

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi *n*-Heksan, Etil asetat, dan Air Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Ning Rusmiyati

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Korespondensi penulis: ningrusmiyati21@gmail.com

Desy Ayu Irma Permatasari

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Isna Nur Khasanah

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Alamat: Jl. Pinang Raya Turi, Cemani, Kec. Grogol, Kab. Sukoharjo, Jawa Tengah 57552

Abstract. Free radicals work by binding to molecules or cells in the body and are very dangerous because they can damage cells in the body and trigger disease. Antioxidants are compounds that can counteract the effects of free radicals. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanol extract and the *n*-hexane, ethyl-acetate and water fractions of Australian guava peel (*Psidium guajava* L.). Extraction was carried out by maceration method using 70% ethanol. The skin of the Australian guava (*Psidium guajava* L.) contains alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoids and saponins. Fractionation was carried out with solvents based on polarity differences obtained by the *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and air fraction. Antioxidant test by inhibiting DPPH free radicals (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) on ethanol extract and *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and air at several concentrations, namely 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, and 250 ppm. The IC_{50} calculation results obtained for the ethanol extract were 4.406 $\mu\text{g/mL}$, the *n*-hexane fraction was 4.131 $\mu\text{g/mL}$, the ethyl acetate fraction was 3.812 $\mu\text{g/mL}$ and the air fraction was 3.312 $\mu\text{g/mL}$. The antioxidant activity with the best IC_{50} value was the fraction air.

Keywords: Antioxidants, DPPH, Australian guava skin.

Abstrak. Radikal bebas bekerja dengan cara mengikat molekul atau sel dalam tubuh dan sangat berbahaya karena dapat merusak sel-sel pada tubuh dan memicu terjadinya penyakit. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal pengaruh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil-asetat dan air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Fraksinasi dilakukan dengan pelarut berdasarkan perbedaan kepolaran diperoleh fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Uji antioksidan dengan penghambatan radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) terhadap ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan air pada beberapa konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. Hasil perhitungan IC_{50} yang diperoleh untuk ekstrak etanol adalah 4,406 $\mu\text{g/mL}$, fraksi *n*-heksan adalah 4,131 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat adalah 3,812 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi air adalah 3,312 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} paling baik yaitu fraksi air.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Kulit jambu biji Australia.

LATAR BELAKANG

Kebiasaan mengonsumsi makanan cepat saji dan gaya hidup tidak sehat merupakan salah satu sumber penyebab terbentuknya senyawa radikal bebas, sehingga tanpa disadari bahaya radikal bebas terus menerus mengintai kesehatan manusia. Pembentukan radikal bebas dihasilkan dari metabolisme tubuh yang merupakan faktor internal dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran UV, zat pemicu radikal dalam makanan dan polutan lainnya. Radikal bebas bekerja dengan cara mengikat molekul atau sel dalam tubuh dan sangat berbahaya karena dapat merusak sel-sel pada tubuh dan memicu terjadinya penyakit (Badarinath *et al.*, 2010).

Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas ini bisa dinetralkan dan tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh (Rahmi, 2017). Tubuh manusia sebenarnya memproduksi beberapa jenis enzim antioksidan yaitu superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, namun jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebihan sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen (Siagian, 2012).

Antioksidan eksogen dibagi menjadi 2 berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik, antara lain *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) (Sen *et al.*, 2010). Antioksidan alami adalah sumber antioksidan luar yang dibutuhkan oleh tubuh dan berfungsi untuk mencegah terjadinya radikal bebas. Salah satunya adalah antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman (Handayani *et al.*, 2020). Seperti buah, sayuran vitamin C, betakaroten, vitamin E, serta flavonoid (Nurmalasari *et al.*, 2016).

Jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) merupakan salah satu jenis jambu biji yang dapat tumbuh di daerah tropis. Sebagian masyarakat menjadikan jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) sebagai tanaman hias di halaman rumah karena memiliki ciri-ciri khas yaitu akar, batang, daun dan buah berwarna merah kecoklatan. Tetapi, banyak masyarakat yang belum mengetahui akan manfaat dan khasiat yang terkandung di dalam jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.). Sehingga masyarakat memandang sebelah mata buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) ini.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Febryana, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC₅₀ dari

ekstrak etanol buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) yaitu 15,57 ppm. Selain itu, penelitian Akbar, (2019) tentang uji komponen metabolit sekunder yang terkandung di dalam buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) berdaging merah menggunakan pelarut etanol memiliki kandungan flavonoid, terpenoid, dan tanin. Sedangkan, penelitian Naseer *et al.*, (2018) yang menguji kandungan fitokimia pada buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) berdaging putih memiliki kandungan flavonoid, tanin, dan saponin.

Sehingga dari segi jenis ekstrak buah jambu biji Australia, merah dan putih yang sama-sama diekstraksi dengan pelarut etanol hasil terbaik ada pada ekstrak buah jambu biji Australia. Salah satu metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid dapat berlaku sebagai antioksidan karena sifatnya sebagai akseptor yang baik terhadap radikal bebas (Sathiskumar *et al.*, 2008).

Selama ini penelitian yang dilakukan hanya difokuskan pada bagian buah. Upaya pemanfaatan kulit buah belum digunakan secara maksimal oleh masyarakat. Senyawa kimia khususnya flavonoid sebagai antioksidan yang terkandung dalam bagian buah dapat tersebar pula dibagian kulitnya. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan mengkaji bagian kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% dan fraksi n-heksan, etil-asetat dan air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.).

KAJIAN TEORITIS

Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tanaman jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) adalah sebagai berikut (Parimin, 2007) :

- Kingdom : *Plantae*
- Division : *Magnoliophyta*
- Class : *Magnoliopsida*
- Subclass : *Rosidae*
- Ordo : *Myrtales*
- Family : *Myrtaceae*
- Genus : *Psidium*
- Spesies : *Psidium guajava* L.



Gambar 1. Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.)

Morfologi

Jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mempunyai ciri-ciri yang khas yaitu akar, batang, daun dan buah berwarna merah kecoklatan. Jambu biji Australia tergolong dalam tanaman perdu yang memiliki tinggi 3-7 meter dengan batang tumbuh tegak, memiliki percabangan dan ranting (Febryana, 2020). Daun jambu biji Australia berbentuk bulat memanjang dengan ukuran 12 sampai 13 cm dan lebar 6 sampai 7 cm (Parimin, 2007), berjenis daun tunggal dengan ujung daun tumpul, pangkal membulat, tepi rata berhadapan, dan tulang daun menyirip berwarna hijau kemerahan. Memiliki batang berkayu, kulit batang licin, bercabang dan berwarna merah keunguan. Batang tumbuh tegak dan memiliki percabangan serta ranting. Kulit pada batang serta cabang memiliki warna coklat keabu-abuan dan pada bagian kulit memiliki tekstur yang mudah terkelupas. Bunga merupakan bunga tunggal dengan bentuk seperti corong yang terletak di bagian ketiak daun. Mahkota bunga memiliki panjang $\pm 1,5$ cm dengan bentuk bulat telur. Buah tipe buni dengan bentuk bulat telur, memiliki biji yang kecil dan keras (Febryana, 2020).

Kandungan Kimia

Menurut Seo *et al.*, (2014), dalam penelitiannya menyatakan bahwa daun jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mengandung bermacam-macam komponen senyawa kimia terutama senyawa tanin, guaijaverin, karotenoid, flavonoid, terpenoid, dan triterpenoid. Sedangkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Febryana, (2020), membuktikan bahwa uji fitokimia pada ekstrak etanol daun jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid; ekstrak etanol buah mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin; ekstrak metanol daun

mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid; serta ekstrak metanol buah diantaranya flavonoid, tanin, alkaloid dan steroid.

METODE PENELITIAN

Subjek penelitian ini adalah Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*) dengan pengambilan sampel di Sukosari, Jumantono, Karanganyar. Metode penelitian ini bersifat deskriptif eksperimen. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol dan fraksi (n-heksan, etil asetat dan air) dari Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*) yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven (*Labo DO 225*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10UV*), corong pisah (*Pyrex*), beker gelas (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), *moisture balance (MB 45)*, *rotary evaporator (Buchi)*, *water bath (Memmert)*, timbangan analitik (*Sartorius*), aluminium foil, kertas Whatman No.1, blender (*Niko*), ayakan 60 mesh, rak tabung, pipet ukur (*Pyrex*), pinset.

Bahan yang digunakan adalah kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) etanol 70%, n-heksan, etil asetat, air suling (aquadest), serbuk magnesium, HCl pekat, pereaksi *dragendorf*, pereaksi *mayer*, HCl 2N, FeCl₃ 5%, kloroform, n-butanol, AlCl₃, asam sulfat pekat, asam format, anhidra asetat, H₂SO₄, serbuk DPPH, dan serbuk asam askorbat.

Prosedur Kerja

a. Penyiapan Bahan

Pengumpulan Bahan

Sampel 1,722 kg kulit adalah Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*) dari Sukosari, Jumantono, Karanganyar.

Determinasi

Determinasi simplisia tanaman buah naga dilakukan uji determinasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel buah jambu biji Australia dilakukan pada pagi hari, dengan cara dipetik satu persatu secara manual menggunakan tangan. Sampel buah jambu biji Australia dibersihkan dari kotoran yang melekat pada buah, dagingnya dipisahkan kulit, menggunakan air mengalir lalu kemudian dirajang 1 cm dan dijemur dibawah sinar matahari tidak langsung. Simplisia yang sudah kering dan dihaluskan menggunakan blender lalu diayak kemudian disimpan ditempat kering dan tertutup rapat.

b. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Susut Pengerinan

Ditimbang sebanyak 2 gram serbuk kulit jambu Australia dimasukkan kedalam krus porselin tertutup yang sebelumnya sudah dipanaskan pada oven suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Persyaratan susut pengerinan tidak melebihi nilai yang telah ditetapkan yaitu <10% (Eriandi *et al.*, 2015).

Kadar Air

Pemeriksaan kadar air serbuk kulit jambu biji Australia dilakukan dengan menggunakan *Moisture Balance*. Ditimbang 2 gram serbuk kulit jambu biji Australia masukkan dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, atur suhu 105°C dan proses pengerjaan selama 10 menit. Kadar air simplisia kulit yang baik adalah kurang dari 8% (Agoes, 2009).

c. Ekstraksi Metode Maserasi

Sebanyak 317 gram serbuk kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) ditimbang dan dimasukkan dalam toples maserasi dengan etanol 70%. Perbandingan serbuk dan pelarut yang digunakan adalah 1:10 (b/v) dan dilakukan selama 3×24 jam. Dilanjutkan dengan remaserasi sebanyak 2×24 jam hingga diperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan corong buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Nugroho, 2021).

d. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Pengujian Makroskopik

Dilakukan pengujian secara organoleptik yang meliputi sifat zat secara umum terutama bentuk, warna, bau dan rasa.

Uji Bebas Etanol

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol kulit jambu biji Australia dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat dan 2 tetes asam asetat (CH_3COOH) kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Agustie & Samsumaharto, 2013).

Susut pengeringan

Ditimbang sebanyak 2 gram ekstrak kulit jambu Australia dimasukkan kedalam krus porselin tertutup yang sebelumnya sudah dipanaskan pada oven suhu $105^\circ C$ selama 30 menit dan telah ditara. Persyaratan susut pengeringan tidak melebihi nilai yang telah ditetapkan yaitu $<10\%$ (Eriandi *et al.*, 2015).

Kadar Air

Pemeriksaan kadar air ekstrak kulit jambu biji Australia dilakukan dengan menggunakan *Moisture Balance*. Ditimbang 2 gram ekstrak kulit jambu biji Australia masukkan dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, atur suhu $105^\circ C$ dan proses pengerjaan selama 10 menit. Kadar air simplisia kulit yang baik adalah kurang dari 8% (Agoes, 2009).

e. Skrining Fitokimia dengan Tabung Reaksi

Uji Flavonoid. Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 0,01 gram serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat, bila bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah (Hanani, 2015).

Uji Alkaloid. Sebanyak 1 mL sampel ditimbang, ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Diambil 3 tabung reaksi dan dimasukkan 0,5 mL filtrat (Hanani, 2015). Tabung 1, ditambahkan 2 tetes pereaksi *Mayer*, bila positif akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Tabung 2, ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorff*, bila positif terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan. Tabung 3, ditambahkan 2 tetes pereaksi *Bouchardat*, bila positif akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.

Uji Tanin. Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan larutan $FeCl_3$ 5% bila bereaksi positif akan menghasilkan warna ungu atau hitam yang kuat (Hanani, 2015).

Uji Steroid/Triterpenoid. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 ml kloroform, 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi

positif adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna biru dan terbentuknya warna merah jingga atau ungu untuk positif adanya triterpenoid (Hanani, 2015).

Uji Saponin. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 10 mL air lalu dipanaskan selama 2-3 menit. Kemudian didinginkan, setelah dingin lalu dikocok dengan kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm (Hanani, 2015).

f. Analisa Kromatografi Lapis Tipis

Skrining fitokimia dengan metode KLT menggunakan fase diam plat KLT silika gel GF₂₄₅ dengan ukuran panjang 8 × 1 cm. Ekstrak etanol kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) ditotolkan pada jarak 0,5 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya (Fajriaty *et al.*, 2018).

Identifikasi Alkaloid. Fase gerak *n*-heksan-etil asetat-toluen (6:2:2), dengan pereaksi semprot (penampak noda) *dragendorff*. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya spot berwarna jingga pada sinar tampak pada spot berfluoresensi merah pada UV 366 nm (Widyaningsih *et al.*, 2016).

Identifikasi Flavonoid. Fase gerak CHCl₃-etil asetat (6:4), dengan pereaksi semprot (penampak noda) AlCl₃ 10%. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya spot warna kuning pada sinar tampak dan spot berfluoroloresensi biru pada UV 366 nm (Sopiah *et al.*, 2019).

Identifikasi Fenolik/Tanin. Fase gerak toluene-aseton-asam formiat (3:3:4), dengan pereaksi semprot (penampak noda) FeCl₃ 5%. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya spot warna biru kehitaman pada sinar tampak dan pada tanin terkondensasi ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna hijau-kecoklatan (Sopiah *et al.*, 2019).

Identifikasi Terpenoid/Steroid. Fase gerak *n*-heksan-etil asetat (9:1), dengan pereaksi semprot (penampak noda) H₂SO₄ (asam sulfat) 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna keunguan/merah kecoklatan berfluoroloresensi hijau kebiruan jika diamati dibawah sinar UV 366 nm (Sopiah *et al.*, 2019).

Identifikasi Saponin. Fase gerak CHCl_3 -metanol-air (6:3:1), dengan penampak noda yaitu *Lieberman Bouchardat*, baku pembanding yaitu Sapogenin. Jika timbul warna hijau setelah penyemprotan *Lieberman Bouchardat* menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid

g. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kulit jambu biji Australia dilarutkan dalam 150 mL air hangat kemudian dimasukkan dalam corong pisah kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana sebanyak 150 mL. Kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan *n*-heksan diatas), kemudian ambil lapisan *n*-heksana (replikasi 3 kali). Fraksi selanjutnya dilakukan penambahan etil asetat sebanyak 150 mL kedalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (Lapisan aquadest dibawah dan lapisan etil asetat diatas). Lalu diambil etil asetat (replikasi 3 kali). Fraksi etanol air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan diatas *waterbath* (Abdillah, 2020).

h. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pembuatan Larutan Stok DPPH 50 ppm

Ditimbang sebanyak 5 mg DPPH dilarutkan dengan 100 mL metanol pro analysis (p.a) dalam labu ukur.

Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 200 ppm

Ditimbang 2 mg vitamin C kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a pada labu ukur.

Pembuatan Larutan Stok Kulit Jambu Biji Australia 1000 ppm

Ditimbang 10 mg masing-masing dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a pada labu ukur.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 4 mL larutan stok DPPH, kemudian dilakukan scanning panjang gelombang dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum Vis 450-600 nm.

Penentuan Operating Time (OT) Vitamin C (Pembanding)

Larutan baku pembanding vitamin C 15 ppm dipipet 0,75 mL kemudian ditambah 2 mL larutan DPPH. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit selama 30 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil.

Pengukuran Aktivitas Pengikat DPPH dengan Vitamin C (Pembanding)

Pengukuran dilakukan dengan dipipet masing-masing 100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 400 μ L dan 500 μ L dari larutan stok vitamin C kemudian dicukupkan masing-masing hingga volume 10 mL labu ukur dengan metanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Dari larutan tersebut kemudian diambil 1 mL larutan dan ditambah 2 mL larutan stok DPPH. Larutan tersebut diinkubasi selama 15 menit dan diukur serapan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

Pengukuran Aktivitas Pengikat DPPH dengan Ekstrak dan Fraksi Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.)

Pengukuran dilakukan dengan dipipet masing-masing 500 μ L, 1000 μ L, 1500 μ L, 2000 μ L dan 2500 μ L dari larutan stok ekstrak dan Fraksi kulit jambu biji Australia kemudian dicukupkan masing-masing hingga volume 10 mL labu ukur dengan metanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 2500 ppm. Dari larutan tersebut kemudian diambil 1 mL larutan dan ditambah 2 mL larutan stok DPPH. Larutan tersebut diinkubasi selama 15 menit dan diukur serapan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

i. Analisis Data

Dari hasil pembanding uji antioksidan kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) dibuat fraksi *n*-heksan, fraksi etil-asetat dan fraksi air dibuat dengan konsentrasi melalui standarisasi simplisia dan ekstrak meliputi pengujian makroskopik, uji bebas etanol, susut pengeringan, dan kadar air.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Determinasi

Sampel uji buah jambu biji Australia yang digunakan terlebih dahulu telah dilakukan uji determinasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu. Hasil dari determinasi yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar Buah Jambu Biji Australia.

2. Preparasi Sampel Buah Kulit Jambu Biji Australia

Buah jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) yang sudah matang dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dikupas diambil bagian kulitnya, lalu dijemur di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutup kain hitam selama kurang lebih 3 hari. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam tanaman, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan simplisia oleh mikroorganisme. Setelah kering simplisia disimpan pada tempat yang kering dan tertutup.

Tabel 1. Bobot Basah Terhadap Bobot Kering Kulit Jambu Biji Australia

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%) b/b
1,722	0,469	27,23

Berdasarkan tabel 1 dapat dijelaskan dari pengambilan kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) pada bobot basah yaitu 1,722 kg setelah melalui tahap pengeringan didapatkan bobot kering dari kulit jambu biji Australia yaitu 0,469 kg. Sehingga di dapatkan jumlah rendemen adalah 27,23% b/b.

3. Data Karakteristik Simplisia

Susut Pengeringan

Pengukuran susut kering pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit jambu biji Australia sebesar 8,2%.

Kadar Air

Pengukuran kadar air pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat moisture balance dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit jambu biji Australia sebesar 3,69%.

4. Ekstraksi

Serbuk simplisia kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3×24 jam dan dilakukan remaserasi selama 2×24 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental. Berikut merupakan presentase rendemen ekstrak kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 2. Presentase Rendemen Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%) b/b
317	144,58	45,61%

Berdasarkan tabel 2 dapat dijelaskan bahwa bobot serbuk kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) adalah 317 gram. Setelah itu serbuk dibuat ekstrak hasil bobot ekstrak didapatkan 144,58 gram. Sehingga di dapatkan jumlah rendemen adalah 45,61% b/b.

5. Data Karakteristik Ekstrak

Pengujian Makroskopik

Terhadap ekstrak kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) diuji makroskopik secara organoleptis. Pengujian makroskopik ekstrak dideskripsikan menggunakan panca indera untuk mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2000). Hasil pengujian makroskopik ekstrak kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 3 Hasil Pengujian Makroskopik Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia (*Psidium guajava L.*)

Gambar	Parameter	Ekstrak
	Bentuk	Ekstrak kental
	Warna	Coklat kehitaman
	Bau	Jambu biji menyengat
	Rasa	Pahit

Sumber: Data mentah yang diolah

Selanjutnya ekstrak dilakukan uji karakteristik ekstrak meliputi uji bebas etanol, susut pengeringan dan penetapan kadar air.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi (Kurniawati, 2015).

Tabel 4. Identifikasi Uji Bebas Etanol

Identifikasi	Prosedur	Hasil
Uji bebas etanol	Ekstrak + H ₂ SO ₄ (p) + CH ₃ COOH → dipanaskan	Tidak tercium bau ester

Berdasarkan tabel identifikasi uji bebas etanol diatas menunjukkan bahwa hasil uji ekstrak kental kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) yang diperoleh tidak tercium bau ester, hasil tersebut dapat dikatakan ekstrak kental kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) sudah bebas etanol.

Susut Pengeringan

Pengukuran susut kering pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit jambu biji Australia sebesar 2,8%.

Kadar Air

Pengukuran kadar air pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat moisture balance dan diperoleh presentase kadar air dari serbuk kulit jambu biji Australia sebesar 1,70%.

6. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Uji Alkaloid

Hasil penelitian yang telah dilakukan tabung 1 menghasilkan warna coklat kehitaman dan tidak terdapat endapan sedangkan pada tabung 2 menghasilkan jingga gelap dan tabung 3 menghasilkan jingga kecoklatan sehingga dapat disimpulkan positif dan kulit jambu biji Australia mengandung alkaloid.

Uji Flavonoid

Terbentuknya warna merah setelah dilakukan penambahan serbuk Mg + HCl pekat.

Uji Saponin

Hasil penelitian kulit jambu biji Australia mengandung saponin sehingga didapat hasil positif, karena terbentuk buih dan buih tidak hilang setelah penambahan HCl.

Uji Tanin

Hasil penelitian menunjukkan warna biru kehitaman sehingga ekstrak kulit jambu biji Australia hasil menunjukkan positif mengandung tanin.

Uji Steroid/ Triterpenoid

Hasil penelitian terbentuk cincin warna kuning emas dan putih sehingga hasil menunjukkan negatif pada ekstrak atau serbuk kulit buah naga merah.

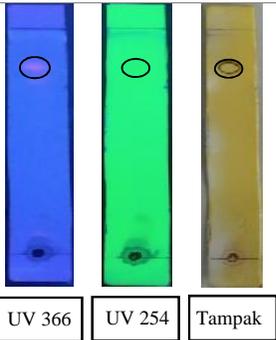
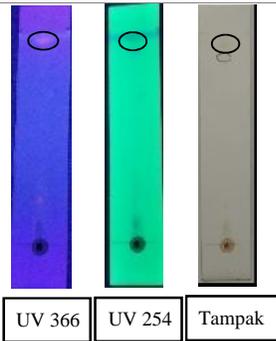
Tabel 5. Hasil identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia

No	Senyawa Kimia	Hasil Uji	Ekstrak	Referensi
1.	Alkaloid	Ekstrak + asam klorida 2 N + 9 mL air suling → dibagi tiga tabung (1, 2, dan 3) • Tabung 1 + pereaksi <i>Bouchardat</i> → sedikit endapan coklat kehitaman • Tabung 2 + pereaksi <i>Mayer</i> → endapan jingga gelap • Tabung 3 + pereaksi <i>Dragendroff</i> → jingga kecoklatan	+	• Ekstrak + pereaksi <i>Bouchardat</i> → endapan coklat kehitaman (Tiwari, <i>et al.</i> , 2011). • Ekstrak + pereaksi <i>Mayer</i> → endapan kuning (Tiwari, <i>et al.</i> , 2011) • Ekstrak + pereaksi <i>Dragendroff</i> → endapan jingga kecoklatan (Tiwari, <i>et al.</i> , 2011)
2.	Flavonoid	Ekstrak + HCl pekat + serbuk Mg → terbentuk warna merah	+	Ekstrak + HCl pekat + serbuk Mg → terbentuk warna jingga, merah muda atau merah (Hanani, 2015)
3.	Saponin	Ekstrak + aquadest + dipanaskan suhu 70°C + dikocok selama 5 menit → terbentuk buih, bertahan selama 10 menit	+	Ekstrak + aquadest + HCl 2N → buih selama tidak kurang 10% (Hanani, 2015)
4.	Tanin	Ekstrak + aquadest + FeCl ₃ 1% → terbentuk warna hitam tinta/hitam kuat	+	Ekstrak + aquadest + FeCl ₃ 1% → ungu atau hitam yang kuat (Hanani, 2015)
5.	Triterpenoid	Ekstrak + kloroform + anhidrat asetat + asam sulfat pekat → terbentuk cincin warna jingga dan kuning	+	Ekstrak + kloroform + anhidrat asetat + asam sulfat pekat → kuning emas atau jingga (Jones, 2016).

7. Analisa Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia

Pada penelitian ini, skrining fitokimia juga dilakukan secara kualitatif dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah lempeng silika gel GF₂₅₄. Proses identifikasi dengan menggunakan KLT bertujuan untuk melihat pemisahan sampel berupa pola kromatogram yang khas pada ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut (eluen), serta memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Depkes RI, 2000). Ekstrak ditotolkan pada plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam chamber berisikan kombinasi pelarut (eluen) yang telah jenuh (Fajriaty *et al.*, 2018). Rentang nilai Rf yang baik adalah 0,2-0,8 karena jika nilai Rf di bawah atau di atas rentang tersebut akan ada gangguan terhadap visualisasi bercak yang berasal dari pelarut (Muttaqin *et al.*, 2016). Dari hasil pengamatan bercak plat KLT pada sinar UV 366, UV 254 dan sinar tampak maka didapatkan nilai Rf dari masing-masing plat KLT berdasarkan golongan senyawa metabolit sekundernya dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisa Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia

No	Senyawa Kimia	Fase Gerak	Hasil	Rf	Referensi (Fath, 2016)
1	Alkaloid	n-heksan : etil asetat : toluen (6:2:2)		0,78	0,07-0,62
2	Flavonoid	CHCl ₃ : etil asetat (6:4)		0,97	0,31-0,98

3	Saponin	CHCl ₃ : metanol : air (6:3:1)				0,92	0,57-0,92
			UV 366	UV 254	Tampak		
4	Tanin	toluene : aseton : asam formiat (3:3:4)				0,45	0,29-0,85
			UV 366	UV 254	Tampak		
5	Steroid	<i>n</i> -heksan : etil asetat (9:1)				0,57	0,50-0,89
			UV 366	UV 254	Tampak		

8. Fraksinasi

Hasil dari ekstraksi sampel kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas pelarutnya *n*-heksan, etil-asetat dan air adalah pelarut yang digunakan dalam fraksinasi pada penelitian ini. Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar dan air bersifat polar. Hasil fraksinasi dari kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) dapat dilihat pada tabel 7.

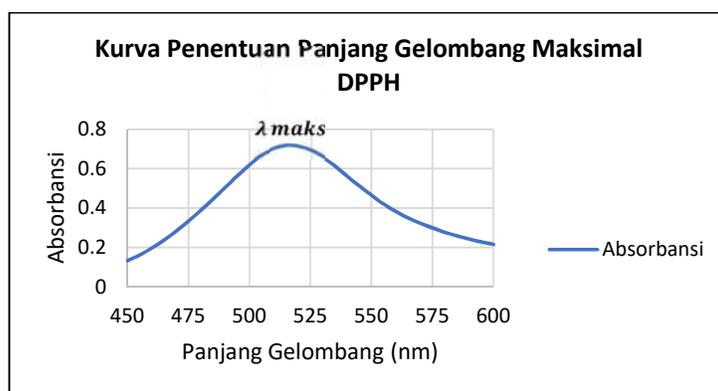
Tabel 7. Hasil Total Fraksi Ekstrak Kulit Jambu Biji Australia

Bobot ekstrak (gr)	Fraksi	Bobot fraksi (gr)	Rendemen (%) b/b
10	<i>n</i> -heksan	0,786	7,86
10	etil asetat	2,639	26,39
10	Air	6,170	61,70

Berdasarkan tabel 7 dapat dijelaskan bahwa bobot ekstrak kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) 10 gram dengan fraksi *n*-heksan didapatkan hasil bobot fraksi 0,786 gram dan rendemen 7,86% b/b. Untuk fraksi etil asetat didapatkan hasil bobot fraksi 2,639 gram dan rendemen 26,39% b/b. Sedangkan fraksi air didapatkan hasil bobot fraksi 6,170 gram dan rendemen 61,70% b/b.

9. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

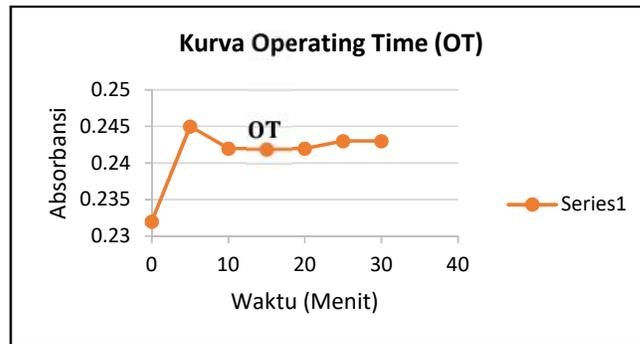
Hasil Pengukuran panjang Gelombang Maksimum

**Gambar 2.** Kurva Panjang Gelombang Maksimum

Dari hasil pengukuran panjang gelombang maksimum di dapat hasil absorbansi 0,719 pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan beberapa metode, pada penelitian ini metode yang digunakan adalah pengujian antioksidan dengan penangkap radikal bebas DPPH.

10. Penentuan *Operating Time* (OT) Vitamin C (Pembanding)

Hasil penentuan *operating time* maksimum vitamin C dapat dilihat pada lampiran 20. Kurva hubungan waktu dengan absorbansi vitamin C tersaji pada gambar 2.



Gambar 3. Kurva Hubungan Waktu Dengan Absorbansi Vitamin C

Pengukuran OT dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-30 pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Kurva pada gambar 4.2 memperlihatkan nilai absorbansi vitamin C yang stabil dari menit ke-10 sampai menit ke-20. Pengukuran *operating time* didapat pada menit ke-15 dengan nilai absorbansi 0,242. Hal ini menunjukkan bahwa selama 15 menit tersebut vitamin C berada dalam keadaan yang stabil sehingga pengukuran absorbansi yang dilakukan selama waktu tersebut mempunyai reproduibilitas yang tinggi (Dewi, 2007).

11. Hasil Uji AKtivitas Antioksidan Vitamin C (Pembanding)

Hasil panjang gelombang tersebut kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi sampel serta vitamin C untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai yang ditunjukkan untuk menunjukkan aktivitas antiradikal yang merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas.

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C (Pembanding)

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	% Inhibisi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
Vitamin C	2	0,356	50,486	2,023	Sangat Kuat
	4	0,304	57,719		
	6	0,246	65,785		
	8	0,167	76,773		
	10	0,121	83,171		

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} standar vitamin C sebagai pembanding mempunyai IC_{50} sebesar 2,023 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan uji aktivitas antioksidan kadar vitamin C dapat dilihat pada lampiran 21. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya.

12. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) dengan berbagai macam konsentrasi disebut dengan larutan stok. Larutan uji ini dibuat kedalam 5 seri konsentrasi. Masing-masing konsentrasi sampel dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Pengujian absorbansi peredaman radikal dilakukan dengan pembuatan seri konsentrasi terlebih dahulu pada ekstrak dan fraksi, kemudian ditambahkan DPPH pada setiap konsentrasi dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Pembacaan absorbansi pada penelitian ini dilakukan pada waktu *operating time* yang telah ditentukan yaitu menit ke-15 lalu dihitung persen peredamannya.

Hasil pengukuran absorbansi digunakan untuk mendapatkan nilai % inhibisi. Nilai % inhibisi digunakan untuk mencari nilai IC_{50} untuk menentukan kekuatan aktivitas antioksidan pada sampel yang diukur. Aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) dapat dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Concentration*). Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linear berdasarkan rumus $y = a + bx$, dimana y dinyatakan sebagai % inhibisi dan x sebagai konsentrasi dengan nilai R . Syarat nilai R yang baik adalah nilai R yang mendekati angka 1 (Saifudin, 2011). Dari persamaan regresi yang dihasilkan dapat dihitung nilai IC_{50} .

Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Kategori
Ekstrak	50	0,697	3,059	4,406	Sangat kuat
	100	0,587	18,358		
	150	0,523	27,260		
	200	0,407	43,393		
	250	0,338	52,990		
Fraksi <i>n</i> -heksan	50	0,543	24,478	4,131	Sangat kuat
	100	0,496	31,015		
	150	0,415	42,280		
	200	0,369	48,678		
	250	0,310	56,884		
Fraksi etil asetat	50	0,637	11,404	3,812	Sangat kuat
	100	0,546	24,061		
	150	0,461	35,883		
	200	0,350	51,321		
	250	0,221	69,262		
Fraksi air	50	0,647	10,013	3,312	Sangat kuat
	100	0,554	22,948		
	150	0,410	41,029		
	200	0,263	63,421		
	250	0,120	83,310		

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa ekstrak dan fraksi kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap antioksidan. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil-asetat, dan fraksi air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) berturut-turut adalah 4,406 µg/mL, 4,131 µg/mL, 3,812 µg/mL, dan 3,312 µg/mL. Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan (Agustina *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan suatu senyawa berbanding terbalik dengan nilai IC₅₀ artinya, makin tinggi aktivitas antioksidan yang terkandung maka nilai IC₅₀nya semakin rendah (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian sampel ekstrak dan fraksi kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*) menunjukkan bahwa fraksi air mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,312 µg/mL paling baik dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava L.*). Hal ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang terekstrak pada masing-masing pelarut. Dimana pada fraksi air mengandung senyawa fenol, flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin (Asra *et al.*,

2019), hal ini terjadi karena penggunaan pelarut air yang bersifat polar dapat mengekstrak senyawa polar. Senyawa flavonoid yang memiliki potensi antioksidan seperti kaempferol, alkaloid seperti papaverine dan saponin seperti alfa-hederin (Sudarmi *et al.*, 2017). Saponin merupakan metabolit sekunder dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman dan berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri dan antivirus (Smith *et al.*, 2014). Sementara alkaloid banyak ditemukan pada tanaman dan mengandung atom hidrogen dalam bentuk heterosiklik. Alkaloid memiliki efek farmakologi seperti sebagai antioksidan, antibakteri dan antivirus (Cushnie *et al.*, 2014).

Menurut Bahriul *et al.*, (2014) bahwa semakin banyak metabolit sekunder yang terkandung, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat pertumbuhan (umur tanaman) mempengaruhi metabolit sekunder yang memiliki senyawa aktivitas antioksidan. Dari berbagai senyawa yang terkandung dalam fraksi air tersebut diduga menyebabkan adanya sinergisme, sehingga dapat membuat antioksidan pada fraksi air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) stabil. Senyawa bioaktif yang terdapat pada fraksi air kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) berpotensi sebagai antioksidan dalam menangkalkan radikal bebas DPPH. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewi, (2022) tentang aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi buah tomat, dimana didapatkan fraksi air buah tomat mempunyai nilai IC_{50} yang paling baik yaitu sebesar 4,052 $\mu\text{g/mL}$.

KESIMPULAN

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) adalah Alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Ekstrak etanol kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} adalah 4,406 $\mu\text{g/mL}$, fraksi n-heksan adalah 4,131 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat adalah 3,812 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi air adalah 3,312 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi air dari ekstrak kulit jambu biji Australia (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} paling baik yaitu 3,312 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada tim peneliti dan pihak-pihak yang terlibat hingga naskah ini dipublikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, A. N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Dan Fraksi Dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Colla.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. 21(1), 1–9.
- Agustie, A. W. D., & Samsumaharto, R. A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 6(2), 14-19.
- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Irfan Hadi, M. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif Dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut Pada Metode Maserasi. *Biotropic The Journal Of Tropical Biology*, 2(2).
- Agoes G., (2009). *Teknologi Bahan Alam serial farmasi industri-2 edisi revisi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Akbar, S.A. (2019). Potensi Metabolit Sekunder Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Inhibitor Korosi Rumah Lingkungan pada Besi. *Chemical Engineering Research Articles*. 2(1).
- Asra, R., Azni, N. R., Rusdi, R., & Nessa, N. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kapulaga (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 2(1), 30-37.
- Badarinath, A. V, Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K. (2010). A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2 (2).
- Bahriul, P., Rahman, N. & Wahid, A., (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademi Kimia*, 3, pp.143–149.
- Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ., (2014). Alkaloids: An Overview af Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities. *Int J Antimicrob Agents*. 44(5):377–86.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta: Direktorat Jenderal POM.
- Dewi, R. S. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan-Etil Asetat-Air Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) dengan Metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). *Skripsi*. Universitas Duta Bangsa Surakarta.
- Dewi, S. A. (2007). Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Teh Hijau Melalui Pengkapan Radikal Hidroksil dengan Metode Deoksiribosa. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Eriandi, A., Helmi, A., & Barmitoni. (2015). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, 7, (2): 162-173.
- Fajriaty, I., Hariyanto, I. H., Andres, A., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur

- (*Calophyllum soulattri* Burm. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(1), 54-67.
- Fath, M. A. (2016). *Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Biji Adas (Foeniculum vulgare Mill), Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L.), Rimpang Kunyit Putih (Curcuma zedoaria (Berg). Roscoe), Herbal Pegagang (Centella asiatica) serta Ramuannya. Doctoral Dissertation. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.*
- Fathurrachman, D. A. (2014). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Prodi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.*
- Febryana, S. F. A. (2020). Uji Fitokimia Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji Ungu (*Psidium Guajava L.*) Menggunakan Pelarut Yang Berbeda. *Skripsi. Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.*
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia* (T. V. D. Hadinata dan A. Hanif). Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Handayani, S., Kurniawati, I., & Rasyid, F. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 141-150.
- Jones, E., Michael, S., & Sittampalam, G. S. (2016). Basics Of Assay Equipment and Instrumentation for High Throughput Screening. *Assay Guidance Manual.*
- Molyneux, P. (2004). The Use of Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antiooxidant Activity. *Songklanarin Journal of science and Technology*. 26 (2).
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., Rahman, M. 2018. The Phytochemistry and Medical Value of *Psidium guajava* L. (guava). *Clinical Phytoscience*. 4 (32).
- Nugroho, W. F. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Dr. Soebandi.*
- Nurmalasari, T., Zahara, S., Arisanti, N., Mentari, P., Nurbaeti, Y., Lestari, T., & Rahmiyani, I. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kupa (*Syzygium polycephalum*) Terhadap Radikal Bebas dengan Metode DPPH. *J. Kesehatan Bakti Tunas Husada.*, vol 16, 61–68.
- Parimin, S. P. (2007). *Budidaya Jambu Biji Merah*. Penebar Swadaya.
- Prakash, A. (2001). Antiooxidant Activity. *Analitycal Progress*. 19 (2).
- Rahmi, H. (2017). Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2 (1) : 34 – 38.
- Saifuddin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H., Y, (2011), *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu: Yogyakarta.

- Sathishkumar, M., Binupriya, A. R., Baik, S. H., & Yun, S. E. (2008). Biodegradation of Crude Oil by Individual Bacterial Strains and A Mixed Bacterial Consortium Isolated from Hydrocarbon Contaminated Areas. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 36(1), 92-96.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.*, vol 3 (1), 91–100.
- Seo, J., Lee, S., Elam, M.L., Johnson, S. A., Kang, J., Armandi, B. H., (2014). Study to Find the Best Extraction Solvent for Use With Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) for High Antioxidant Efficacy, *Food Science & Nutrition*, 2(2), pp. 174–180.
- Siagian, P. (2012). *Keajaiban Antioksidan*. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Smith, J. C., Nielson, K. A., Woodard, J. L., Seidenberg, M., Durgerian, S., Hazlett, K. E., & Rao, S. M. (2014). Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. *Frontiers In Aging Neuroscience*, 6, 61.
- Sopiah, B., Muliasari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27-33.
- Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*, 5(2), 47-51.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Preliminary Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Science*, 98–106.
- Widyaningsih, M. (2016). Identifikasi Kematangan Buah Apel Dengan *Gray Level Co-Occurrence Matrix* (GLCM). *Jurnal Saintekom*, 6(1), 71-88.