

## KARAKTERISASI FLAVONOID ANTIOKSIDAN DARI DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.)

Harrizul Rivai<sup>1</sup>, Lisa Putriani<sup>2</sup> dan Mahyuddin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitas Andalas, Padang

<sup>2</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi STIFARM, Padang

### Abstract

Flavonoid compounds have been isolated from guajava leaf from 100 grams of dried samples of guava leaf were obtained liquid extract 130 mL, n-hexane fraction as much as 1.65 g, 1.95 g of chloroform fraction, fraction of 1.87 g ethyl acetate, butanol fraction of 2.15 g, and the remaining fraction as much as 28.96 g and flavonoid A as much as 36.9 mg. Flavonoid A is a yellow amorph form and decompose at a temperature of 190-192 C. Based on ultraviolet spectrum with various reagents shear and infrared spectrum, these compounds are known as flavonol-3-O-diglukosida. Flavonoids A provide antioxidant activity with the percent inhibition of  $85.364\% \pm 0.2073\%$ , while the flavonoid B  $68.160\%, \pm 0.2073$ .

*Keywords: Flavonoid, Antioxidant, Guajava leaf*

### Pendahuluan

Indonesia sebagai negara tropis memiliki beraneka ragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu telah mengenal tanaman yang mempunyai khasiat obat atau menyembuhkan berbagai macam penyakit. Tanaman yang berkhasiat obat tersebut dikenal dengan sebutan tanaman tradisional. Salah satu tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan adalah jambu biji (Thomas, 1993).

Tanaman jambu biji atau *Psidium guajava* L. termasuk family Myrtaceae, banyak tumbuh di tanah air kita. Penduduk terlalu mementingkan buahnya, akan tetapi daun-daunnya hanya sebagian kecil saja yang memperhatikannya. Padahal daunnya mempunyai nilai obat yang baik, terutama untuk penyembuhan penyakit (Kartasapoetra, 1996).

Daun jambu biji mengandung minyak lemak 6% dan minyak atsiri 0,4%, damar 3%, tanin 9% dan lain-lain (Kartasapoetra, 1996). Daun jambu biji juga mengandung zat lain selain tanin, seperti asam ursolat, asam psidiolat, asam kratogolat, asam oleanolat, asam guajaverin, dan vitamin (Widyawati, 2009).

Daun jambu biji kaya akan senyawa flavonoid, khususnya kuersetin. Senyawa inilah yang memiliki aktivitas antibakteri dan yang berkontribusi terhadap efek antidiare. Polifenol yang ditemukan pada daun diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Raintree, 2010).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi lipid. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan (Trilaksana, 2003).

Penelitian kandungan kimia daun jambu biji sudah banyak dilakukan di Indonesia. Untuk menunjang program pemerintahan dalam peningkatan obat tradisional menjadi sediaan obat fitofarmaka, maka diperlukan penelitian kandungan kimia tumbuhan obat yang selama ini telah digunakan untuk obat tradisional (Sunarni, *et al*; 2007).

Untuk pengawasan mutu ekstrak daun jambu biji diperlukan senyawa penanda yang mempunyai aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dicoba mengkarakterisasi senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan, sehingga dapat dipakai sebagai senyawa penanda.

### Metoda Penelitian

#### Alat

Seperangkat alat rotary evaporator, seperangkat alat destilasi, pinset, aluminium foil, desikator, timbangan analitik (Denver Instrument<sup>®</sup>), oven (Gallen Kamp<sup>®</sup>), waterbath, corong pisah, bejana KKt (chamber), lampu UV, kertas whatman 3 MM, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis 1700 (Shimadzu<sup>®</sup>), spektrofotometer IR Perkin Elmer 735 dan *Fisher Jhon Melting Point Apparatus*.

## Bahan

Daun jambu biji, aquadest, metanol (Brataco), n-heksana (Brataco), kloroform (Brataco), etil asetat (Brataco), butanol (Brataco), etanol (Brataco), HCl<sub>p</sub> (Merck), serbuk Mg (Merck), asam asetat (Brataco), asam borat (Merck), asam sitrat (Merck), DPPH (Sigma), natrium hidroksida (Merck), FeCl<sub>3</sub> (Merck).

## Prosedur Kerja

### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) diambil di daerah Kelurahan Parupuk Tabing, Kecamatan Koto Tangah, Padang, Sumatera Barat. Sampel yang digunakan adalah daun segar, kemudian sampel dicuci dengan air bersih, ditiriskan dan dikeringkan dengan dianginkan pada suhu kamar 20-30°C, kemudian digiling menjadi serbuk.

### Determinasi Jambu Biji

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dideterminasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

### Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk daun jambu biji kering ditimbang 100 gram kemudian dimaserasi dengan metanol : air (9:1) 300 mL dan didiamkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk lalu saring dengan kertas saring Whatman No.1 dan didapat filtrat 1. Kemudian ampas dimaserasi kembali dengan metanol : air (1:1) 300 mL dan didiamkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk lalu saring dengan kertas saring Whatman No.1 dan didapat filtrat 2. Filtrat 1 dan filtrat 2 kemudian digabung lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai metanol habis menguap sehingga didapat ekstrak cair (Markham, 1988).

Ekstrak cair 100 mL difraksinasi dalam corong pisah dengan larutan heksana (3x100 mL) sehingga didapat fraksi heksana dan fraksi air. Kemudian fraksi heksana diuapkan sampai kering dan fraksi air difraksinasi kembali dalam corong pisah dengan kloroform (3x100 mL) sehingga didapat fraksi kloroform dan fraksi air. Kemudian fraksi kloroform diuapkan sampai kering dan fraksi air difraksinasi kembali dengan etil asetat (3x100 mL) sehingga didapat fraksi etil asetat dan fraksi air. Kemudian fraksi etil asetat diuapkan sampai kering dan fraksi air difraksinasi kembali dengan butanol (100 mL) sehingga didapat fraksi butanol dan lapisan air.

Kemudian fraksi butanol dan lapisan air diuapkan sampai kering. Larutkan masing-masing fraksi dengan metanol ± 5 mL (Markham, 1988).

## Penentuan Daya Antioksidan dengan Metoda DPPH

### Pembuatan Pereaksi DPPH

Timbang DPPH sebanyak 10 mg, larutkan dalam 100 mL metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, dipipet 35 mL dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 35 µg/mL.

### Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Pipet sebanyak 4 ml larutan DPPH 35 µg/mL yang baru dibuat, masukkan dalam vial dan tambahkan 2 mL metanol : air (1:1), lalu didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan Spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 400-800 nm.

### Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

Fraksi heksana, kloroform, etil asetat, butanol dan fraksi air yang telah diuapkan dan dilarutkan dengan 10 mg dari masing-masing fraksi dalam 10 mL metanol, kemudian larutan dari masing-masing fraksi dipipet sebanyak 2 mL, masukkan ke dalam vial lalu ditambahkan 4 mL larutan induk DPPH (35µg/ml). Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, Serapan larutan diukur dengan Spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

Sebagai kontrol atau blanko, digunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan 2 mL larutan metanol:air (1:1) dengan 4 mL larutan induk DPPH (35µg/mL). ukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dapat dihitung % inhibisi dari masing-masing larutan.

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

Abs kontrol = serapan DPPH (35µg/ml) pada panjang gelombang 519 nm.

Abs sampel = serapan DPPH (35µg/ml) pada panjang gelombang 519 nm dengan penambahan sampel.

## Isolasi dan Pemurnian

Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan masing-masing fraksi menunjukkan fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan terbesar.

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan kromatografi kertas (Kkt) dua arah, sebagai fasa diam dipakai kertas Whatman 3 MM, sedangkan sebagai fasa gerak pertama digunakan larutan BAA (4:1:5) dan fasa gerak kedua larutan asam asetat 15%. Dengan cara menotolkan ekstrak butanol pada kertas Whatman dengan ukuran 20X20 cm lalu dimasukkan dalam chamber yang berisi larutan fase gerak pertama, setelah itu baru larutan fase gerak kedua (Markham, 1988).

Proses kromatografi preparatif dengan menggunakan kertas whatman ukuran 22 x 32 cm dan eluen yang digunakan berupa asam asetat 10%. Untuk memonitor adanya flavonoid maka disebelah kiri kromatografi preparatif disisihkan garis sepanjang 2 cm untuk nantinya digunting dan disemprot sitroborax. Sedangkan sisa guntingan kertas ini akan memberikan petunjuk keberadaan senyawa flavonoid, kemudian digunting kecil-kecil dan dimaserasi dengan metanol. Setelah dibiarkan 24 jam, sambil kadang-kadang dikocok, dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian ekstrak digabung, disaring dan diuapkan sampai kering dengan rotary evaporator. Maka akan diperoleh flavonoid murni (Markham, 1988).

## Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kimia, penentuan titik leleh, pemeriksaan kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah.

### 1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan ini meliputi bentuk, warna dan bau senyawa hasil isolasi. Pemeriksaan ini digunakan untuk karakterisasi awal senyawa hasil isolasi. Senyawa A berupa amorf berwarna kuning.

### 2. Pemeriksaan Kimia

Pemeriksaan ini dilakukan dengan mereaksikan senyawa hasil isolasi dengan pereaksi kimia tertentu yang menunjukkan golongan senyawa kimia utama seperti  $\text{FeCl}_3$  untuk golongan fenolik dan flavonoid,  $\text{Mg/HCl}$  untuk golongan flavonoid dan Lieberman-Burchard untuk golongan terpenoid/steroid. Senyawa A dielusi dengan

pengembang yang sesuai pada kertas whatman, kemudian kertas disemprot dengan penampak noda seperti sitroborax. Senyawa A termasuk golongan flavonoid karena menunjukkan reaksi yang positif dengan asam klorida pekat dan magnesium.

### 3. Penentuan Jarak Leleh

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat pengukur titik leleh *Fischer Johns Melting point Apparatus*. Beberapa butir senyawa diletakkan di antara dua kaca objek, kemudian diletakkan di bawah pemanas kaca pembesar dan diatur kenaikan suhunya. Amati perubahan fisik senyawa dan catat suhu awal terurai sampai terurai sempurna, sehingga diperoleh jarak lebur senyawa tersebut. Senyawa yang murni biasanya mempunyai jarak leleh yang tajam dengan selisih  $1^\circ$  sampai  $2^\circ \text{C}$ .

### 4. Pemeriksaan Kkt dan Pemeriksaan Kemurnian

Pemeriksaan Kkt dilakukan untuk menunjukkan kemurnian dan penentuan  $R_f$  dari senyawa hasil isolasi dengan fasa gerak yang sesuai. Sebagai penampak noda digunakan lampu UV 365 nm. Noda dinyatakan murni bila terdapat satu noda. Noda yang terlihat dibawah lampu UV ditentukan  $R_f$ -nya. Untuk senyawa yang tidak memiliki gugus kromofor (tidak terlihat dibawah lampu UV), pemeriksaan kemurnian dilakukan dengan menggunakan penampak noda seperti sitroborax.

### 5. Penentuan Spektrum Ultraviolet

Pemeriksaan spektrum UV dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Senyawa hasil isolasi dilarutkan dalam metanol kemudian diukur serapannya. Pemeriksaan pereaksi geser dilakukan dengan penambahan beberapa tetes  $\text{NaOH}$  2 N untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil bebas pada atom C-3', C-4', dan C-7,  $\text{AlCl}_3$  untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil pada C-3 dan C-5,  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  untuk mendeteksi adanya gugus orto-dihidroksi pada cincin A dan B,  $\text{NaOH}$  untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil bebas pada atom C-7 dan  $\text{NaOAc} / \text{H}_3\text{BO}_3$  untuk mendeteksi gugus orto-dihidroksi terutama untuk flavon dan flavonol.

### 6. Spektrofotometer Inframerah

Spektrum IR diukur dengan menggunakan alat *Infrared Spectrophotometer Perkin Elmer Spectrum One*. Kira-kira 1 mg sampel digerus homogen dengan 100 mg kalium bromida. Campuran dikempa dengan kekuatan 10 ton/cm, sehingga terbentuk sebuah pelet yang tipis dan transparan, kemudian diukur serapannya.

## Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan isolasi flavonoid dimulai dari pengambilan sampel daun jambu biji, diambil di daerah Kelurahan Parupuk Tabing, Kecamatan Koto Tangah, Padang, Sumatera Barat. Selanjutnya dikeringkan dengan dianginkan pada suhu kamar 20-30°C.

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air. Selain itu pengeringan juga bertujuan untuk memudahkan proses penghalusan dari daun jambu biji. Penghalusan bertujuan untuk memperluas permukaan kontak antara sampel dengan pelarut. Hal ini memudahkan penetrasi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan sehingga proses pelarutan senyawa-senyawa yang ada dalam sampel lebih sempurna.

Penyarian sampel dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi merupakan metoda yang mudah dilakukan dan menggunakan alat-alat yang sederhana. Sampel direndam dalam pelarut metanol selama 24 jam sambil sesekali dikocok, kemudian maserat disaring. Sampel dimaserasi kembali dengan pelarut baru. Pengulangan dilakukan agar penyarian ekstrak berlangsung sempurna. Metanol dipilih sebagai pelarut maserasi karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik polar maupun yang non polar. Metanol memiliki titik didih yang relatif lebih rendah (65°C) sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak. (Markham, 1988).

Untuk menyederhanakan kelompok senyawa yang aktif antioksidan maka perlu dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi menggunakan dua pelarut yang tidak bercampur dan dipisahkan dalam corong pisah. Fraksinasi dimulai dari pelarut non polar, dilanjutkan dengan pelarut yang semipolar, hingga pelarut yang polar. Fraksinasi diawali dengan pelarut n-heksan, dilanjutkan dengan kloroform, etil asetat dan n-butanol. Etil asetat merupakan golongan ester yang terdiri dari gabungan gugus yang kaya elektron sehingga bersifat semipolar. Penarikan senyawa polar dengan menggunakan n-butanol. n-Butanol bersifat polar disebabkan karena adanya gugus hidroksil dan hanya terdiri dari 4 atom C. Senyawa organik yang sangat polar sebagian ikut terfraksi kedalam n-butanol dan sebagian lagi akan tertinggal pada fraksi air seperti antosianin dan monosakarida.

Fraksi yang didapat kemudian dipekatkan secara in vacuo dengan menggunakan *rotary evaporator*. Proses penguapan pelarut dipercepat dengan dikurangnya tekanan uap udara dan sekaligus luas permukaan diperbesar dengan adanya rotasi. Masing-

masing fraksi diuapkan sehingga memberikan massa kental dan ditimbang masing-masing beratnya. Hasil fraksinasi didapatkan masing-masingnya fraksi n-heksan sebanyak 1,65 g, fraksi kloroform sebanyak 1,95 g, fraksi etil asetat sebanyak 1,87 g, fraksi butanol sebanyak 2,15 g, dan fraksi sisa sebanyak 28,96 g.

Hasil pemeriksaan pendahuluan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak kental metanol, fraksi heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi butanol dan fraksi sisa menunjukkan persen inhibisi fraksi n-heksan 87,574% dan SD 0,2073, fraksi kloroform 85,484% dan SD 0,1790, fraksi etil asetat 83,512% dan SD 0,1795, fraksi butanol 89,247% dan SD 0,1795, fraksi sisa 84,528% dan SD 0,2067 (Tabel I). Dari data ini diketahui bahwa fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik di antara fraksi-fraksi lainnya.

Oleh karena itu, isolasi dan pemurnian senyawa selanjutnya difokuskan pada fraksi n-butanol. Untuk melihat aktifitas antioksidan dari masing-masing fraksi, maka dilakukan pengolahan data secara statistik menggunakan Anova satu arah. Sebelum dilakukan uji Anova satu arah perlu dilakukan uji homogenitas variansi, untuk melihat apakah berbeda nyata atau tidak berbedaa nyata. Hasil signifikan yang diperoleh berarti  $0,949 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak. Hal ini menyatakan tidak ada perbedaan signifikan antara variansi, oleh karena itu dapat dilakukan uji Anova satu arah.

Setelah dilakukan analisa Anova satu arah terlihat hasil signifikan yang diperoleh yaitu  $0,000$  berarti  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kelima fraksi tersebut maka dari itu harus dilakukan uji lanjut dengan uji duncan. Dari hasil analisa ini terlihat bahwa fraksi heksan, fraksi Kloroform, fraksi etil asetat, fraksi butanol dan fraksi sisa berbeda nyata.

Pemeriksaan awal fraksi butanol dilakukan dengan Kkt dua arah dengan menggunakan eluen pertama BAA (4:1:5) dan eluen kedua asam asetat 15%, dan noda yang terbentuk dideteksi dengan sinar UV 365 nm dan pereaksi penampak noda sitroborat. Tujuannya adalah untuk melihat pola penyebaran flavonoid. Bercak kromatogram dari fraksi butanol memberikan satu noda yang besar dan dua noda agak yang kecil. Disimpulkan bahwa flavonoid dari fraksi butanol termasuk flavonol dan flavonol glikosida.

Proses kromatografi preparatif dengan menggunakan kertas whatman ukuran 22 x 32 cm dan eluen yang digunakan berupa asam asetat 10%. Untuk

memonitor adanya flavonoid maka disebelah kiri kromatografi preparatif disisihkan garis sepanjang 2 cm untuk nantinya digunting dan disemprot sitroborat. Hasil guntingan kertas ini akan memberikan petunjuk keberadaan senyawa flavonoid. Hasil guntingan ini diberi kode, kemudian digunting kecil-kecil dan dimaserasi dengan metanol. Setelah dibiarkan 24 jam, sambil kadang-kadang dikocok, maserasi dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian ekstrak digabung, disaring dan diuapkan sampai kering dengan *rotary evaporator*. Pada proses ini diperoleh dua macam flavonoid yang ditandai dengan flavonoid A dan flavonoid B.

Flavonoid A memberikan aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi 85,364% dan SD 0,2073; sedangkan Flavonoid B 68,160% dan SD 0,2073 (Tabel 3). Dari data ini diketahui bahwa Flavonoid A memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik di antara fraksi-fraksi lainnya. Oleh karena itu, isolasi dan pemurnian senyawa selanjutnya difokuskan pada Flavonoid A. Untuk melihat aktifitas antioksidan dari Flavonoid A dan Flavonoid B, maka dilakukan pengolahan data secara statistik menggunakan Anova satu arah. Sebelum dilakukan uji Anova satu arah perlu dilakukan uji homogenitas variansi, untuk melihat apakah berbeda nyata atau tidak berbeda nyata. Hasil signifikan yang diperoleh berarti  $1,000 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak. Hal ini menyatakan tidak ada perbedaan signifikan antara variansi, oleh karena itu dapat dilakukan uji Anova satu arah.

Setelah dilakukan analisa Anova satu arah terlihat hasil signifikan yang diperoleh yaitu 0,000 berarti  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara Flavonoid A dan Flavonoid B. Dari hasil analisa ini terlihat bahwa Flavonoid A dan Flavonoid B berbeda nyata.

Untuk karakterisasi senyawa A dilakukan pemeriksaan spektrum ultraviolet, reaksi kimia dengan sianidin test senyawa A positif flavonoid, sehingga kemudian diukur panjang gelombang maksimum dalam pelarut metanol dan dilakukan penambahan pereaksi geser dengan NaOH,  $AlCl_3/HCl$ ,  $NaOAc/H_3BO_3$ . Pemeriksaan dengan menggunakan pereaksi geser, bertujuan untuk menentuk pola oksigenasi, letak gugus hidroksil, dan bahkan secara tidak langsung dapat menentukan ada atau tidak metil yang tidak terikat pada gugus hidroksil.

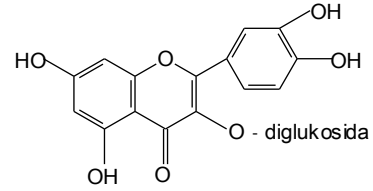
Pemeriksaan spektrum UV dari senyawa A dalam pelarut metanol menunjukkan dua puncak maksimum yang merupakan ciri khas dari flavonoid dengan pita II 255 nm dan pita I 368,6 nm (Gambar 3, Tabel VI). Setelah dihidrolisis panjang gelombang 256,80 nm pada pita II dan 369,00 nm pada pita I. Dari pola spektrum, panjang gelombang maksimum dan Kkt dua arah menggunakan eluen BAA (4:1:5) dan asam asetat 15% menunjukkan bahwa senyawa A merupakan flavonoid golongan flavonol (250 nm - 360 nm).

Untuk mengetahui struktur senyawa A maka dilakukan pereaksi geser dengan spektrum UV. Penambahan beberapa tetes NaOH mengakibatkan pergeseran batokromik diikuti dengan peningkatan intensitas yang mengindikasikan adanya 4 OH pada cincin B dengan pergeseran pada pita I sebesar 58,6 nm, tidak terjadinya penurunan intensitas memberikan dugaan bahwa ada substitusi pada C 3. Terbentuknya pita baru pada 320 nm – 335 nm menunjukkan adanya 7 OH. Hal ini diperkuat dengan pola Kkt dua arah menurut pola penyebaran flavonoid dimana senyawa A berada pada golongan flavonol, dengan Kkt senyawa A eluen asam asetat 10% menunjukkan Rf 0,37 yang berarti bahwa flavonol terikat dengan dua gugus gula. Kemungkinan gugus gula terikat pada C 3.

Pada penambahan  $NaOAc$  terjadi pergeseran batokromik sebesar 2,4 nm terhadap pereaksi geser metanol menunjukkan adanya 7 OH. Pada penambahan  $H_3BO_3$  terjadi pergeseran batokromik sebesar 28,8 nm menunjukkan O di OH pada cincin B. Pada penambahan  $AlCl_3$  terjadi pergeseran batokromik pada pita I sebesar 26,8 nm menunjukkan ada gugus OH pada C 5. Pada penambahan  $HCl$  pada  $AlCl_3$  menunjukkan pergeseran hipsokromik sebesar 49,2 nm menunjukkan adanya gugus ortodihidroksi pada 3' dan 4' cincin B (Tabel 7) (Harbone *et al*, 1975).

Untuk mengetahui adanya gugus fungsi yang terdapat pada senyawa A maka dilakukan karakterisasi dengan menggunakan spektrum IR. Pada spektrum IR, bilangan gelombang tertentu menunjukkan gugus fungsi yang spesifik pada suatu senyawa organik. Pemeriksaan terhadap senyawa A memiliki serapan yang kuat pada bilangan gelombang  $3401\text{ cm}^{-1}$ , yang diduga berasal dari regang OH, serta serapan pada bilangan gelombang  $1615\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya regangan C=O (Gambar 4, Tabel 8).

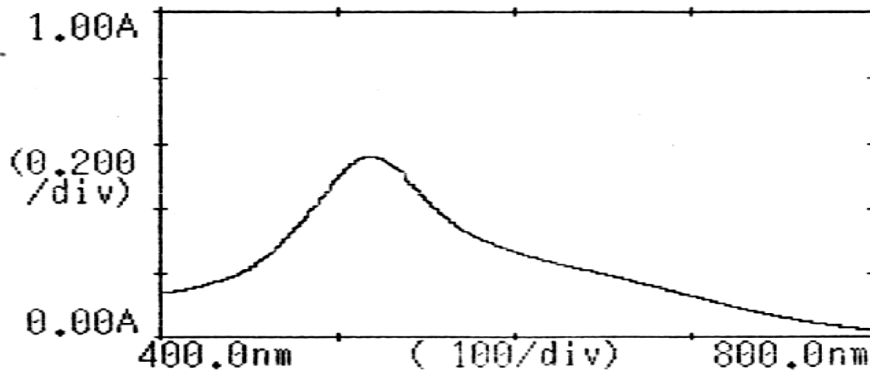
Berdasarkan data spektrum dan hasil reaksi geser diduga bahwa senyawa A adalah flavonol glukosida yang tersubstitusi OH pada C3' dan C4'. Selain itu diduga juga bahwa senyawa flavonol tersebut berada dalam bentuk glukosida yang terikat dengan 2 gugus gula (3-diglukosida) dan strukturnya adalah:



Gambar 1. Struktur flavonol-3-O-diglukosida (Harbone et al, 1975)

Tabel I. Persen inhibisi dari masing-masing fraksi dari ekstrak daun jambu biji

No	Larutan	Absorban	% Inhibisi	Rata-rata % Inhibisi
1	Kontrol (Larutan DPPH)	0,558	-	
2	DPPH + Fraksi Heksan	0,070	87,455	87,574
		0,068	87,814	
		0,070	87,455	
3	DPPH + Fraksi Kloroform	0,082	85,305	85,484
		0,080	85,663	
		0,081	85,484	
4	DPPH + Fraksi Etil Asetat	0,092	83,513	83,512
		0,093	83,333	
		0,091	83,692	
5	DPPH + Fraksi Butanol	0,061	89,068	89,247
		0,060	89,247	
		0,059	89,427	
6	DPPH + Fraksi Sisa	0,087	84,409	84,528
		0,085	84,767	
		0,087	84,409	



Gambar 2. Spektrum serapan larutan DPPH 35 µg/ mL dalam metanol.

**Tabel 2. Panjang gelombang serapan maksimum dan serapan larutan DPPH 35 µg/ mL dalam methanol**

Panjang gelombang maksimum	Serapan maksimum
519 nm	0,558

**Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan dari senyawa hasil isolasi**

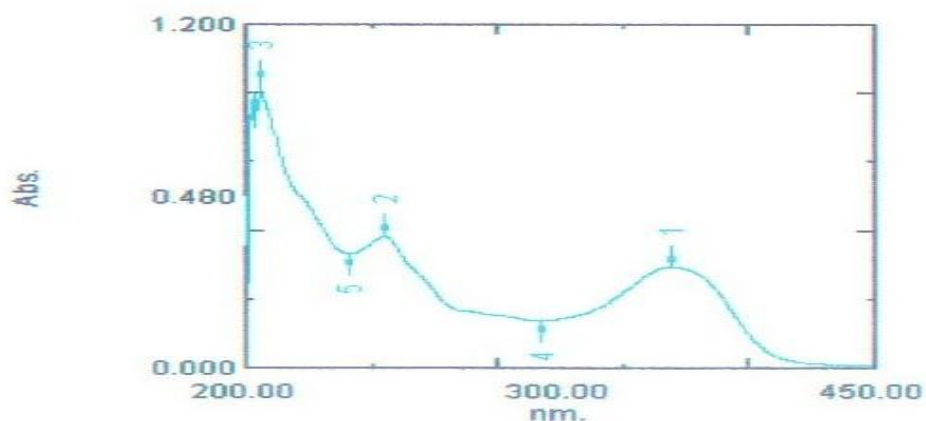
No	Larutan	Absorban	% Inhibisi	Rata-rata % Inhibisi
1	Kontrol (Larutan DPPH)	0,558	-	
2	DPPH + Flavonoid A	0,081	85,484	85,364
		0,081	85,484	
		0,083	85,125	
3	DPPH + Flavonoid B	0,177	68,280	68,160
		0,179	67,921	
		0,177	68,280	

**Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik flavonoid A**

No	Karakteristik	Keterangan
	Bentuk	Serbuk Amorf
2	Warna	Kuning
3	Bau	Tidak berbau
4	Kelarutan	Larut dalam metanol
5	Suhu lebur	190-192°C

**Tabel 5. Hasil pemeriksaan kimia flavanoid A dengan berbagai pereaksi warna**

No	Pereaksi	Warna
1	F <sub>6</sub> Cl <sub>3</sub>	Hijau
2	NaOH	Kuning
3	NH <sub>4</sub> OH	Kuning
4	HCl/Mg	Merah
5	Sitroborax	Kuning



Gambar 3. Spektrum UV larutan flavonoid A dalam metanol.

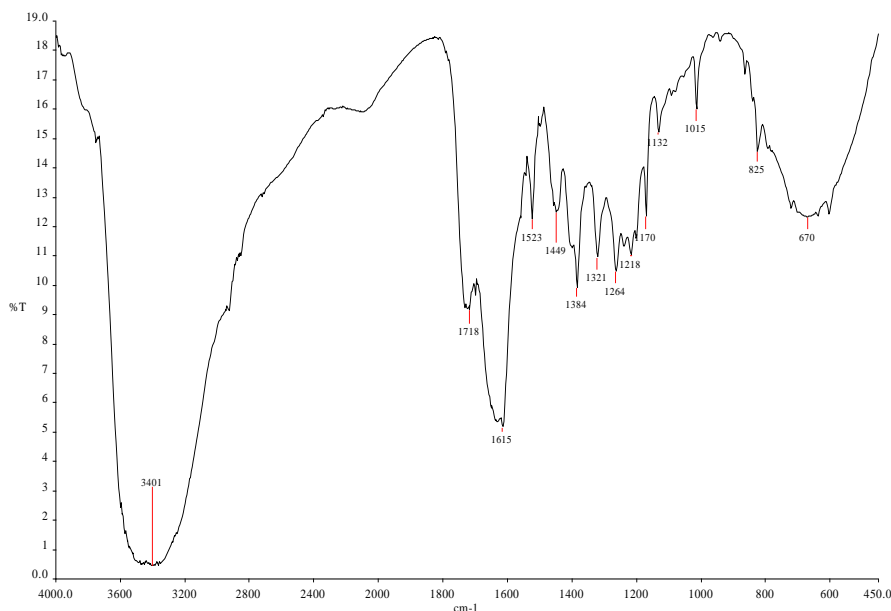
Tabel 6. Data panjang gelombang serapam maksimum senyawa A

Pelarut	$\lambda$ Maks ( nm )	Absorban
Metanol	368,60	0,355
	255,00	0,464

Tabel 7. Data  $\lambda$  maksimum senyawa flavonoid A dengan pereaksi geser

No	Pereaksi	$\lambda$ Maks (nm)		Gerakan	Penafsiran
		Pita 1	Pita 2		
1	MeOH	368,60	255,00	-	Flavonol
2	NaOH	408,80	273,40	58,6	4 OH pada cincin B
3	AlCl <sub>3</sub>	444,20	206,20	26,8	OH pada C 5
4	AlCl <sub>3</sub> /HCl	429,40	266,60	49,2	3'4' pada cincin B
5	NaOAc	371,00	254,60	2,4	7 OH
6	NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	448,00	204,40	28,8	O diOH pada cincin B





Gambar 4. Spektrum inframerah senyawa flavonoid A

Tabel 8. Data bilangan gelombang spektrum IR senyawa flavonoid A

	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Interpretasi
1	3401	Regang O – H
2	1615	Regang C = O
3	1384	Regang C – O
4	825, 670	C = C Aromatic

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap daun jambu biji dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Dari 100 g sampel kering daun jambu biji didapatkan ekstrak cair 130 mL dari 100 mL ekstrak cair diperoleh flavonoid A 36,9 mg dan flavonoid B 24,8 mg.
2. Flavonoid yang bersifat antioksidan paling tinggi adalah flavonoid A yang berupa serbuk amorf, berwarna kuning, tidak berbau, larut dalam metanol, suhu lebur 190-192° C.
3. Dari data kromatografi kertas, suhu lebur, reaksi warna, spektrum ultraviolet dengan beberapa pereaksi geser, spektrum IR serta hasil diduga flavonoid A yang diperoleh berupa senyawa flavonol-3-O- diglukosida.

### Daftar Pustaka

- Harbone, J. B., T. J. Mabry and H. Mabry.,1975, *The Flavonoid*, Chapman and Hall, London.
- Kartasapoetra, G., 1996, *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*, PT. Rineka Citra, Jakarta.
- Markham, K. R., 1988, *Cara mengidentifikasi flavonoid*, Penerjemah : Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Raintree Data base : <http://www.raintree.com/guava.htm>, diakses 20 Maret 2010.
- Sunarni, T., Pramono, S., Asmah, R., 2007, Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th., *Majalah Farmasi Indonesia*, 18 (3) : 111-116.

Thomas, A. N. S, 1993, *Tanaman Obat Tradisional I*, Kanisius, Yogyakarta.

Trilaksani, W., 2003,. *Antioksidan : jenis, sumber, mekanisme kerja dan peran terhadap kesehatan*, IPB, Bogor.

Widyawati, G., 2009, *Khasiat Jambu Biji (Psidium guajava Linn.)*, Tesis, Program Studi Biosains Program Pasca Sarjana, Universitas Sebeles Maret, Surakarta.