



Isolation, Identification, and Activity Test of Flavonoid Compounds in Jamblang Leaves (*Syzygium cumini* L.) Skeel as Antioxidants

Miracela Putri Jatmiko[✉], Sri Mursiti

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Lantai 2, Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang, 50229, Indonesia

Info Artikel

Diterima Mei 2021

Disetujui Juli 2021

Dipublikasikan September 2021

Keywords:

Antioksidan

Flavonoid

Syzygium cumini L.

Abstrak

Tanaman jamblang (*Syzygium cumini* L.) Skeel merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Tumbuhan jamblang mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, resin, tanin, dan minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam isolat daun jamblang menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR serta mengetahui aktivitas antioksidan daun jamblang dengan melihat persentase peredaman. Hasil penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, etil asetat dan isolat daun jamblang terhadap ABTS (2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) menunjukkan persentase peredaman tertinggi ditunjukkan pada 40 ppm dengan sampel ekstrak etil asetat sebesar 46,77%. Hasil identifikasi daun jamblang menunjukkan bahwa isolat mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol.

Abstract

Jamblang (*Syzygium cumini* L.) Skeel is a plant that has the potential to be a natural antioxidant. The jamblang plant contains chemical compounds including alkaloids, flavonoids, resins, tannins, and essential oils. This study aims to identify the class of flavonoid compounds contained in jamblang leaves using a spectrophotometer UV-Vis and FTIR and to determine the antioxidant activity of jamblang leaf determined by the percentage of resistance. Determination result of antioxidant activity in ethanol extract, ethyl acetate and isolate of jamblang leave against ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) the highest percentage was shown at 40 ppm of ethyl acetate extract equal is 46,77%. The Identification results of isolate jamblang leave contained flavonoid compounds from the flavonol groups.

Pendahuluan

Bahaya radikal bebas sering kita dengar saat ini. Radikal bebas dapat disebabkan oleh polusi udara, sinar ultraviolet, makanan cepat saji. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, maka untuk mencapai kestabilannya akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung secara terus-menerus dalam tubuh dan apabila tidak dihentikan dapat merusak sel sehingga sangat berbahaya bagi kesehatan serta akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Sami, et al., 2017; Sami & Rahimah, 2018).

Reaktifitas radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan efek buruk dari radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan alami lebih diminati masyarakat dibandingkan antioksidan sintetik karena dianggap lebih aman. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan salah satunya tanaman jamblang (*Syzygium cumini* L.) Skeel merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan alami hal ini dibuktikan dengan penelitian Ruan *et al.*, 2008 telah melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman jamblang. Tumbuhan jamblang mengandung senyawa kimia antara lain suatu alkaloid, flavonoid, resin, tanin, dan minyak atsiri (Arifin, 2006).

Pada penelitian ini akan melakukan ekstraksi sampel daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) kemudian dilakukan identifikasi flavonoid dengan metode KLT (Kromatografi Kolom Lapis Tipis). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethyl benzothiazoline)-6-sulfonic acid) pada ekstrak (*Syzygium cumini* L.) Skeel. Metode ABTS baik digunakan pada sistem larutan berbasis air maupun organik, mempunyai serapan spesifik pada panjang gelombang dari bagian visible, dan membutuhkan waktu reaksi yang lebih sedikit (Mastuti, 2013).

Metode

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator*, neraca analitik, spektrofotometer UV-VIS, kuvet, FTIR, GC, satu set KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) Skeel yang berasal dari daerah di sekitar Desa Sadeng, kecamatan Gunung Pati, Semarang. Larutan ABTS, n – heksana, etanol, etil asetat, silika gel, AlCl₃, NaOH, HCl, aquades dan kertas saring.

Ekstraksi pada sampel daun jamblang

Penelitian ini menggunakan sampel daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) Skeel sebanyak 1,5 kg. Sampel dikering anginkan, kemudian dihaluskan dengan blender. Simplisia dimaserasi dengan pelarut n-heksana selama 72 jam. Hasil maserasi kemudian disaring, residu dimaserasi kembali dengan pelarut etanol. Simplisia di maserasi pada suhu ruang selama 72 jam. Setelah dimaserasi dengan pelarut etanol di saring dengan kertas saring kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak daun jamblang kental dalam etanol.

Pemisahan senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak kental etanol dipartisi menggunakan aquades dan etil asetat dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1 sehingga diperoleh fraksi aquades dan fraksi etil asetat. Filtrat etil asetat dievaporasi dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat. Ekstrak kental etil asetat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan KLT. Persiapan pertama kromatografi kolom adalah memanaskan silika gel pada suhu 160°C selama 3 jam, kemudian didinginkan pada desikator. Setelah itu silika gel dibuat bubuk dan dimasukkan dalam kolom, lalu dibiarkan semalam. Ekstrak kental etil asetat digerus bersama silika gel dan dimasukkan dalam kolom, kemudian ditambah dengan eluen secara perlahan sambil kran dibuka. Eluen yang digunakan yaitu etanol : etil asetat (3:2), n – heksana : etil asetat (2:3), butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan metanol : etil asetat (1:6) (Zirconia *et al.*, 2015).

Ekstrak kental etil asetat ditotolkan pada plat silika pada jarak 0,5 cm dari garis bawah dan 0,5 cm dari garis tepi. Selanjutnya dikering anginkan dan ditotolkan kembali sampai dirasa sudah cukup.

Hasil penotolan pada plat dielusi dengan menggunakan eluen dengan variasi perbandingan diatas. Hasil KLT dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan lalu disinari di bawah lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm maka noda yang ada pada plat akan tampak, kemudian dianalisis dengan cara menghitung Rf menggunakan rumus sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{jarak pergerakan noda}}{\text{jarak pergerakan eluen}}$$

Pemisahan senyawa flavonoid dengan kromatografi kolom

Kromatografi kolom dilakukan menggunakan silika gel, eluen, satu set alat kromatografi kolom. Sebelum digunakan, silika gel dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 160°C, kemudian silika gel dibuat bubuk menggunakan eluen terbaik dari KLT dan dimasukkan dalam kolom yang dibiarkan semalam. Eluen yang mampu memisahkan senyawa terbanyak digunakan dalam kromatografi kolom. Ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam kolom yang dicampur oleh eluen. Kran dibuka secara perlahan – lahan, dan fraksi ditampung dalam vial 5 ml sampai eluen dalam kolom habis (Sayuti *et al.*, 2015). Isolat yang telah dikromatografi kolom selanjutnya diidentifikasi strukturnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan GC.

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV- Vis menurut Hayati *et al* (2010). Metode ini untuk melihat adanya 2 pita serapan yang khas dimiliki oleh senyawa golongan flavonoid. Langkah pertama, sebanyak 2 ml isolat dimasukkan kedalam kuvet diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200–800 nm. Identifikasi dilanjutkan dengan menambahkan pereaksi geser AlCl₃, NaOH, dan HCl, kemudian diamati pergeseran puncak serapan pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Isolat 1 ditambahkan dengan NaOH 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian di kocok hingga homogen. Sampel didiamkan selama 5 menit dan diamati spektrumnya. Isolat 2 kemudian ditambahkan 6 tetes pereaksi AlCl₃ 5% dalam metanol kemudian dicampur hingga homogen dan diamati spektrumnya. Isolat 3 kemudian ditambahkan 3 tetes HCl kemudian dicampur hingga homogen dan diamati spektrumnya.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS (*2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat*)

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode ABTS (*2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat*) dengan kuersetin sebagai kontrol positif. Berikut cara pembuatan larutan yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan serta langkah pengujiannya. Langkah pertama membuat larutan stok ABTS dengan ABTS ditimbang sebanyak 7,5 mg, dilarutkan dengan 5 ml aquadest. Kemudian ditimbang kalium persulfat sebanyak 3,5 mg, dilarutkan dengan 5 ml air suling. Kedua larutan dicampurkan dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sampai 25 ml, kemudian diinkubasi selama 12-16 jam. Penentuan serapan larutan blanko ABTS dengan cara larutan ABTS sebanyak 1 ml dipipet kedalam labu tentukur 5 ml dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Larutan ini kemudian diinkubasi selama 15 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 750 nm.

Langkah berikutnya membuat larutan stok ekstrak sampel dengan cara sebanyak 50 mg ekstrak daun jambang (*Syzigium cumini*) dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu tentukur 50 ml, didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya membuat larutan stok kuersetin 1000 ppm dengan cara menimbang 50 mg kuersetin dan dilarutkan dengan etanol p.a., kemudian ditambahkan etanol hingga 50 ml atau sampai tanda batas labu ukur. Larutan uji sampel dilakukan dengan mengambil sebanyak 50 µl, 100 µl, 150 µl, dan 200 µl dari larutan stok sampel daun jambang ke dalam labu ukur 5 ml hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm. Kemudian ditambahkan masing-masing 1 ml ABTS dan dicukupkan dengan etanol p.a. Inkubasi selama 30 menit, diukur serapan sampel pada panjang gelombang 750 nm.

Pengukuran aktivitas pengikatan radikal bebas ABTS dengan kuersetin dilakukan dengan memipet larutan stok kuersetin 1000 ppm masing-masing 50 µl, 100 µl, 150 µl, dan 200 µl ke dalam labu ukur 5 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan ABTS lalu dicukupkan dengan etanol absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi daun jambang (*Syzygium cumini L.*) Skeel

Pada penelitian ini dilakukan metode ekstraksi dengan cara maserasi. Metode maserasi merupakan metode penyaringan yang sederhana, dan tidak menyebabkan kerusakan senyawa metabolit sekunder pada sampel karena pemanasan tinggi. Metode ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode maserasi bertingkat. Penggunaan Teknik maserasi bertingkat bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, dimana senyawa akan terekstraksi berdasarkan sifat kepolarannya (Mursiti, 2015).

Sampel yang telah kering sebanyak 1,5 kg diekstraksi dengan maserasi menggunakan n-heksana selama 72 jam. Pelarut n – heksana mampu melarutkan senyawa nonpolar seperti sterol, terpenoid, triterpenoid dan fenil propanoid (Tiwari *et al.*, 2011), sehingga diharapkan senyawa non polar dalam sampel larut dalam n – heksana agar tidak mengganggu efektivitas senyawa flavonoid sebagai antioksidan. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan kertas saring.

Residu yang diperoleh dikering anginkan, kemudian dilakukan maserasi kembali menggunakan etanol 96% selama 72 jam. Etanol merupakan pelarut polar, sehingga mampu menarik senyawa-senyawa polar terutama flavonoid. Ekstrak hasil maserasi dengan etanol selanjutnya disaring untuk memisahkan ekstrak etanol dari pengotor. Filtrat etanol kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* dan diperoleh 300 g ekstrak kental etanol.

Ekstrak kental etanol dipartisi menggunakan aquades dan etil asetat dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1, kemudian didiamkan sehingga membentuk 2 fase. Fase yang berada di lapisan atas adalah fraksi etil asetat yang berwarna coklat tua, sedangkan di lapisan bawah adalah fraksi air yang berwarna coklat muda. Pemisahan ini dikarenakan adanya perbedaan massa jenis dari kedua pelarut. Fraksi etil asetat diambil untuk dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kental etil asetat sebanyak 100 ml yang berwarna coklat kehitaman. Hasil maserasi ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil maserasi

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan senyawa flavonoid dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Metode kromatografi lapis tipis digunakan untuk mencari eluen terbaik dalam pemisahan senyawa flavonoid. Pada metode ini menggunakan fase diam plat silika dan fase gerak metanol : etil asetat (1:6) menghasilkan 3 noda, ketiganya diduga sebagai flavonoid. Ketiga noda tersebut pada cahaya tampak noda tidak tampak, namun Ketika dilihat pada lampu UV 365 nm warna noda tampak fluoresensi merah muda. Ketiga noda tersebut memiliki Rf sebagai berikut 0,565; 0,74; 0,87. Gambar 1 menyajikan kromatogram hasil KLT dengan fase gerak metanol : etil asetat (1:6) dilihat dengan lampu UV 365 nm. Pada penelitian Koirewoa *et al* (2014) pemisahan KLT dengan Rf noda 0,69; 0,78; 0,89 isolat mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol.



Gambar 2. Kromatogram hasil KLT dengan fase gerak metanol : etil asetat (1:6) dilihat dengan lampu UV 365 nm

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan senyawa menggunakan fase diam berupa *silica gel* sedangkan eluen metanol dan etil asetat sebagai fase geraknya dan menggunakan 3 ml sampel ekstrak etil asetat daun jambang. *Silica gel* yang digunakan sebanyak 30 g yang dioven pada suhu 160°C. Proses pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan 4 fraksi yang ditampung dalam 10 ml vial.

Identifikasi dengan spektrofotometer UV-VIS

Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk menentukan golongan senyawa flavonoid pada sampel. Spektra flavonoid terdiri dari dua serapan maksimum yaitu pada panjang gelombang 269 nm (pita II) dan 376 nm (pita I). Berdasarkan Markham (1988) senyawa yang memiliki serapan maksimum pada range panjang gelombang 250–280 nm (pita II) dan 350–385 nm (pita I) termasuk dalam golongan flavonol (3 –OH bebas).

Pereaksi geser ditambahkan pada isolat bertujuan untuk mengetahui pola oksigenasi dari flavonoid. Penambahan pereaksi geser aluminium klorida (AlCl_3) akan membentuk kompleks dengan gugus orto – dihidroksi maupun hidroksi keton. Kompleks akan terurai dengan adanya penambahan HCl, karena adanya aluminium tidak stabil yang terbentuk pada gugus orto – hidroksi.

Penambahan pereaksi AlCl_3 tidak mengalami pergeseran pada pita I dan pita II. Menurut Markham (1988) berdasarkan hasil tersebut mengindikasikan adanya gugus hidroksi pada C nomor 5 dan adanya gugus prenil pada C nomor 6. Gugus prenil merupakan gugus yang terikat oleh satu atau dua inti aromatic flavonoid. Setelah penambahan HCl terjadi pergeseran batokromik pada pita I sebesar 20 nm, sedangkan pada pita II tidak mengalami pergeseran, hal ini mengindikasikan adanya gugus ortohidroksi pada cincin B yaitu terletak pada C nomor 3',4' atau 4',5' dan menunjukkan adanya pola oksigenasi pada C nomor 5,7 pada cincin A dan 3' dan 4' pada cincin B.

Penambahan pereaksi NaOH untuk mendeteksi adanya gugus hidroksi. Pada pita I mengalami pergeseran hipokromik dengan adanya penurunan intensitas yang mengindikasikan adanya gugus hidroksi pada atom C nomor 3 dan 4' serta adanya gugus tiga hidroksi yang berdampingan pada cincin B yaitu pada C nomor 3', 4' dan 5'.

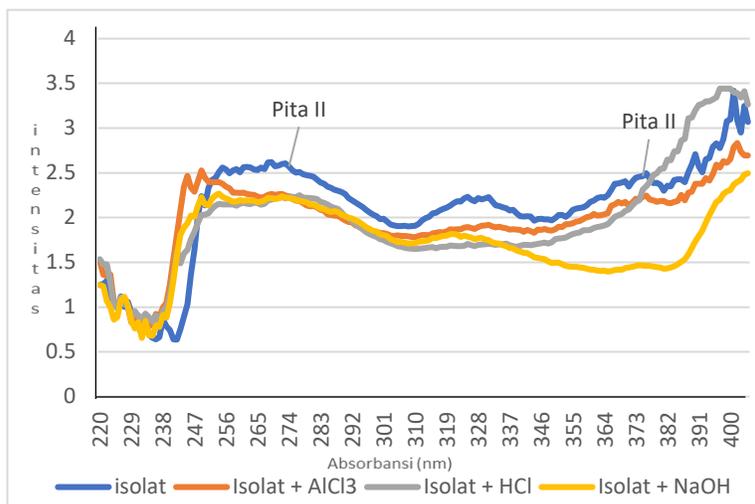
Tabel 1. Penafsiran pergeseran pereaksi geser

Pereaksi geser	Panjang gelombang		Pergeseran panjang gelombang		Petunjuk penafsiran*
	λ_{maks} (nm)		λ_{maks} (nm)		
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Isolat	376	269	-	-	Flavonol (3 – OH bebas)
Isolat + AlCl_3	376	269	0	0	5 – OH dengan gugus prenil pada C6
Isolat + AlCl_3 + HCl	396	269	+20	0	o – di OH pada cincin B dan pola oksigenasi pada 5,7, 3',4'
Isolat + NaOH	Intensitas menurun terus	272		+3	3 & 4' – OH 3 – OH yang berdampingan pada cincin B

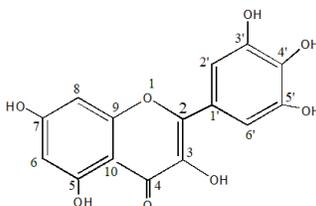
*(Markham, 1988)

Berikut spektrum UV-Vis isolate daun jambang disajikan pada Gambar 3. Berdasarkan hasil pergeseran dengan pereaksi geser kemungkinan senyawa yang terkandung dalam daun jambang adalah

myricetin yang termasuk dalam jenis flavonoid golongan flavonol yaitu myricetin. Hal ini diperkuat dengan penelitian sebelumnya bahwa daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) mengandung kuersetin dan myricetin (Ruan, 2008). Struktur myricetin disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis isolat daun jamblang dengan penambahan pereaksi geser



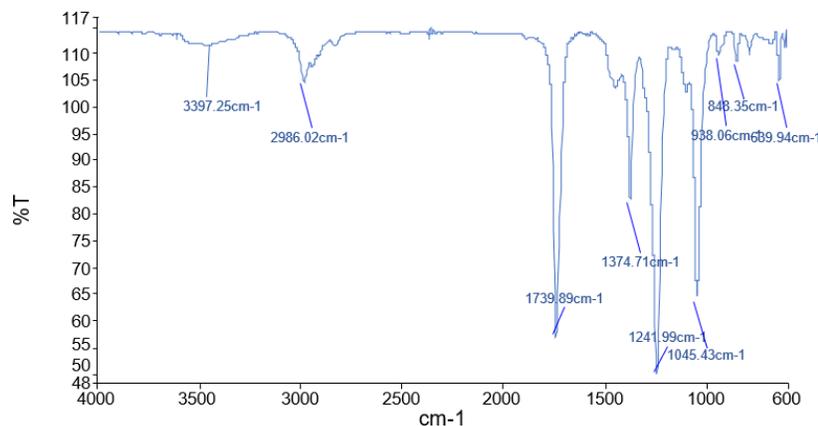
Gambar 4. Struktur myricetin

Identifikasi dengan *Fourier transform infrared* (FT – IR)

Spektra hasil FT–IR isolat daun jamblang menunjukkan adanya serapan – serapan khas yang dapat mendeteksi gugus fungsi senyawa flavonoid. Menurut Clifford *et al* (1982) pada 3397,25 cm^{-1} menunjukkan serapan melebar vibrasi ulur –OH yang mengindikasikan adanya gugus OH bebas pada senyawa flavonoid. Pada serapan 1739,89 cm^{-1} dengan pita serapan yang tajam mengindikasikan adanya gugus C=O, dimana menurut Clifford *et al* (1982) serapan 1900 – 1650 cm^{-1} merupakan regang C=O. Vibrasi pada 1374,71 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan lentur C – H alifatik, hal ini diperkuat adanya vibrasi 1241,99 cm^{-1} dengan pita serapan yang tajam menunjukkan adanya C – H alifatik (Clifford *et al*, 1982). Serapan 2986.02 cm^{-1} merupakan serapan regangan cincin C=C sebagai karakteristik cincin aromatik pada gugus kromofor yang khas dari senyawa flavonoid (Clifford *et al*, 1982). Selain itu adanya serapan 1045.43 – 689.94 cm^{-1} memperkuat adanya gugus C=C aromatic (Clifford *et al*, 1982). Spektra IR isolat daun jamblang dapat dilihat pada Gambar 5.

Identifikasi dengan *Gas Chromatography* (GC)

Identifikasi pada isolat daun jamblang menggunakan GC (*Gas Chromatography*) menghasilkan 5 puncak tertinggi dengan urutan yaitu pada retensi 3,223 sebesar 88,26067%, puncak kedua pada retensi 3,589 menit sebesar 2,33938%, puncak ketiga retensi 3,303 sebesar 3,67673%, puncak ke empat retensi 51,260 menit sebesar 2,00813%, dan puncak kelima adalah retensi 2.237 menit sebesar 0,55359. Kromatogram hasil GC isolat daun jamblang disajikan pada Gambar 5, sedangkan data hasil identifikasi menggunakan GC (*Gas Chromatography*) disajikan pada Tabel 2.



Gambar 5. Spektra IR isolat daun jambang

Tabel 2. Hasil Identifikasi dengan GC (*Gas Chromatography*)

Retention Time (min)	Area (%)
2,237	0,55359
3,223	88,26067
3,303	3,67673
51.260	2.00813

Uji Aktivitas Antioksidan

Penelitian ini menentukan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, ekstrak etil asetat serta isolat daun jambang (*Syzygium cumini* L.) *Skeel*. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Metode ABTS dipilih karena waktu reaksi ABTS dengan antioksidan lebih cepat, ABTS juga dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik, selain itu ABTS mampu memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang visible.

Kontrol positif pada pengujian ini yaitu kuersetin. Pemilihan kuersetin sebagai pembanding karena kuersetin merupakan salah satu flavonol yang didapatkan hampir disetiap jenis tanaman. Selain itu, kuersetin merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Jusuf, 2010). Penentuan aktivitas antioksidan ini menggunakan kontrol positif untuk mengetahui ekstrak terbaik pada sampel daun jambang (*Syzygium cumini* L.) *Skeel*.

Pada reaksi diatas Gambar 4 diasumsikan konsentrasi ABTS sebesar 1 mol bereaksi dengan 1 mol kuersetin. Namun berdasarkan hasil penelitian, radikal ABTS yang direaksikan dengan antioksidan yaitu kuersetin 10, 20, 30, 40 ppm ABTS hanya bereaksi sebesar $5,6 \times 10^{-6}$ mol; $5,4 \times 10^{-6}$ mol; $5,2 \times 10^{-6}$ mol; $5,05 \times 10^{-6}$ mol, Sedangkan konsentrasi ABTS secara teoritis sebesar $1,46 \times 10^{-5}$ mol. Konsentrasi ABTS hasil penelitian kemudian dibandingkan dengan teoritis, dimana konsentrasi ABTS yang bereaksi hanya sekitar 0,4 mol; 0,37 mol; 0,36 mol dan 0,35 mol. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi ABTS yang bereaksi dengan antioksidan kurang dari 1 mol, hal ini dikarenakan terlalu banyak dilakukan pengenceran pada ABTS maupun pada sampel dan tidak memperhatikan selang waktu reaksi radikal dengan antioksidan.

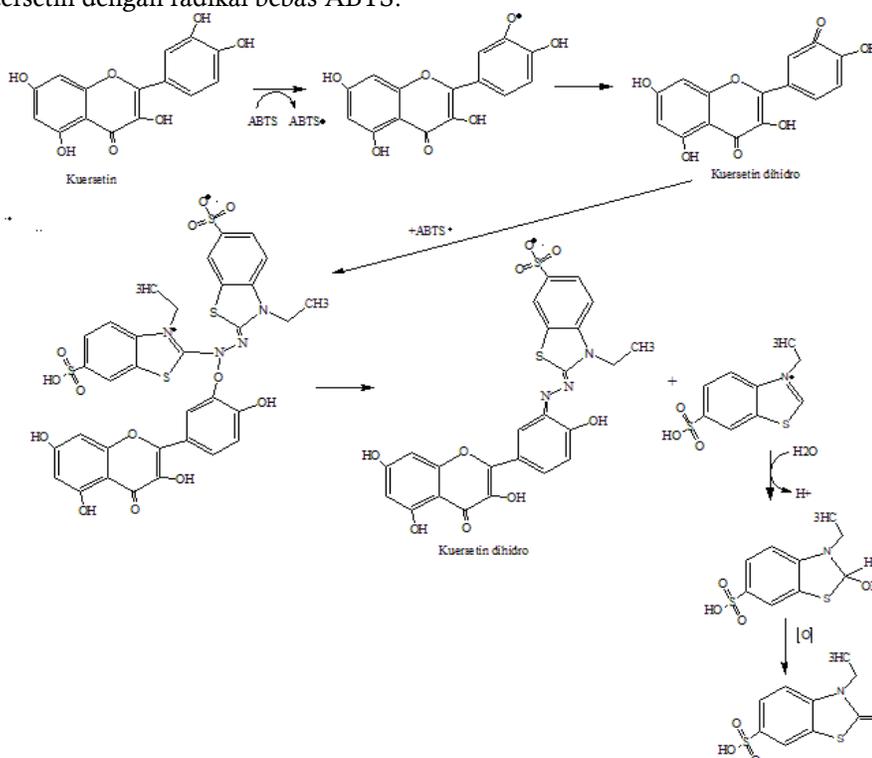
Rendahnya konsentrasi ABTS juga ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang rendah, menurut hukum Lambert Beer mengukur serapan pada panjang gelombang maksimal, kisaran absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaklah antara 0,2 – 0,8 nm, apabila hasil diluar rentang tersebut dilakukan pengenceran (bila terlalu besar nilai serapan) atau dipekatkan (bila nilai serapan terlalu kecil). Penelitian selanjutnya sangat disarankan untuk tidak melakukan pengenceran pada larutan stok ABTS saat dilakukan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV – Vis, yaitu pengukuran serapan sampel dilakukan dengan menggunakan 1ml ABTS dari larutan stok kemudian ditambahkan sampel. Konsentrasi sampel sebaiknya juga lebih ditingkatkan agar kenaikan persentase peredaman lebih

signifikan. Blanko yang digunakan untuk pengukuran sebaiknya 1 ml ABTS dari larutan stok ABTS. Saat melakukan pengukuran serapan panjang gelombang perlu diperhatikan selang waktu radikal bereaksi dengan antioksidan agar menghindari penurunan serapan panjang gelombang.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan kuersetin, ekstrak etanol, etil asetat dan isolat daun jambang (*Syzygium cumini* L.) Skeel.

Konsentrasi (ppm)	Sampel	Absorbansi (nm)	% Peredaman
10	Blanko	0,062	
	Kuersetin	0,04	35,48
	Etanol	0,047	24,19
	Etil Asetat	0,038	38,71
	Isolat	0,045	27,42
20	Kuersetin	0,039	37,1
	Etanol	0,046	25,81
	Etil Asetat	0,036	41,93
	Isolat	0,043	30,65
	30	Kuersetin	0,037
Etanol		0,044	29,03
Etil Asetat		0,035	43,55
Isolat		0,042	32,26
40		Kuersetin	0,036
	Etanol	0,043	30,65
	Etil Asetat	0,033	46,77
	Isolat	0,04	35,48

Konsentrasi kuersetin untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah 10, 20, 30, 40 ppm. Berikut reaksi kuersetin dengan radikal bebas ABTS.



Gambar 4. Reaksi kuersetin dengan radikal ABTS

**Tabel 4.** Konsentrasi ABTS terorisitas dan dalam kuersetin

Konsentrasi sampel kuersetin	Massa ABTS dalam sampel (mg)	Konsentrasi ABTS penelitian (mol)	Konsentrasi ABTS teoritis (mol)	ABTS yang bereaksi (mol)
10	2,9	$5,6 \times 10^{-6}$	$1,46 \times 10^{-5}$	0,4
20	2,8	$5,4 \times 10^{-6}$		0,37
30	2,7	$5,2 \times 10^{-6}$		0,36
40	2,6	$5,05 \times 10^{-6}$		0,35

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan persentase peredaman sampel, tabel penentuan aktivitas antioksidan disajikan pada tabel 3. Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak daun jambang dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka persentase peredamannya akan semakin tinggi pula, hal ini dikarenakan kandungan flavonoid dalam sampel yang lebih tinggi mampu mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas (Indranila & Ulfah, 2015).

Menurut penelitian Rohadi *et al.*, (2016) total flavonoid total ekstrak etil asetat lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol, Flavonoid total ekstrak etil asetat sebesar 2,28% sedangkan pada ekstrak etanol hanya 0,33%. Persentase peredaman tertinggi ditunjukkan pada 40 ppm dengan sampel ekstrak etil asetat sebesar 46.77 %. Pada konsentrasi 10 ppm persentase peredamannya sangat rendah karena didalam konsentrasi 10 ppm hanya terdapat sampel sebanyak 50 μl , sedangkan untuk 40 ppm menggunakan sampel sebanyak 200 μl .

Hasil persentase peredaman pada beberapa ekstrak daun jambang menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki persentase peredaman tertinggi hal ini didukung oleh penelitian Ruan *et al* (2008) bahwa ekstrak etil asetat daun jambang lebih efektif dalam penghambatan radikal bebas. Penelitian selanjutnya disarankan untuk meningkatkan konsentrasi sampel saat pengujian agar sampel mampu meredam radikal bebas secara maksimum yang ditunjukkan dengan persentase peredaman aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengukuran TFC (*Total Flavonoid Content*) pengukuran dilakukan pada awal sebelum direaksikan dengan radikal bebas dan pada akhir setelah direaksikan dengan radikal. Pengukuran TFC (*Total Flavonoid Content*) sangat disarankan untuk dilakukan agar dapat diketahui flavonoid yang bereaksi dengan radikal ABTS.

Simpulan

Identifikasi isolat daun jambang (*Syzigium cumini L.*) menggunakan spektrofotometer UV – Vis dan FTIR menunjukkan bahwa isolat ekstrak daun jambang (*Syzigium cumini L.*) mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol dengan gugus hidroksi pada atom C-3', C-4', C-5', C-3, C-5, dan C-7, serta memiliki gugus C=O, C=C, dan C-H alifatik yang mengindikasikan mengandung senyawa myricetin. Ekstrak etanol, etil asetat isolat daun jambang (*Syzigium cumini L.*) Skeel menunjukkan adanya aktivitas antioksidan terhadap ABTS ditentukan dengan % peredaman.

Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan perlu dilakukan identifikasi lanjut menggunakan NMR dan LC-MS sehingga dapat ditetapkan secara jelas struktur dari isolat aktif tersebut. Pada penentuan aktivitas antioksidan sebaiknya menggunakan 1ml ABTS dari larutan stok ABTS untuk pengukuran blanko dan sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Saat melakukan pengukuran absorbansi harus lebih memperhatikan selang waktu reaksi.

Daftar Referensi

Arifin, H., Anggraini, N., Dian, H. & Rasyid, R. 2006. "Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia

- Cumini Merr". *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 11(2): 88-93.
- Clifford, J. C., Olaf, A. R., Malcom, M. C. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hayati, E. K. & Halimah, N., 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Plant Extract. *Alchemy*, 1(2): 80-81.
- Indranila & Ulfah, M. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica Pubescens*) dengan Metode Dpph Beserta Identifikasi Senyawa Alkaloid, Fenol Dan Flavonoid" *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 2(8): 105 – 111.
- Jusuf, E. 2010. Kandungan Kuersetin dan Pola Proteomik Varietas Jambu Batu (*Psidium guajava* L.) Tumbuh Liar Dikawasan Cibinong Bogor. *Berita Biologi*, 1(3).
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali, F., & Wiyono, W. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Phuchea Indica* L.). *Jurnal Pharmacon Unsrat*, 1(1): 47 – 52.
- Mastuti, R. 2015. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Celosia. *Bio Wallacea Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi*, 2(3): 143-148.
- Mursiti, S. 2015. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Antihiperqlikemik Sari Biji Mahoni (*Swieteniamacrophylla*, King). Disertasi Tidak Dipublikasikan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Rohadi, Raharjo, S., Falah, I.I., & Santoso, U. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Duwet (*Syzygium cumini* Linn.) Pada Peroksidasi Lipida Secara In Vitro. *Jurnal Agritech*. 36(1): 30-37.
- Ruan, Z. P., Zhang, L. L., & Lin, Y. M. 2008. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. *Molecules* (Basel, Switzerland), 13(10): 2545-2556. <https://doi.org/10.3390/molecules13102545>
- Sami, F. & Rahimah, S. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan. Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L.var.*Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-pycryhidrazil) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)". *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2): 107-110.
- Sami, F. J., Nur, S., Ramli, N. & Sutrisno, B. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidan Power). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 9(2): 106-111.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press, 10-14.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M. & Kaur, H., 2011, Phytochemical screening and Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Sciencia*. 1(1): 98-106.
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *Al Kimia*, 2(1): 9-17.