali digunakan adalah n-heksana yang bersifat non polar dengan tujuan untuk menghilangkan lemak dan mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti asam lemak, sterol, kumarin dan beberapa terpenoid sehingga bahan alam bebas dari lemak, selain itu juga berdasarkan pada gradien pelarut. Etil asetat bersifat semi polar digunakan untuk mengekstrak senyawa semi polar seperti steroid, triterpenoid dan saponin. Metanol yang bersifat polar digunakan untuk mengekstrak senyawa polar seperti flavonoid, glikosida, tannin dan beberapa alkaloid (Harbone: 2006). Diakhiri dengan pelarut air.

Daun kering yang dimaserasi sebanyak 300 gram dengan masing-masing pelarut n-heksana, etil asetat, metanol dan air sebanyak 3000 ml selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. Hal ini dilakukan agar pelarut yang digunakan berdifusi ke dalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung didalamnya dan larutan melewati dinding sel serta bercampur dengan cairan di sekitarnya sehingga terbentuk kesetimbangan (Samuelsson, 1999). Maserasi dilakukan sebanyak 2 kali dalam tiap pelarut dan filtrat yang diperoleh ditampung dan residu diuapkan dengan cara diangin-anginkan hingga pelarutnya menguap seluruhnya selama 24 jam. Hasil filtrat dari pelarut air diuapkan dengan menggunakan freeze dryer hingga air menguap seluruhnya. Penggunaan freeze dryer karena pelarut yang diuapkan berupa air, dimana pelarut air itu tidak bisa diuapkan menggunakan rotary vakum.

2. Uji Aktivitas Antioksidan

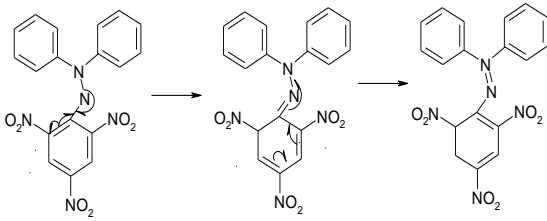
Untuk melihat pengaruh waktu dan suhu penyeduhan serta nilai aktivitas antioksidannya dilakukan dengan metode penangkal radikal bebas DPPH. Sebelumnya dilakukan penentuan optimasi 24

panjang gelombang DPPH yang bertujuan untuk mengetahui absorbansi maksimal yang menandakan panjang gelombang maksimal dari suatu larutan. Panjang gelombang maksimal memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar dan juga bentuk kurva kalibrasinya memenuhi aturan lambert beer. Panjang gelombang maksimal yang didapatkan yaitu 516 nm. Panjang gelombang 516 nm tergolong cahaya tampak (sinar visible) yang dapat dilihat oleh mata manusia. Sesuai dengan hukum lambert beer yang menyatakan bahwa suatu larutan berwarna dapat menyerap sinar pada panjang gelombang tampak. Absorbansi sampel air seduhan maupun sampel ekstrak daun jambu air dilakukan pada panjang gelombang 516 nm. Pengujian air seduhan dan larutan sampel ekstrak daun jambu air dengan larutan DPPH ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna itu menandakan bahwa senyawa itu memiliki aktivitas antioksidan. Hal itu disebabkan senyawa tersebut mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH. Reaksi yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan adalah seperti dalam gambar



Gambar 4. Reaksi antara DPPH• dengan Antioksidan Membentuk DPPH-H. Sumber: Kesuma & Yenrina, 2015

Penangkapan atom hidrogen mengakibatkan ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan intensitas warna dan penurunan absorbansi. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi. Resonansi senyawa DPPH dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Resonansi pada Struktur DPPH

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Data hasil pengukuran aktivitas antioksidan dari beberapa sampel dapat dilihat pada Tabel 5 dibawah ini.

Hasil analisis absorbansi penangkapan radikal bebas pada tabel 4 dihitung persen inhibisinya yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini diagram dari %inhibisi:

Tabel 4. Persen (%) Inhibisi dari Absorbansi Air seduhan

waktu/suhu	70°C	80°C	90°C	100°C	
5 menit	1	0.16	0.31	0.374	0.462
	2	0.263	0.311	0.426	0.468
	3	0.325	0.376	0.482	0.634
rata-rata absorbansi	0.249	0.323	0.427	0.521	
% inhibisi	77.46	70.76	61.13	52.85	
10 menit	1	0.247	0.355	0.434	0.543
	2	0.295	0.413	0.498	0.73
	3	0.343	0.445	0.605	0.986
rata-rata absorbansi	0.295	0.404	0.512	0.753	
% inhibisi	73.3	63.43	53.66	31.85	
15 menit	1	0.264	0.384	0.464	0.656
	2	0.31	0.458	0.543	0.996
	3	0.355	0.492	0.643	1.039
rata-rata absorbansi	0.309	0.445	0.550	0.897	
% inhibisi	72.03	59.72	50.22	18.82	

Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa % inhibisi yang terbesar pada suhu 70°C dengan lama penyeduhan selama 5 menit yaitu 77,46%

dan yang terkecil pada suhu 100°C dengan lama penyeduhan selama 15 menit yaitu 18,82%. Adapun perhitungan lengkap di lampiran 3. Secara umum semakin tinggi suhu dan lama ekstraksi suatu zat, maka kadar suatu zat tersebut juga akan semakin tinggi. Namun dilihat dari absorbansi yang dihasilkan pada sampel dari setiap perlakuan suhu dan waktu menunjukkan penurunan. Hal ini disebabkan karena senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terkestrak pada waktu 5 menit paling optimum. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Dwiyanti (2014) yang berpendapat bahwa waktu terendah merupakan waktu yang paling optimal dalam penyeduhan. Sedangkan peningkatan suhu perlakuan dapat menyebabkan kerusakan dan perubahan antioksidan terjadi secara cepat melalui tahapan: 1) hidrolisis terjadi pada ikatan glikosidik dan menghasilkan aglikon yang labil; 2) terbukanya cincin aglikon sehingga terbentuk gugus karbinol dan kalkon yang tidak berwarna sehingga terbentuk alfa-diketon yang berwarna coklat (Markakis, 1982). Terbentuknya alfa-diketon menyebabkan berkurangnya jumlah gugus hidroksil yang berperan sebagai pendonor hidrogen kepada radikal bebas sehingga menurunkan nilai aktivitas antioksidan. Serta senyawa metabolit sekunder flavonoid tidak tahan terhadap suhu tinggi (Robinson, 1995).

Tabel 4 dilakukan uji persyaratan analisis (uji asumsi). Uji persyaratan analisis diperlukan guna mengetahui hipotesis dari data yang didapatkan melalui penelitian dapat dilanjutkan menggunakan statistik parametrik atau statistik non parametrik. Uji persyaratan analisis meliputi uji normalitas, uji homogenitas, uji linieritas, uji heterokedasitas, dan uji multikolinearitas. Dilanjutkan dengan statistik non parametrik (Kruskal Wallis) (Daniel, 1991). Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk dengan taraf signifikansi 5% dilakukan untuk mengetahui sebaran data absorbansi berdistribusi normal atau tidak. Selain itu uji normalitas dilakukan sebagai syarat dalam menentukan uji parametrik atau non-parametrik. Tabel 5 dibawah ini merupakan hasil uji homogenitas waktu dan Tabel 6 di bawah ini menunjukkan uji homogenitas suhu.

Tabel 5. Uji Homogenitas Variasi Waktu

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi Based on Mean	1.798	2	33	.181
Based on Median	1.078	2	33	.352
Based on Median and with adjusted df	1.078	2	25.476	.355
Based on trimmed mean	1.607	2	33	.216

Tabel 6. Uji Homogenitas Variasi Waktu

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi Based on Mean	10.011	3	32	.000
Based on Median	5.870	3	32	.003
Based on Median and with adjusted df	5.870	3	12.754	.010
Based on trimmed mean	9.857	3	32	.000

Berdasarkan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, terdapat data yang signifikansinya lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), dengan demikian data dianggap normal, selanjutnya akan diuji homogenitas untuk mengetahui data tersebar secara homogen atau tidak. Tabel 7 di bawah menunjukkan uji homogenitas waktu dan suhu

Tabel 7. Test of Homogeneity of Variance Waktu

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi Based on Mean	1.798	2	33	.181
Based on Median	1.078	2	33	.352
Based on Median and with adjusted df	1.078	2	25.476	.355
Based on trimmed mean	1.607	2	33	.216

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi Based on Mean	10.011	3	32	.000
Based on Median	5.870	3	32	.003
Based on Median and with adjusted df	5.870	3	12.754	.010
Based on trimmed mean	9.857	3	32	.000

Uji homogenitas variabel waktu menunjukkan nilai signifikansi 0,181 ($p > 0,05$), maka data distribusi sama atau homogen, sementara variabel suhu menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) atau data tidak homogen. Dengan demikian distribusi data ini adalah tidak sama atau tidak homogen, maka perlu dilakukan uji lanjut non-parametrik dalam hal ini adalah uji Kruskal-Wallis Test untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu penyeduhan daun

jambu air Semarang. Pada tabel 8 menunjukkan uji Kruskal-Wallis Test terhadap waktu dan tabel 9 menunjukkan uji Kruskal-Wallis Test terhadap suhu. Berikut tabel 8 :

Tabel 8. Uji Kruskal-Wallis Test terhadap Suhu

	Absorbansi
Chi-Square	3.552
Df	2
Asymp. Sig.	.169

- Kruskal Wallis Test
- Grouping Variable: Waktu

Dari tabel 8 menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi adalah 0,169 ($0,05 < p$), artinya adalah H_0 diterima. Dengan demikian tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan daun jambu air Semarang terhadap waktu.

Tabel 9. Uji Kruskal-Wallis Test terhadap Suhu

	Absorbansi
Chi-Square	26.846
Df	3
Asymp. Sig.	.000

- Kruskal Wallis Test
- Grouping Variable: Suhu

Dari tabel 9 menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi adalah 0,000 ($0,05 > p$), artinya adalah H_a diterima. Dengan demikian terdapat perbedaan aktivitas antioksidan daun jambu air Semarang terhadap suhu.

Berdasarkan hasil penelitian diatas dengan analisa Kruskal-Wallis Test menyimpulkan bahwa pada waktu tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan daun jambu air Semarang, sedangkan pada suhu terdapat perbedaan aktivitas antioksidan daun jambu air Semarang. Dikatakan tidak ada perbedaan ataupun ada perbedaan di lihat dari dignifikasi hasil yang didapatkan.

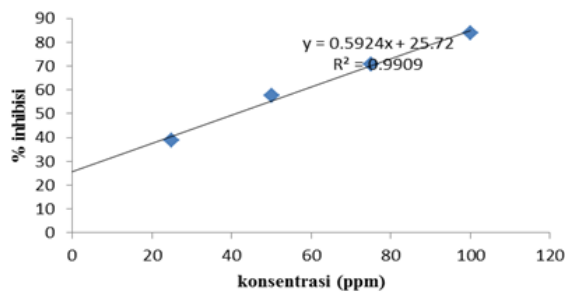
Selanjutnya menentukan IC_{50} dalam uji aktivitas antioksidan digunakan 4 variasi konsentrasi sampel yaitu 25, 50, 75, dan 100 ppm. Konsentrasi tersebut dipilih karena merupakan deret konsentrasi paraquat (Yuningsih, 2013). Metode paraquat bertujuan mengikat elektron bebas dari hasil fotosistem I. Hasil analisis uji aktivitas antioksidan ekstrak air daun jambu air Semarang ditunjukkan pada Tabel

10. Hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar sampel dibandingkan dengan aktivitas antioksidan Vitamin C. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang umum digunakan.

Tabel 10. Hasil Analisis Absorben Ekstrak Air Daun Jambu Air

Konsentras i (ppm)	Absorbans i 1	Absorbans i 2	%Inhibis i 1	%Inhibis i 2	rata-rata %inhibis i
0	0,224	0,203			
25	0,176	0,089	21,428	56,157	38,793
50	0,128	0,056	42,857	72,413	57,635
75	0,099	0,029	55,803	85,714	70,758
100	0,055	0,016	75,446	92,118	83,782

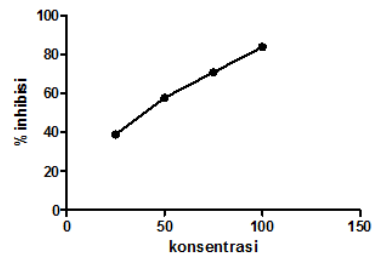
Berdasarkan data pada tabel 10 di atas. Dilakukan analisis regresi linier hubungan antara konsentrasi ekstrak air dengan persen peredaman absorban DPPH diperoleh persamaan regresi $y = 0,5924x + 25,72$. Berdasarkan hasil yang diperoleh (Gambar 6) dari persamaan regresi linier kemudian dapat menentukan harga EC_{50} . Dari hasil perhitungan diperoleh harga IC_{50} sebesar 41,01 ppm.



Gambar 6. Grafik regresi linear % Peredaman Ekstrak Daun Jambu Air Semarang. Sumber: Microsift Excel

Selain menggunakan regresi linear juga menggunakan regresi non linear karena dalam beberapa penelitiannya lainnya menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi antioksidan dengan penangkapan radikal bebas DPPH itu non linear ((Villaño, Fernández-Pachón, Troncoso & García-Parrilla, 2005; Locatelli, Gindro, Travaglia, Coisson, Rinaldi & Arlorio, 2009) uji regresi non linear dilakukan dengan aplikasi Graphpad Prims 5. Hasil analisisnya menunjukkan nilai IC_{50} sebesar

181,2 ppm dengan nilai R sebesar 0,999 terdapat pada gambar 7.



Gambar 6. Grafik Resensi Non Linier Ekstrak Air Daun Jambu Air

Nilai IC_{50} pada sampel ekstrak daun jambu air Semarang menandakan bahwa senyawa metabolit sekunder (flavonoid) yang terkandung termasuk banyak. Air merupakan pelarut polar yang berarti senyawa metabolit sekunder lebih cenderung untuk larut dalam pelarut polar seperti senyawa flavonoid, fenolik. Berdasarkan pembahasan di atas didapatkan persen (%) inhibisi paling tinggi pada suhu penyeduhan $70^{\circ}C$ dengan waktu penyeduhan 5 menit yaitu 77,46%, serta memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) yaitu 41,01 ppm. Dengan demikian ekstrak daun jambu air ini memiliki potensi yang bagus terhadap penangkal radikal bebas.

3. Uji Fitokimia

Uji fitokimia ini mengambil hasil dari penelitian yang telah dilakukan Fajar (2016) karena menggunakan sampel yang sama serta waktu penelitian yang bersamaan, berikut hasil dari uji fitokimianya:

Tabel 11. Hasil Uji Fitokimia

NO	Senyawa Kimia	Uji Sampel	Fitokimia	Keterangan (Positif jika)
1	Alkaloid	Larutan berwarna hitam, tidak ada endapan menandakan bahwa sampel (-) negatif		Terdapat endapan jingga
2	Steroid	Larutan berwarna jingga menandakan bahwa sampel (+) positif		Larutan berwarna biru, merah, hijau dan jingga
3	Flavonoid	Larutan berwarna kuning menandakan bahwa sampel (+) positif		Larutan berwarna hijau kehitaman
4	Tannin	Larutan berwarna hijau kehitaman menandakan bahwa sampel (+) positif		Larutan berwarna hijau kehitaman
5	Saponin	Ada busa selama 15 menit menandakan bahwa sampel (+) positif		Terdapat busa stabil selama 15 menit
6	Polifenol	Coklat terdapat endapan coklat menandakan bahwa sampel (+) positif		Terdapat endapan coklat
7	Terpenoid	Larutan berwarna coklat kemerahan menandakan bahwa sampel (+) positif		Terbentuk berwarna coklat kemerahan

Keterbatasan Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan memiliki keterbatasan objek penelitian yaitu penelitian ini hanya terbatas pada aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar daun jambu air serta optimasi waktu dan suhu penyeduhan yang hanya menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH. Perlu dilakukan uji analit kadar total fenolat.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Kesimpulan hasil penelitian mengenai aktivitas antioksidan daun jambu air serta suhu dan lama penyeduhan adalah sebagai berikut :

- Suhu dan lama penyeduhan yang optimum daun jambu air adalah pada 70°C selama 5 menit dengan persen (%) inhibisi 77,46 %.
- Aktivitas antioksidan ekstrak air daun jambu air menunjukkan nilai IC₅₀ 41,01 ppm,

Saran

- Daun jambu air bisa diteliti lebih lanjut dengan waktu penyeduhan 1, 2, 3,4, 5 menit.
- Daun jambu air bisa diteliti lebih lanjut dengan suhu penyeduhan 50, 60, 70, 80°C.
- Perlu digunakan larutan pembanding (asam askorbat murni, quercetin) melalui penelitian yang dilakukan secara langsung dengan grade pro analisis.
- Perlu digunakan metode penentuan aktivitas antioksidan selain DPPH misalnya FRAP, ABTS sebagai pendukung.
- Perlu dilakukan penentuan kadar total fenolat pada setiap sampel variasi suhu dan lama penyeduhan.

Perlu dilakukan analisis menggunakan GC-MS atau HPLC terhadap komponen senyawa setiap ekstrak air daun jambu air di setiap variasi suhu dan lama penyeduhan.

Daftar Pustaka

Adesegun S. Adeola dkk. 2013. Essential Oil of *Syzygium samarangense*; A Potent Antimicrobial and Inhibitor of Partially Purified and Characterized Extracellular Protease of *Escherichia coli* 25922. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 4(6): 215-221

Astill C, Birch MR, Dacombe C, Philip G. Humphrey, and Martin PT. 2001. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black

- and green tea infusions. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 49: 5340-5347.
- Ayyida Khotma. *Skripsi Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Pada Daun Salam (Syzygium polyanthum (Wight) Walp) Daun Jambu Air (Syzygium samarangense)*. (Semarang: Kimia FITK IAIN Walisongo. 2014) Irene Eliz. 2000. *Makna Pengukuran Status Antioksidan Tubuh*. Bagian Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran UI.
- Daniel, W .1991. *Statistik Nonparametrik Terapan*.: Gramedia. Jakarta
- Dewi Murni. 2012. *Isolasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan Artemia salina Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Asa Tungga*. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia
- Dwiyanti Gebi & Hati Nurani K. *Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibiscus Sabdariffa) Selama Penyimpanan Pada Suhu Ruang*, *Prosiding* (Vol. 5 No 1, 2014, ISSN: 2087-0922).
- Gramza dkk. *Tea Extracts as Free Radical Scavengers*. *Polish Journal of Environmental Studies* (Vol. 14, No 6, 2005)
- Evangeline C. Amor dkk. 2005. *Spasmolytic Flavonoids from Syzygium samarangense (Blume) Merr. & L.M. Perry*, *Z. Naturforsch.* 60 c, 67-71
- Guenther E. 1988. *Minyak Atsiri*. Jakarta: Direktorat Perguruan Tinggi
- Harbone J.B. 2006. *Metode Fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, Bandung : Penerbit ITB
- Hernani Mulyono E. 1997. *Pengolahan dan Penganekaragaman Hasil*. *Monograf No 3 Jahe*. Bogor: Balitro
- Laresolo B. 2008. *Bagaimana cara menyeduh teh yang benar*. Dari [Http://www.kedaitehlaresolo.com](http://www.kedaitehlaresolo.com)
- Maria Bintang, 2010. *BIOKIMIA: Teknik Penelitian*. Jakarta : Erlangga
- Markaki P. 1982. *Introduction in Anthocianin in Fruits, Vegetables, and Grain*. New York: CRC Press.
- Molyneux Philip. 2004. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* (Vol. 26 No. 2) Ragasa, 2014, *Chemical constituents of Syzygium samarangense*, *Der Pharma Chemica*, 2014, 6(3):256-260
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Padmawinata, K, Bandung: Penerbit ITB
- Rohdiana, D. 2006. *Menyeduh teh dengan 'bbm'*. Lab pengolahan bahan pangan, jur tekpang ft unpas. www.aneaplanta.com/2007/12/26/menyeduh-teh-dengan-bbm
- Samuelsson, G. 1999. *Drugs of Origin Natural: A Text Book of Pharmacognosy*. Sweden: Swedish Pharmaceutical Press
- Sayuti, kesuma & Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Padang: Andalas University Press.
- Wijaya, A. 1996. *Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan*. Forum Diagnosticum. Lab Klinik Prodia 1:1-12
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Winarti. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta
- Achmad, Rukaesih. 2004. *Kimia Lingkungan*. Yogyakarta: Andi
- Alexander Barus, Ternala. 2002. *Pengantar Limnologi*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Ashdak, Chay. 2004. *Hidrologi dan Pengelolaan Daerah Aliran Sungai*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Effendi, Hefni. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Yogyakarta: Kanisius

U. Albab, R.R. Nirwana, R.A. Firmansyah

- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Polusi Air dan Udara*, Yogyakarta: Kanisius
- Nurdalia, Ida. 2006. Kajian Dan Analisis Peluang Penerapan Produksi Bersih Pada Usaha Kecil Batik Cap: Studi Kasus Pada Tiga Usaha Industri Kecil Batik Cap di Pekalongan. *Tesis*. Semarang: Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Riyadi, A. L. Slamet. 1981. *Ekologi Ilmu Lingkungan (Dasar-Dasar dan Pengertiannya)*. Surabaya: Usaha Nasional.
- Silfa Millah, Lin. 2011. Pengaruh Limbah Industri Batik terhadap Komunitas Makrozoobentos sungai Simbangkulon di Kecamatan Buaran Kabupaten Pekalongan. *Skripsi*. Semarang: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IKIP PGRI.
- Subagio, Puji Yosep. 2008. *Tekstil Tradisional (Pengenalan Bahan dan Teknik)*. Jakarta: Studio Primastoria.
- Supriyanto C., *et.al.* 2007. Analisis Cemaran Logam Berat Pb, Cu, dan Cd pada Ikan Air Tawar dengan Metode Spektroskopi Nyala Serapan Atom (SSA). *Prosiding, Seminar Nasional III SDM Teknologi Nuklir, 21-22 November 2007*. Yogyakarta: Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan.
- Suriawiria, Unus. 1996. *Air Dalam Kehidupan dan Lingkungan Yang Sehat*. Bandung: Penerbit Alumni.