

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.)

Oleh :
Susni Indriani*

ABSTRACT**ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THE EXTRACTS OF *Psidium guajava* L. LEAF**

Antioxidant has an important role in healing some kind of diseases caused by excessive oxidation reactions in human body. That leaf has benefit to resist diarrhea, anti inflammation, and anti mutagenic. It is assumed it could be used as antioxidant. The research was aimed to know the antioxidant activity of the extract of *Psidium guajava* leaf. The local leaf was from Bantar Kambing area in Bogor. The methods were thiocyanate method and thiobarbituric acid (TBA) method. The result showed that the leaf which had the best antioxidant potential was the white local *Psidium guajava* leaf extracted by ethanol 70% in a maceration manner. In the thiocyanate method, the extract of white *Psidium guajava* leaf had protective factor near to Vitamin E or tocopherol, that is 1,10 and tocopherol was 1,16. Antioxidative evaluation using the TBA method showed that the highest activity was from ethanol extract of white *Psidium guajava* leaf could obstruct it up to 94,19 % toward the control, however the active constituents are unknown. Phytochemical evaluation result showed that the *Psidium guajava* leaf are contained tannin, phenol, flavonoid, quinon, and steroid.

Keywords: antioxidant, *Psidium guajava*

ABSTRAK

Daun jambu biji berkhasiat untuk antidiare, anti inflamasi, dan anti mutagenik. Berdasarkan khasiat tersebut diperkirakan daun jambu biji mempunyai potensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji. Sampel diperoleh dari daerah Bantar Kambing, Bogor. Aktivitas diuji dengan metode tiosianat dan metode asam tiobarbiturik (TBA). Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun Jambu Biji yang mempunyai potensi antioksidan terbaik adalah daun jambu biji putih lokal yang diekstraksi dengan etanol 70 % secara maserasi. pada pengujian menggunakan metode tiosianat, ekstrak daun jambu biji putih lokal mempunyai faktor protektif yang mendekati vitamin E atau tokoferol, yaitu sebesar 1,10 sedangkan faktor protektif tokoferol sebesar 1,16 Pengujian antioksidan menggunakan metode TBA menunjukkan ekstrak etanol dari daun jambu biji putih lokal dapat menghambat oksidasi lipida sampai 94,19 % terhadap kontrol yang tidak diberi antioksidan, tetapi komponen aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan belum diketahui. Hasil pengujian fitokimia ekstrak daun jambu biji menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak adalah tanin, fenol, flavonoid, kuinon, dan steroid.

Kata kunci : antioksidan, jambu biji

PENDAHULUAN

Selama ini penelitian yang dilakukan pada daun jambu biji umumnya berkaitan dengan khasiatnya sebagai antidiare. Daun jambu biji juga mempunyai khasiat sebagai anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik (Matsuo, *et al.*, 1993, Mulyono, *et al.*, 1994, Santos dan Silveira, 1997).

Beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam daun jambu biji adalah senyawa polifenol, karoten, flavonoid dan tanin (Matsuo, *et al.*, 1993, Mulyono, *et al.*, 1994, Santos dan Silveira, 1997), sehingga diperkirakan daun jambu biji juga mempunyai aktivitas antioksidan yang juga berkaitan erat dengan khasiatnya dalam mengobati berbagai penyakit.

Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji sekaligus membandingkan potensi antioksidan dari beberapa jenis daun jambu biji lokal sehingga diperoleh jenis daun jambu biji lokal yang mempunyai potensi antioksidan terbaik.

*) Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB

BAHAN DAN METODE

Bahan

Tanaman jambu biji terdiri dari beberapa jenis, di antaranya jambu biji lokal dan jambu biji Bangkok, selain itu ada yang mempunyai daging buah berwarna putih dan ada yang berwarna merah. Dalam penelitian ini daun jambu biji yang digunakan berasal dari jenis jambu biji lokal yang berdaging buah putih dan merah. Pemilihan jenis jambu biji lokal didasarkan pada kebiasaan masyarakat yang lebih banyak menggunakan jambu biji lokal untuk obat tradisional. Daun diperoleh dari pohon jambu biji yang ada di pekarangan rumah dalam keadaan basah. Daun yang terkumpul kemudian dibersihkan dan dikeringkan dengan pengeringan konvensional yaitu dengan dijemur di bawah sinar matahari selama 2 hari sehingga diperoleh simplisia daun jambu biji yang siap diekstraksi.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70 % dan air dengan nisbah 1 : 10 (b/v) pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil maserasi disaring dan dipisahkan dengan rotari evaporator vakum pada suhu 70 °C sampai pelarut habis menguap. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh tersebut menjadi stok ekstrak.

Uji aktivitas antioksidan secara kimia dengan metode tiosianat (Chen *et al.*, 1996)

Ekstrak daun jambu biji diuji aktivitas antioksidannya dalam emulsi. Sebanyak 200 ppm sampel ekstrak antioksidan dilarutkan dalam emulsi 2 ml asam linoleat 50 mM dalam etanol 99,8 %, 2 ml bufer fosfat 0,1 M pH 7,0 dan 1 ml air bebas ion. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C. Tiap 2 hari contoh diambil 50 µl untuk diuji dengan penambahan 2,35 ml etanol 75 %, 50 µl amonium tiosianat 30 %, 50 µl FeCl₂·4 H₂O 20 mM dalam HCl 3,5 %. Setelah 3 menit diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Nilai absorbansinya dinyatakan sebagai bilangan peroksida.

Uji aktivitas antioksidan secara kimia dengan metode TBA (Kikuzaki *et al.*, 1993)

Ekstrak daun jambu biji diuji aktivitas antioksidannya dalam emulsi. Sebanyak 200 ppm sampel ekstrak antioksidan dilarutkan dalam emulsi 2 ml asam linoleat 50 mM dalam etanol 99,8 %, 2 ml bufer fosfat 0,1 M pH 7,0 dan 1 ml air bebas ion. Campuran diinkubasi pada suhu 40 °C selama 6 hari

atau sampai terjadi tingkat oksidasi asam linoleat maksimum. Setelah tingkat oksidasi asam linoleat maksimum, dari setiap campuran reaksi diambil 1 ml kemudian ditambahkan 2 ml larutan asam trikloroasetat (TCA) 20 %, 2 ml larutan asam tiobarbiturik (TBA) 1 % dalam pelarut asam asetat 50 %. Lalu campuran reaksi disimpan pada penangas air yang bersuhu 100 °C selama 10 menit. Setelah dingin dilakukan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit, setelah itu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer tampak pada panjang gelombang 532 nm.

Sebagai standar, larutan stok pereaksi 1,1,3,3-tetrametoksi propano (TMP) konsentrasi 6 M dibuat menjadi 0,3, 0,6, 0,9, 1,5, 3,0, 4,5 mM. Setiap tingkat konsentrasi dipipet sebanyak 4 ml ke dalam tabung reaksi tertutup (untuk blanko digunakan 4 ml akuades) dan ditambahkan 1 ml TBA 1 % dalam pelarut asam asetat 50 %. Kemudian campuran reaksi tersebut disimpan pada penangas air yang bersuhu 95 °C selama 60 menit dan didinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin ke dalam tabung ditambahkan 1 ml akuades dan 5 ml n-butanol piridin (15:1 b/v) selanjutnya tabung divorteks dan disentrifus pada 3000 rpm selama 15 menit. Lapisan atas diambil dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

Analisis Fisika, Kimia, dan Mikrobiologi Ekstrak Terpilih

Analisis ekstrak meliputi uji fitokimia, uji total fenol, uji kadar air, kadar senyawa larut dalam air, kadar senyawa yang larut dalam etanol, kadar abu, kadar abu larut asam, kadar logam Pb, Cu, As dan uji mikrobiologi koliform, kapang/khamir, dan total bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fitokimia dan rendemen ekstrak daun jambu biji

Uji fitokimia kedua jenis daun tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa dalam kedua jenis daun sama secara kualitatif, yaitu mengandung golongan senyawa tanin dan steroid yang banyak sedikit flavonoid, saponin dan fenol hidrokuinon, tetapi tidak menunjukkan adanya alkaloid dan triterpenoid (Tabel 1). Akan tetapi menurut Matsuo *et al.* (1993), daun jambu biji juga mengandung senyawa-senyawa golongan triterpenoid, perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan cara analisis serta perbedaan asal

tanaman. Analisis kuantitatif akan menghasilkan nilai yang lebih cermat daripada analisis kualitatif yang hanya mengandalkan visualisasi sehingga tidak terlihat dengan jelas adanya senyawa triterpenoid pada saat analisis fitokimia dilakukan. Hal lain yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa dalam tanaman adalah tempat tumbuh tanaman yang dipengaruhi oleh jenis tanah, curah hujan, iklim, intensitas sinar matahari, ketinggian dan lingkungan di sekitar tempat tumbuhnya, selain itu juga dipengaruhi oleh umur tanaman, sehingga kandungan senyawa dan komposisinya dapat berbeda-beda. Oleh karena itulah diperlukan standarisasi dalam budi daya, pascapanen dan pengolahan atau ekstraksi lebih lanjut dari tanaman obat agar menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa bioaktif yang terstandar.

Tabel 1. Fitokimia daun jambu biji merah dan daun jambu biji putih

Analisis	Daun Jambu Biji Merah	Daun Jambu Biji Putih
Alkaloid		
Steroid	++	++
Triterpenoid	-	-
Fenol Hidrokuinon	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+++	+++

Simplisia daun jambu biji diekstraksi dengan cara maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut air dan etanol 70 % selama 24 jam. Alasan pemilihan jenis pelarut air dan etanol 70 % karena pelarut air adalah pelarut yang biasa digunakan oleh masyarakat dalam memanfaatkan tanaman berkhasiat obat. Pelarut air dan etanol 70 % adalah pelarut yang diperbolehkan digunakan untuk industri pangan dan farmasi agar produk yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi. Rendemen ekstrak dari keempat jenis ekstrak mempunyai nilai yang cukup tinggi, dimana rendemen dari ekstrak air lebih tinggi daripada rendemen ekstrak etanol. Hal ini dapat disebabkan oleh senyawa-senyawa dari daun jambu biji yang larut dalam air lebih banyak daripada yang dapat larut dalam etanol, sedangkan perbedaan jenis daun jambu biji tidak mempengaruhi rendemen ekstrak.

Tabel 2. Pengukuran rendemen ekstrak daun jambu biji

Jenis Ekstrak	Rendemen (%)
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah	9,70
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	9,82
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Merah	10,89
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Putih	10,75

Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dalam periode induksi dan faktor protektif. Periode induksi adalah waktu yang diperlukan untuk mencapai nilai ketetapan tertentu. Chen *et al.* (1995) menetapkan periode induksi dinyatakan dalam waktu yang dibutuhkan untuk mencapai nilai absorbansi 0.300 pada panjang gelombang 500 nm. Faktor protektif dalam penelitian ini dinyatakan sebagai perbandingan antara periode induksi sampel (hari) dengan periode induksi kontrol atau tanpa penambahan antioksidan (hari).

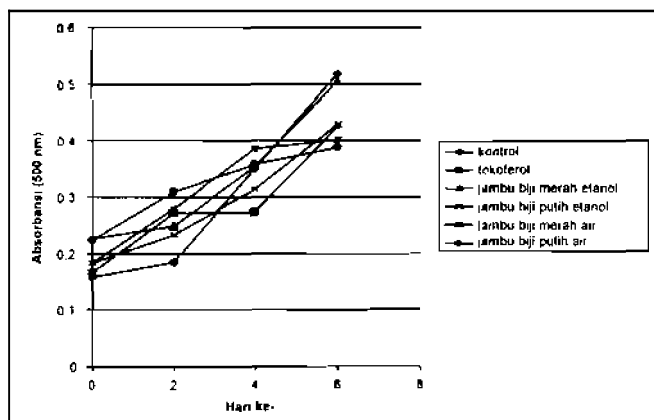
Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji menggunakan metode tiosianat, ekstrak etanol dari daun jambu biji putih lokal mempunyai aktivitas yang mendekati aktivitas antioksidan tokoferol walaupun masih sedikit di bawah kemampuan aktivitas antioksidan tokoferol. Ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal mempunyai faktor protektif sebesar 1,10 sedangkan tokoferol mempunyai faktor protektif sebesar 1/16. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal dan tokoferol tidak terlalu berbeda dibandingkan dengan kontrol. Ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun jambu biji merah lokal serta ekstrak air dari daun jambu biji putih lokal mempunyai faktor protektif < 1, dengan demikian dapat diasumsikan ketiga ekstrak tersebut tidak mempunyai aktivitas menghambat reaksi oksidasi lipida pada pengujian menggunakan metode tiosianat (Gambar 1 dan Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji dengan metode tiosianat

Jenis Ekstrak	Periode Induksi (hari)	Faktor Protektif
Kontrol	2,96	1,00
Tokoferol	3,42	1,16
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah	2,29	0,77
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	3,26	1,10
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Merah	2,67	0,90
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Putih	2,26	0,76

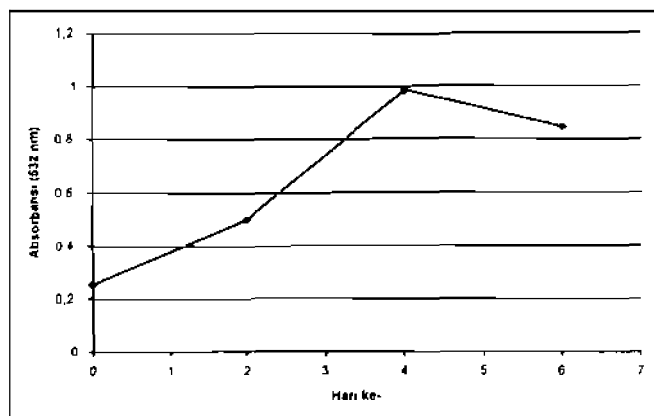
Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode TBA didasarkan pada pengukuran kadar malonaldehid (MDA) yang merupakan produk akhir dari reaksi lipid peroksida. MDA merupakan senyawa diaidehid berkarbon tiga yang reaktif. MDA yang dihasilkan dapat diukur dengan uji TBA karena MDA dapat bereaksi dengan TBA membentuk produk yang berfluoresensi dan dapat diukur pada panjang

gelombang 532 nm. Sebagai standar digunakan TMP sehingga dapat diukur kadar MDA yang terbentuk. **TMP merupakan senyawa turunan MDA yang cukup stabil. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode TBA ini dilakukan setelah terjadi tingkat oksidasi asam linoleat maksimum** karena pada saat itu juga terbentuk MDA maksimum yang dihasilkan dari reaksi oksidasi lipida.



Gambar 1. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji dengan metode tiosianat

Tingkat oksidasi lipida maksimum dapat diketahui dengan menginkubasi asam linoleat selama beberapa hari, kemudian diukur absorbansinya setiap 2 hari menggunakan metode tiosianat. Dari hasil pengukuran diperoleh tingkat oksidasi asam linoleat maksimum terjadi pada hari ke 4 (Gambar 2). Pengujian antioksidan menggunakan metode TBA dilakukan setelah 1 atau 2 hari setelah oksidasi asam linoleat maksimum, sehingga pengujian dilakukan pada hari ke 6 setelah inkubasi sampel.



Gambar 2. Tingkat oksidasi asam linoleat menggunakan metode tiosianat

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji menggunakan metode TBA, ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal mampu menghambat reaksi oksidasi lipida sampai 94,19 %, lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan tokoferol yang hanya mampu menghambat reaksi oksidasi lipida sampai 92,11 %, sedangkan ketiga ekstrak lainnya yaitu ekstrak air daun jambu biji putih lokal, ekstrak etanol daun jambu biji merah lokal dan ekstrak air daun jambu biji merah lokal mempunyai persentase penghambatan reaksi oksidasi lipida lebih rendah dari tokoferol, yaitu masing-masing sebesar 67,54 %, 91,83 % dan yang terendah 8,86 %. Ekstrak etanol daun jambu biji merah lokal juga mempunyai kemampuan penghambatan reaksi oksidasi lipida yang mendekati kemampuan tokoferol.

Dari hasil pengukuran standar 1,1,3,3-tetrametoksi propana (TMP) diperoleh regresi linear $y = 0,0273X - 0,0062$, sehingga dapat dihitung melalui persamaan regresi tersebut kadar MDA dari hasil pengujian TBA untuk masing-masing ekstrak seperti tertera pada Tabel 5.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji pada konsentrasi 200 ppm dengan metode TBA pada hari ke-6

Jenis Ekstrak	Absorbansi
Kontrol	1,3287
Tokoferol	0,0991
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah	0,1029
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	0,0713
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Merah	1,2104
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Putih	0,4271

Tabel 5. Pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap pembentukan malonaldehid

Jenis Ekstrak	Kadar MDA (mM/ml campuran pereaksi)	% Inhibisi
Kontrol	48,8974	0
Tokoferol	3,8571	92.11
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah	3.9963	91.83
Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih	2.8388	94.19
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Merah	44,5641	8,86
Ekstrak Air Daun Jambu Biji Putih	15.8718	67.54

Pada uji fitokimia ekstrak, semua ekstrak daun jambu biji ini mengandung senyawa tanin yang

banyak tetapi ternyata mempunyai aktivitas antioksidan yang berbeda, sehingga dapat diduga bahwa kandungan senyawa tanin tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jambu putih lokal ini mungkin diperoleh dari senyawa aktif fenol, flavonoid, steroid dan kuinon. Menurut Pekkarinen et al. (1999), telah banyak senyawa turunan fenol yang aktif sebagai senyawa antioksidan. Selain itu, flavonoid juga merupakan salah satu contoh antioksidan alami (Hudson, 1990). Flavonoid merupakan zat yang umumnya terdapat dalam tumbuhan dan mempunyai beragam khasiat, antara lain sebagai antioksidan (Achmad, 1990).

Ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal juga dianalisis fisika, kimia dan mikrobiologi untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak tersebut, juga menilai apakah ekstrak tersebut cukup baik digunakan sebagai sampel uji. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal mengandung senyawa tanin dan steroid yang tinggi serta sedikit senyawa fenol hidrokuinon, flavonoid dan saponin. Ekstrak tersebut juga tidak mengandung mikroba dan logam berat (Pb, Cu, As) yang membahayakan kesehatan karena dari hasil pengamatan menunjukkan hasil negatif. Dengan demikian ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal tersebut dapat diaplikasikan sebagai salah satu alternatif antioksidan alami, baik dalam produk pangan maupun obat herbal.

KESIMPULAN

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji baik menggunakan metode tiosianat maupun metode TBA menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal mempunyai daya antioksidan lebih baik. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode tiosianat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji putih lokal mempunyai faktor protektif yang mendekati vitamin E atau tokoferol yaitu sebesar 1,10 sedangkan faktor protektif tokoferol sebesar 1,16. Pada pengujian menggunakan metode TBA, ekstrak etanol dari daun jambu biji putih lokal dapat menghambat oksidasi lipida sampai 94,19 % terhadap kontrol yang tidak diberi antioksidan. Pengujian fitokimia ekstrak menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji tersebut adalah senyawa tannin, fenol, flavonoid, kuinon dan steroid. Perlu diteliti lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan dari daun jambu biji.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1990. Flavonoid, kegunaan dan prospek. *Phytomedica* 12 : 24-25.
- Chan, H. W.S., Levett, G. Autooxidant of methyl linoleat. Separation and analysis of isomeric mixtures of methyl linoleat hydroperoxides and methyl hydroxylinolesates. *Lipids* 1977, 12, 99-104.
- Hudson, B.J.F. 1990. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London.
- Kikuzaki H & N Nakatani. 1993. Antioxidant Effect of Some Ginger Constituents. *Journal of Food Science* 58: 1407-1410.
- Matsuo, T., Hanamura, N., Shimol, K., Nakamura, Y., and Tomita, I. 1993. Identification of (+) galocatechin as a bio antimutagenic compound in *Psidium guajava* leaves. *Phytochemistry* 36 : 1027-1029.
- Mulyono, M.W., Supriyatna, Wiraharja, T., dan Sumiwi, S.A. 1994. Studi Fitokimia Fraksi Antidiare Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L). Laporan Penelitian Lembaga Penelitian UNPAD, Bandung.
- Santos, F.A., Rao, V.S.N., and Silveira, E.R. 1997. Anti inflammatory and analgesic activities of the essential oil of *Psidium guajava*. *Chemical Abstract* 127 : 51.
- Sidik. 1997. Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII, ITB. Bandung.