

THE RELATIONSHIP BETWEEN FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN GUAVA LEAVES (*SYZYGIUM AQUEUM*) AND MORINGA LEAVES (*MORINGA OLEIFERA*) USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

HUBUNGAN KADAR FLAVONOID DENGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA DAUN JAMBU AIR (*SYZYGIUM AQUEUM*) DAN DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Radho Al Kausar^{1*}, Ari Subekti Eka Putra¹, Tutik¹

*Email : radho@malahayati.ac.id

ABSTRACT

*Flavonoids are a group of chemical compounds belonging to the class of polyphenols. These compounds are commonly found in various plants, such as guava leaves (*Syzygium aqueum*) and moringa leaves (*Moringa oleifera*). The aim of this study is to determine whether there is a relationship between flavonoid content and the IC₅₀ value (antioxidant activity) in guava leaves and moringa leaves. The method used in this research is UV-Vis spectrophotometry by employing maceration extraction with 96% ethanol as the solvent. The yield of guava leaf and moringa leaf extractions was 12,6% and 12,3%, respectively. The average flavonoid content obtained from the guava leaf extract was 6,408 while from the moringa leaf extract was 5,419. Flavonoids are known to influence antioxidant activity indicating that higher flavonoid content leads to greater antioxidant activity. The antioxidant activity test revealed that the IC₅₀ value in the guava leaf extract was 75,204, whereas in the moringa leaf extract was 86,584. This suggests that both extracts fall into the category of strong antioxidants. Data analysis using correlation tests showed a strong correlation between flavonoid content and antioxidant activity with a correlation value of (-1,000) this indicates that the higher the flavonoid content the higher the antioxidant level. There was a significant difference in antioxidant content between the two extracts, as evidenced by a sig value of $p < 0.05$.*

Keywords: *Guava leaves (*Syzygium aqueum*), Moringa leaves (*Moringa oleifera*), Antioxidant, Levels of flavonoid.*

ABSTRAK

Flavonoid adalah kelompok senyawa kimia yang termasuk dalam kelas polifenol. Senyawa ini banyak ditemukan di berbagai tumbuhan, seperti pada daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat hubungan antara kadar flavonoid yang dapat mempengaruhi nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) pada daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil rendemen dari ekstraksi daun jambu air dan daun kelor adalah sebesar 12,6% dan 12,3%. Hasil rata-rata kadar flavonoid yang diperoleh dari ekstrak daun jambu air adalah sebesar 6,408 dan dari ekstrak daun kelor adalah sebesar 5,419. Senyawa flavonoid diketahui dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan, sehingga semakin besar kandungan flavonoid yang diperoleh, maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ pada ekstrak daun jambu air adalah 75,204, sedangkan pada ekstrak daun kelor adalah 86,584. Hal ini menunjukkan bahwa keduanya termasuk ke dalam kategori antioksidan yang kuat. Analisis data menggunakan uji *Correlations* menunjukkan korelasi

yang kuat antara kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dengan nilai korelasi sebesar (-1,000) hal ini menandakan bahwa semakin tinggi kadar flavonoid maka semakin tinggi pula kadar antioksidannya. Terdapat perbedaan kadar antioksidan yang signifikan antara kedua ekstrak ditandai dengan nilai sig $p < 0,05$.

Kata kunci: Daun jambu air (*Syzygium aqueum*), Daun kelor (*Moringa oleifera*), Antioksidan, Kadar flavonoid

PENDAHULUAN

Populasi penduduk Indonesia telah mencapai 275,77 juta pada tahun 2022 menurut Badan Pusat Statistik (2022) yang mengarah pada peningkatan kebutuhan akan transportasi dan industri pada gilirannya menyebabkan peningkatan polusi udara setiap tahunnya. Polusi udara merupakan kontributor utama dalam peningkatan radikal bebas yang berpotensi merusak molekul lain dan dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi yang terjadi ketika produksi radikal bebas dalam tubuh melebihi kapasitas sistem antioksidan tubuh yang dapat menyebabkan penyakit kanker, jantung dan degenerasi sel otak (Werdhasar, 2014).

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron tidak stabil yang mencari molekul lain untuk menyatu sehingga menyebabkan kerusakan pada sel dan DNA. Salah satu cara untuk mencegah peningkatan radikal bebas yaitu dengan menggunakan bahan alami yang mengandung antioksidan. Antioksidan ialah reaksi yang timbul dari senyawa fenolik dan memiliki fungsi untuk menetralkan radikal bebas (Rahman *et al.*, 2016). Antioksidan memiliki struktur

molekul yang mampu memberikan elektronnya ke radikal bebas tanpa mengalami gangguan yang memungkinkan untuk menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari makanan, tumbuhan atau suplemen yang mengandung senyawa-senyawa seperti vitamin C, vitamin E, beta-karoten, serta senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang mampu membantu dalam menangkal radikal bebas (Murray *et al.*, 2009).

Senyawa flavonoid merupakan salah satu antioksidan yang dapat digunakan untuk menangkal stres oksidatif di dalam tubuh, karena memiliki sifat antioksidan yang kuat. Reaksi antara flavonoid dan radikal bebas dapat terjadi melalui dua mekanisme utama, yaitu *quenching* dan proton transfer. *Quenching* adalah mekanisme di mana flavonoid dapat mengikat radikal bebas dengan membentuk senyawa yang stabil hal ini menyebabkan radikal bebas direduksi dan tidak aktif. Dan pada proton transfer merupakan mekanisme di mana flavonoid dapat memberikan hidrogennya dari gugus hidroksil ke radikal bebas menyebabkan radikal bebas tidak aktif (Panche *et al.*, 2016).

Salah satu cara yang sering digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan DPPH. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan proses pengukuran daya peredaman sampel (ekstrak) terhadap seberapa besar atau kecil radikal bebas DPPH. DPPH akan menunjukkan adanya reaksi ikatan dari atom hidrogen dengan senyawa antioksidan dengan senyawa elektron dari radikal bebas (*diphenyl picrylhdrazil*) untuk menjadi senyawa non-radikal (*diphenyl picrylhydrazine*) perubahan warna ungu ke kuning menunjukkan tereduksinya senyawa radikal bebas oleh DPPH (Hasibuan, 2017).

Untuk menentukan kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Metode Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur absorban suatu sampel pada panjang gelombang tertentu. Metode ini didasarkan pada pengukuran energi cahaya oleh suatu zat kimia pada panjang gelombang maksimum tertentu. Sinar UV mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm dan sinar tampak (visible) dengan panjang gelombang di 400-750 nm. Metode ini mengacu pada penentuan suatu zat secara kuantitatif dengan hukum Lambert-Beer sebagai dasar. Dimana hukum ini menyatakan hubungan berbanding lurus antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmittan (Iskandar, 2017).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian adalah timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas beaker, erlenmyer, batang pengaduk atau spatula, kurvet, spektrofotometer UV-Vis, blander, labu ukur, gelas ukur, *rotary vacuum evaporator* dan oven, dan alat-alat gelas laboratorium. Adapun bahan yang digunakan adalah daun jambu air (*Syzygium aqueum*), daun kelor (*Moringa oleifera*) yang sebelumnya telah dideterminasi di Laboratorium Universitas Lampung, etanol 96%, DPPH (2,2-disphenyl-1-picrylhydrazyl), AlCl_3 10%, akuades, kuersetin, kalium asetat 1 M, dan kertas saring.

Preparasi Sampel

Daun jambu air (*Syzygium aqueum*), daun kelor (*Moringa oleifera*) kemudian dicuci menggunakan air yang mengalir sampai bersih dan dilakukan perajangan pada daun jambu air dan pada daun kelor dalam keadaan utuh lalu dilakukan pengeringan keringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian dihaluskan dengan cara diblender dan diayak selanjutnya diekstraksi.

Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Air Dan Daun Kelor

Metode ekstraksi yang digunakan

adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Langkah-langkah ekstraksi daun jambu air dan daun kelor dengan sebagai berikut: Persiapan sampel dilakukan dengan menimbang serbuk sebanyak 300 g daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan 300 g daun kelor (*Moringa oleifera*) dimasukkan ke dalam wadah maserator, kemudian dilakukan penambahan pelarut sebanyak 2 L pelarut etanol ke dalam wadah maserator yang berisi serbuk simplisia dan diaduk rata lalu wadah ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 24 jam. Serbuk daun jambu air dan daun kelor disaring dengan kertas saring memisahkan ekstrak

Prosedur Penelitian

Penentuan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan Larutan Induk (Kuersetin 100 ppm)

Pembuatan larutan induk dilakukan dengan menimbang kuersetin sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 50 mL. Sehingga diperoleh larutan kuersetin konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya larutan kuersetin 1000 diencerkan menjadi 100 ppm.

b. Pembuatan Larutan Seri Standar Kuersetin

Pembuatan larutan standar dibuat dengan cara mengambil larutan induk 100 ppm dengan menggunakan mikropipet sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL masing-masing dimasukkan ke dalam labu

dan padatan.

Padatan yang tersisa diremaserasi lagi dengan 1,5 L pelarut etanol setiap 1x24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali dengan total penggunaan pelarut etanol adalah 5 L. Maserat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menghilangkan pelarutnya sampai didapat ekstrak yang cukup pekat. Setelah penghilangan pelarut ekstrak yang diperoleh masih berupa cairan. Untuk mengubahnya menjadi ekstrak pasta, ekstrak di oven dengan suhu 40°C selama 120 menit atau hingga terbentuk ekstrak pasta (Ikhlas, 2013).

ukur 10 mL kemudian volumenya dicukupkan dengan etanol 96% sampai tanda tera, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm.

c. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dibuat menggunakan etanol 96% diambil sebanyak 1 mL, kemudian tambah AlCl_3 10% 0,5 mL dan kalium asetat 1 M 0,5 mL, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan volumenya dengan akuades sampai tanda tera.

d. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ Maks)

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan standar 6 ppm dipipet 1 mL masukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambah AlCl_3 10% 0,5 mL, kalium asetat 1 M

sebanyak 0,5 mL dan akuades sampai tanda tera lalu absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimumnya antara 350-500 nm.

e. Pembuatan Larutan Operating Time

Larutan kuersetin konsentrasi 6 ppm diambil 1 mL kemudian dicampur dengan 0,5 mL AlCl_3 10%, 0,5 mL larutan kalium asetat 1 M dan tambahkan akuades dalam labu ukur 10 mL sampai tanda tera. Penetapan operating time dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 2 menit selama 25-30 menit atau sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Wahyuni *et al.*, 2021).

f. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Setelah panjang gelombang maksimum diperoleh kemudian dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dengan cara larutan standar 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 0,5 mL AlCl_3 10%, 0,5 mL Kalium Asetat 1 M kemudian ditambah akuades sampai tanda tera. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 16 menit kemudian serapan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 444 nm.

g. Penetapan Kadar Flavonoid

Sampel masing-masing ekstrak kental (pasta) hasil maserasi ditimbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml kemudian ditambah etanol 96 % sampai tanda tera sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan

100 ppm diambil 1 mL kemudian dicampur dengan 0,5 mL AlCl_3 10%, 0,5 mL larutan Kalium Asetat 1 M masukkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian volumenya di cukupkan sampai tanda tera dengan akuades dan digoyangkan hingga homogen, larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 16 menit, serapan kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 444 nm.

Penetapan kadar flavonoid dilakukan untuk mengukur kadar flavonoid yang terkandung dalam masing-masing ekstrak dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Flavonoid} = \frac{C \times V \times fp}{m} \times 100$$

Keterangan:

C = Konsentrasi Fenolik (mg/L)

V = Volume ekstrak yang dipakai (L)

fp = Faktor pengenceran

m = Berat sampel yang di gunakan (mg)

Uji Antioksidan Dengan DPPH

Pembuatan Larutan

Pembuatan larutan DPPH 200 ppm dilakukan dengan menimbang 20 mg serbuk DPPH dan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah etanol sampai tanda tera sehingga diperoleh larutan homogen berwarna violet. Kemudian di encerkan menjadi 100 ppm lagi saat proses percampuran larutan dilakukan pada tempat yang tidak terkena cahaya.

a. Pembuatan Larutan Uji

Sampel masing-masing ekstrak kental daun jambu air dan daun kelor hasil maserasi di timbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml sampai tanda tera sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan standar 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL kemudian ditambah etanol 96% dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL hingga tanda tera sehingga diperoleh konsentrasi 50 ppm. Kemudian larutan ekstrak dibuat seri konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm.

b. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan Kuersetin konsentrasi 100 ppm. Kemudian dibuat larutan standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm dibuat dengan cara larutan induk kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4 dan 5 ml masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet. Volumennya dicukupkan dengan etanol 96% sampai tanda tera (Safitri *et al.*, 2022).

c. Penetapan *Operating Time*

Penetapan *operating time* dilakukan dengan cara diambil sebanyak 4 mL larutan stok DPPH 200 ppm dan 4 mL pelarut etanol 96% kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambah etanol 96% sampai tanda tera. Penetapan *operating time* dilakukan pada panjang

gelombang maksimum dengan interval waktu 2 menit selama 20-30 menit.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 100 ppm dipipet kemudian ditambahkan sebanyak 4 mL etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian, diamkan selama 18 menit usahakan terhindar dari cahaya. Kemudian larutan yang dibuat dimasukkan kedalam kurvet serta uji serapan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang antara 450-550 nm (Safitri *et al.*, 2022).

e. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian sampel dilakukan dengan memipet 4 mL larutan uji dari berbagai konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 dan 50 ppm) kemudian masing-masing ditambahkan 4 mL DPPH dan diinkubasi selama 18 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 518 nm. Pengujian larutan pembanding dilakukan dengan memipet 4 mL larutan kuersetin dari seri konsentrasi (4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm). Kemudian masing-masing diambil 4 mL dan ditambahkan 4 mL DPPH dan diinkubasi selama 18 menit kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 518 nm. (Safitri *et al.*, 2022).

Aktivitas peredam radikal bebas diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi radikal DPPH} = \left(\frac{\text{absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \right) \times 100$$

Absorbansi blanko = DPPH + etanol
 Absorbansi sampel = DPPH + sampel
 (Rahmawati *et al.*, 2015).

Keterangan :

Hasil Rendemen Daun Jambu Air dan kelor Kelor

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Jambu Air dan Daun Kelor

Sampel	Bobot Kering (g)	Bobot Sampel (g)	% Rendemen
Daun Jambu Air	300	37,8	12,6
Daun Kelor	300	36,9	12,3

Dari hasil tabel di atas dapat di simpulkan bahwa hasil rendemen tidak diperoleh hasil yang jauh berbeda (Signifikan) dengan perolehan hasil rendemen daun jambu air 12,6% dan daun kelor 12,3% dengan

rendemen daun jambu air yang lebih besar dari pada daun kelor.

Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 1. Uji Kandungan Ekstrak Daun Jambu Air dan Daun Kelor

Ekstrak	Identifikasi	Hasil Pengamatan	Keterangan
Daun Jambu Air	Flavonoid	Larutan Warna Jingga	Positif
Daun Kelor	Flavonoid	Larutan Warna Kuning ke Jingga	Positif

Dari data di atas dapat diartikan bahwa hasil uji kualitatif penetapan kandungan flavonoid pada kedua ekstrak, yaitu ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa*

oleifera), menunjukkan hasil positif. Hal ini menandakan bahwa kedua ekstrak tersebut, baik dari daun jambu air maupun daun kelor mengandung flavonoid.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Tabel 2. Penetapan Kadar Flavonoid

Ekstrak	Senyawa	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	% Kadar	Rata-rata Kadar
Daun Jambu Air	Flavonoid	0,423	6,368	6,368	6,408
		0,424	6,383	6,383	
		0,430	6,474	6,474	
Daun Kelor	Flavonoid	0,354	5,324	5,324	5,419
		0,355	5,339	5,339	
		0,372	5,596	5,596	

Berdasarkan hasil tabel di atas dapat disimpulkan bahwa rata-rata kadar yang diperoleh dari ekstrak daun jambu air adalah 6,408 sedangkan rata-rata kadar pada ekstrak daun kelor sebesar 5,419.

Hasil ini menunjukkan bahwa kadar flavonoid dalam ekstrak daun jambu air cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun kelor.

Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Air dan Daun Kelor

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan

Bahan	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi	%Inhibisi	Rata-rata % Inhibisi	IC ₅₀ (mg/L)	Keterangan
Kuersetin	10	0,455	46,784	57,058	16,774	Sangat kuat
	20	0,410	52,047			
	30	0,369	56,842			
	40	0,319	62,690			
	50	0,240	71,929			
Daun jambu air	10	0,757	11,461	20,771	75,204	Kuat
	20	0,756	11,578			
	30	0,689	19,415			
	40	0,653	23,625			
	50	0,532	37,777			
Daun	10	0,666	22,105			

kelor	20	0,634	28,678			
	30	0,58	32,163	30,469	86,584	Kuat
	40	0,572	33,099			
	50	0,554	36,257			

Ekstrak daun jambu air memiliki kadar antioksidan lebih kuat dari pada ekstrak daun kelor meskipun keduanya masih dalam kategori kuat. Hal ini dapat dilihat dari nilai IC_{50} ekstrak daun jambu air sebesar 75,204 sedangkan ekstrak daun kelor memiliki nilai IC_{50} sebesar 86,584. Kuersetin memiliki nilai IC_{50} sebesar 16,77

yang diklasifikasi sangat kuat. Nilai IC_{50} kuersetin yang jauh berbeda dari kedua ekstrak tersebut menandakan bahwa kuersetin memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada baik ekstrak daun jambu air maupun daun kelor.

Hasil Analisis Data *Correlations*

Tabel 4 Hasil Uji *Correlations*

Correlations			
		FLAVONOID	IC_{50}
Flavonoid	Pearson Correlation	1	-1,000**
	Sig. (2-tailed)		0,001
	N	2	2
IC_{50}	Pearson Correlation	-1,000**	1
	Sig. (2-tailed)	0,001	
	N	2	2

** . *Correlation* is significant at the 0,01 level (2-tailed).

Dari data tabel di atas dapat diartikan bahwa nilai *Pearson Correlation* antara kadar flavonoid dan nilai IC_{50} adalah 1,000. Hal ini menunjukkan bahwa kedua data memiliki korelasi sempurna atau

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk

berhubungan secara langsung. Selain itu dapat dinyatakan bahwa semakin tinggi kadar flavonoid, maka semakin kuat pula kadar antioksidannya.

menguji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*)

dan daun kelor (*Moringa oleifera*) menggunakan metode maserasi. Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan tanaman. Determinasi tumbuhan didasarkan pada acuan suatu sistem klasifikasi tanaman (Cronquist, 1981). Hasil dari determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan adalah benar tanaman jambu air (*Syzygium aqueum*) dan kelor (*Moringa oleifera*).

Sebelum dilakukan ekstraksi daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*) dijadikan simplisia. Proses pembuatan simplisia dimulai dengan melakukan sortasi basah terlebih dahulu dengan cara sampel daun jambu air dan daun kelor dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran seperti tanah dan debu. aslinya. Kemudian daun jambu air dan daun kelor ditiriskan dan diangin-anginkan lalu daun jambu air dan daun kelor yang sudah bersih dijemur di tempat yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung seperti di bawah atap vaiber. Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menghilangkan kelembaban yang dapat mempengaruhi analisis parameter seperti berat, konsentrasi senyawa, atau aktivitas biologis. Selain itu, pengeringan membantu mengurangi risiko pertumbuhan mikroba atau jamur pada sampel daun. Setelah sampel dikeringkan

kemudian dilakukan penghalusan hingga menjadi bubuk. Tujuan dari proses ini adalah untuk memperluas permukaan simplisia yang dapat meningkatkan kelarutan dan mempermudah proses penarikan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman, seperti flavonoid, alkaloid, atau polifenol. Setelah menjadi bubuk kemudian simplisia daun jambu air dan daun kelor ditimbang sehingga diperoleh bobot simplisia sebesar 300 g.

Setelah proses tersebut, dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Alasan pemilihan metode maserasi adalah karena metode ini mampu mengekstraksi semua metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap pemanasan, seperti flavonoid yang tidak tahan terhadap suhu tinggi di atas 60°C. Pelarut etanol 96% dipilih karena sifatnya selektif, tidak toksik, memiliki absorbansi yang baik, dan kemampuan penyaringan yang tinggi sehingga dapat mengekstraksi senyawa polar, semi polar, dan non polar (Dirjen POM, 1986). Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali dengan pergantian pelarut pada penggunaan pertama menggunakan 2 L etanol 96%, pergantian kedua dan ketiga menggunakan 1,5 L etanol 96%. Setiap pergantian dilakukan selama satu hari dengan pengadukan setiap 6 jam yang bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi.

Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang karena beberapa alasan seperti untuk menghindari dekomposisi senyawa aktif yang terkandung dalam bahan baku yang sensitif terhadap suhu tinggi. Selama proses maserasi senyawa-senyawa aktif dalam simplisia akan larut ke dalam pelarut sehingga memperoleh hasil berupa ekstrak cair. Setelah memperoleh ekstrak cair, dilakukan pemekatan ekstrak menggunakan alat *Vacuum Rotary Evaporator* pada suhu 50°C. Pemilihan suhu 50°C didasarkan pada sifat fisik dan kimiawi dari zat yang diolah. Pada suhu ini etanol akan memiliki tekanan uap yang cukup rendah sehingga memudahkan menguapkan cairan tanpa memerlukan suhu yang lebih tinggi. Penggunaan evaporator pada suhu 50°C juga membantu mencegah kerusakan atau perubahan sifat zat yang mungkin terjadi pada suhu yang lebih tinggi. Penggunaan evaporator bertujuan untuk menghilangkan sebagian pelarut dari larutan agar konsentrasi zat yang diinginkan meningkat, sehingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau tua, kemudian ekstrak yang sudah lebih kental kemudian dipindahkan ke dalam oven.

Oven akan memanaskan ekstrak untuk menghilangkan sisa pelarut yang tersisa dan menghasilkan ekstrak yang lebih padat atau lebih kental lagi. Pengeringan dengan oven dilakukan dengan suhu 40°C agar pelarut yang

tersisa menguap atau terpisah dari bahan yang lebih padat. Penggunaan oven dilakukan karena oven sering dilengkapi dengan sistem sirkulasi udara panas untuk mempercepat proses pengeringan (Nisa *et al.*, 2014).

Hasil perolehan % rendemen pada daun jambu air diperoleh sebesar 12,6% dan pada daun kelor diperoleh sebanyak 12,3%. % rendemen dua ekstrak tersebut diperoleh rendemen yang lebih tinggi pada daun jambu air dari pada daun kelor. Perolehan rendemen terjadi sedikit berbeda karena ekstrak sama-sama menggunakan metode ekstraksi dan pelarut etanol 96% yang sama. Jumlah rendemen yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh suhu, dimana suhu dapat mempengaruhi senyawa bioaktif pada ekstrak. Senyawa bioaktif umumnya rentan terhadap oksidasi yang dapat terjadi lebih cepat pada suhu tinggi. Suhu di atas 60°C dan suasana basa (lingkungan alkali) dapat menyebabkan degradasi senyawa bioaktif. Pada suhu tinggi senyawa-senyawa bioaktif tersebut rentan terhadap perubahan struktural dan dekomposisi kimiawi yang pada akhirnya mengurangi kualitas dan kuantitas senyawa yang diekstraksi menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi II (2017). Ekstrak kental yang baik dengan menggunakan bahan alam adalah tidak kurang dari 10%.

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak

daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*) digunakan untuk menunjukkan apakah ekstrak mengandung senyawa flavonoid atau tidak dan diperoleh hasil yang positif di tandai dengan perubahan warna larutan dari kuning ke jingga. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil (-OH). Oleh karena itu umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol. Etanol berfungsi sebagai pembebas flavonoid dari bentuk garamnya. Ketika HCl pekat ditambahkan ke dalam larutan yang mengandung flavonoid HCl akan melepaskan ion hidrogen (H^+). Ion hidrogen ini akan memprotonasi flavonoid mengubahnya menjadi bentuk garam flavonoid yang lebih mudah ditanggapi, Setelah flavonoid diprotonasi kemudian magnesium (Mg) berperan sebagai agen reduktor. Mg akan mengalami oksidasi dengan melepaskan dua elektron menjadi ion magnesium positif (Mg^{2+}). Elektron-elektron ini akan ditransfer ke flavonoid yang telah diprotonasi. Reduksi flavonoid oleh Mg dan protonasi oleh HCl pekat akan menghasilkan perubahan warna dalam larutan menjadi jingga atau bahkan hitam kemerahan. Perubahan warna ini menjadi indikator adanya flavonoid dalam larutan yang sedang diuji (Lailatul dan Dewi, 2022).

Pengukuran kadar flavonoid diawali dengan menentukan panjang gelombang

maksimum menggunakan larutan baku *quercetin* 6 ppm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mencari nilai λ (lambda) maksimum dan diperoleh hasil sebesar 444 nm. Setelah diperoleh λ maksimum untuk flavonoid maka kemudian dilakukan pencarian λ maksimum untuk DPPH sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Panjang gelombang maksimum DPPH diperoleh sebesar 518 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum sangat penting untuk mengukur nilai absorbansi senyawa DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum didasarkan pada puncak kurva karena puncak tersebut menunjukkan sensitivitas tertinggi yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi tertinggi (Malangsri *et al.*, 2017).

Setelah menemukan nilai panjang gelombang maksimum langkah selanjutnya adalah mencari waktu operasional (*operating time*). Hasil dari pengukuran *operating time* akan menunjukkan waktu optimal di mana sampel bereaksi yaitu terjadi antara menit ke-14 hingga ke-18. Pengukuran *operating time* dilakukan untuk meminimalkan apabila terjadinya kesalahan saat pengukuran. Hal ini dapat disebabkan oleh suatu senyawa yang akan diukur absorbansinya saat penelitian. Apabila pengukuran dilakukan saat sebelum waktu *operating time* kemungkinan akan terjadi reaksi yang

terbentuk belum sempurna dan akan lebih terjadi kesalahan menjadi lebih besar dimana dalam penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid dan antioksidan menggunakan *operating time* pada menit ke 14 (Suharyanto *et al.*,2020).

Langkah selanjutnya adalah melakukan pengukuran kadar flavonoid dengan menggunakan larutan seri kuersetin dengan konsentrasi berturut-turut 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Setelah diperoleh absorbansinya dilakukan pengukuran kadar flavonoid. Kadar flavonoid pada ekstrak daun jambu air yang menggunakan teknik ekstraksi maserasi diperoleh hasil rata-rata kadar sebesar 6,408% sedangkan pada ekstrak daun kelor diperoleh hasil 5,419% Kadar flavonoid dalam ekstrak dapat bervariasi karena perbedaan jenis tanaman yang digunakan. Setiap tanaman memiliki profil metabolit yang unik termasuk kandungan senyawa flavonoid tanaman yang dapat dipengaruhi oleh faktor genetika tanaman. Faktor genetika ini mempengaruhi biosintesis dan akumulasi flavonoid dalam tanaman. Oleh karena itu, kadar flavonoid dapat berbeda antara satu tanaman dengan tanaman lainnya. Faktor-faktor lingkungan seperti kondisi tumbuh, iklim, dan nutrisi yang pada akhirnya mempengaruhi kadar flavonoid dalam ekstraknya.

Prinsip dari metode $AlCl_3$ adalah

pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keton serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Ketika aluminium klorida ditambahkan akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa flavonoid. Kuersetin dipilih sebagai larutan pembanding karena kuersetin merupakan satu senyawa golongan flavonoid yang dapat berspekulasi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks (Chang *et al.*, 2016).

Pembuatan larutan kuersetin 100 mg/L kemudian akan direaksikan dengan pereaksi $AlCl_3$ dan kalium asetat. Reaksi antara kuersetin ($C_{15}H_{10}O_7$), $AlCl_3$ (aluminium klorida), dan kalium asetat dapat membentuk reaksi substitusi elektrofilik aromatik. Dalam reaksi ini $AlCl_3$ berfungsi sebagai katalis yang mengaktifkan cincin aromatik pada kuersetin. Prosesnya melibatkan pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dan kuersetin diikuti oleh serangan elektrofilik pada cincin aromatik oleh ion $AlCl_4^-$. Hal ini menghasilkan penambahan substituen ke cincin aromatik kuersetin (Widiastuti dan Aini, 2008) .

Pengujian aktivitas antioksidan dengan larutan pembanding kuersetin pada ekstrak daun jambu air dan daun kelor dilakukan menggunakan DPPH. Kuersetin merupakan salah satu senyawa fenolik yang merupakan antioksidan alami.

Selain mudah didapat dan sudah menjadi standar yang sering digunakan dalam larutan pembanding senyawa antioksidan yang telah direkomendasikan oleh BPOM. Oleh karena itu kuesetin dipilih sebagai control positif atau larutan pembanding. Pemilihan DPPH berfungsi untuk menentukan aktivitas antioksidan. Penggunaan DPPH didasarkan pada keunggulannya pada aspek cepat, mudah, sederhana, dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Pramiastuti *et al.*, 2020). Prinsip kerja DPPH berdasarkan kemampuannya yaitu untuk menerima atom hidrogen yang di donorkan oleh senyawa antioksidan. Senyawa DPPH akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning ketika terjadi antioksidan. Hal ini disebabkan oleh elektron tunggal pada DPPH yang berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan (Haryoto dan Frista, 2019).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak daun jambu air dan ekstrak daun kelor menggunakan teknik ekstraksi maserasi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu air memiliki nilai IC_{50} sebesar 75,204 ppm sementara ekstrak daun kelor memiliki nilai IC_{50} sebesar 86,584 ppm yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan kategori kuat. Dari hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa kandungan antioksidan dalam daun jambu air lebih besar dari pada daun kelor,

dengan perolehan hasil dari uji *Correlation* yang menyatakan adanya perbedaan yang signifikan dari ekstrak daun jambu air dan daun kelor. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin aktif ekstrak tersebut sebagai penahan senyawa DPPH.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya senyawa antioksidan yaitu IC_{50} . Nilai IC_{50} digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa dimana nilai yang lebih rendah menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi. Persamaan regresi linier dapat digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} berdasarkan hubungan antara konsentrasi ekstrak sebagai sumbu x dan proporsi penangkapan radikal bebas (DPPH) sebagai sumbu y. Sehingga diperoleh regresi linier DPPH + kuesetin sebesar $a = 39,779$, $b = 0,6093x$, dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9807 setiap konsentrasi menghasilkan 50% penangkapan (IC_{50}). Apabila nilai IC_{50} semakin kecil maka semakin aktif ekstrak tersebut sebagai penghambat senyawa DPPH (Mukhriani, 2014).

Ketika terjadi reaksi antara DPPH dengan flavonoid DPPH menerima elektron dari flavonoid dan DPPH radikal akan tereduksi menjadi.

Flavonoid berperan meredam radikal bebas khususnya *reactive oxygen species* (ROS) dengan mendonorkan hidrogen ke radikal hidroksil ataupun peroksil. Flavonoid yang telah kehilangan

atom hidrogennya relatif bersifat stabil sehingga rantai reaksi pembentukan radikal bebas dapat terputus (Pannala *et al*, 2001). Reaksi peredaman radikal bebas oleh fenol erat kaitannya dengan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa turunan fenol dengan struktur dasar berupa senyawa flavan (*2-fenil-benzo-piron*). Sehingga reaksi flavonoid terhadap radikal bebas dapat mewakili reaksi yang terjadi juga pada fenol terhadap radikal bebas (Werdhasar A, 2014).

Dalam reaksi ini DPPH berperan sebagai akseptor elektron (reduktor), sedangkan flavonoid berperan sebagai donor elektron (antioksidan). Flavonoid memberikan elektron pada radikal DPPH, menghilangkan stabilitas radikal dan menghasilkan senyawa yang tidak berwarna. Reaksi ini dapat diukur secara spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur perubahan absorbansi pada panjang gelombang yang sesuai dengan absorpsi DPPH. Perubahan absorbansi tersebut akan mencerminkan tingkat penangkapan radikal DPPH oleh flavonoid. Melalui pengukuran absorbansi pada panjang gelombang yang tepat akan memperoleh data untuk digunakan menghitung proporsi penangkapan radikal DPPH oleh flavonoid pada konsentrasi yang diuji. Nilai IC_{50} yaitu konsentrasi flavonoid yang diperlukan untuk mencapai 50% penangkapan radikal. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan

flavonoid.

Hasil data dari nilai kadar flavonoid dan hasil analisis aktivitas antioksidan diolah dengan *software* pengolah data SPSS untuk menunjukkan pengaruh kadar flavonoid terhadap nilai IC_{50} . Hasil analisa data kemudian digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar flavonoid pada daun jambu air dan daun kelor dengan menggunakan uji *Correlations*.

Uji *Correlations* dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kadar flavonoid terhadap nilai IC_{50} . Hasil yang diperoleh pada uji *Correlations* adalah (-1,000) yang menunjukkan bahwa data yang di peroleh sangat terikat dan semakin tinggi kadar flavonoid maka akan semakin besar kadar antioksidannya.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu mengetahui aktivitas antioksidan dan mengetahui nilai kadar flavonoid daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*) sehingga dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar yang diperoleh dalam pengujian flavonoid pada daun jambu air dan daun kelor menunjukkan bahwa daun jambu air memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dengan perolehan nilai 6,3676; 6,3827; 6,4735 sedangkan daun kelor 5,324; 5,339; 5,596.

2. Terdapat hubungan yang sangat erat antara aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid dalam ekstrak daun jambu air dan daun kelor. Dengan perolehan nilai rata-rata kadar flavonoid sebesar 6,408% dan 5,419% maka disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar flavonoid semakin efektif pula sssaktivitas antioksidannya. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ pada daun jambu air sebesar 75,204 dan pada daun kelor dengan nilai IC₅₀ yang lebih rendah dari daun jambu air dengan perolehan nilai 86,584.

DAFTAR PUSTAKA

1. Werdhasar A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 59-68.
2. Anggraheni YGD, Adi EBM, Wibowo H, & Mulyaningsih SE. 2019. Analisis Keragaman Jambu Air (*Syzygium* Sp.) Koleksi. *Biopropal Industri*, 10(2). 95-107.
3. Hasibuan. 2017. *Manajemen sumber daya manusi*. Ed. Rev. Jakarta: Bumi Aksara.
4. Iskandar D. 2017. Perbandingan Metode Spektrofotometri Uv-Vis dan Iodimetri Dalam Penentuan Asam Askorbat Sebagai Bahan Ajar Kimia Analitik Mahasiswa Jurusan Teknologi Pertanian Berbasis Open-Ended Experiment dan Problem Solving. *Jurnal Teknologi Technosciantia*, 10(1). 17-20.
5. Jusmiati A, Rusli R, & Rijai L. 2015. Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao Masak Dan Kulit Buah Kako Muda. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(1). 45-56.
6. Meirele D, Gomes J, Lopes L, Hinzmann M, & Machado J. 2020. a Review of Properties, Nutritional and Pharmaceutical Applications Of *Moringa oleifera*: Integrative Approach On Conventional And Traditional Asian Medicine. *Advances in Traditional Medicine*. 2-17.
7. Misra A, Srivastava S, & Srivastava M. 2014. Evaluation of Anti Diarrheal Potential of *Moringa oleifera* (Lam.) Leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 43-46.
8. Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2). 43-65.
9. Murray L, Creswell C, & Cooper P. 2009. Development of Anxiety Disorders in Childhood. *Psychological Medicine*. 1413-1423.
10. Panche AN, Diwan AD, & Chandra SR. 2016. Flavonoids: an Overview. *Journal of Nutritional Science*, 5(e47). 1-15.
11. Safitri L, Nofita, & Tutik. 2022. Hubungan Kadar Tanin Dengan Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Yang Tumbuh Di Dataran Rendah dan Dataran Tinggi. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 4(1). 23-26.
12. Wahyuni NE, Yusuf M, & Tutik. 2021. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Farmasi Malahayati*, 4(2). 13-18.
13. Wassalwa M. 2016. Pengaruh Waktu Infusa dan Suhu Air yang Berbeda Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Vitamin C pada Infused Water Kulit Pisang. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1). 107-118.
14. Werdhasar A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 59-68.