

PENGARUH SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI DENGAN GELOMBANG ULTRASONIK TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.)

*The Influence of Time and Temperature with Ultrasonic Waves on Antioxidant Activity of Extracts Guajava Leaves (*Psidium Guajava* L.)*

Sandra Sekarsari¹⁾, I Wayan Rai Widarta²⁾, Anak Agung Gede Ngurah Anom Jambe²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

²⁾Dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

ABSTRACT

This research was conducted to determine temperature and time extraction with ultrasonic waves on the antioxidant activity of guajava leaf extract and obtain the temperature and extraction time with ultrasonic waves that are appropriate to produce the highest antioxidant activity. The experimental design used in this research was a Factorial Completely Randomized Design with time treatment consisting of 3 levels, namely 10 minutes, 20 minutes and 30 minutes and temperatures consisting of 3 levels, namely 40°C, 45°C and 50°C. The treatment was repeated two times, so that 18 experimental units were obtained. Data were conducted using analyzed of variance and if treatment had a significant effect, followed by Duncan's test. The results showed that the interaction between temperature and time of extraction of guajava leaves with ultrasonic waves had a very significant effect ($P < 0.01$) on yield, total phenol, total flavonoids, total tannins and antioxidant activity of guajava leaves. The treatment of extraction temperature and extraction time of guajava leaves with ultrasonic waves had very significant effect ($P < 0.01$) on yield, total phenol, total flavonoids, total tannins and antioxidant activity of guajava leaves. The best results showed that temperature of 45°C with time 20 minutes result antioxidant activity based on 89.03 %, free radical inhibition percentage with IC_{50} values 3.55 mg/L, yield 16.26 %, total phenol was 331.77 mgGAE/g extract, total flavonoids was 637.33 mgQE/g extract and total tannins were 583.75 mgTAE/g.

Keywords : antioxidant, guajava leaves, temperature, time, ultrasonics,

PENDAHULUAN

Tanaman jambu biji merupakan tanaman yang memiliki sifat fungsional, hal ini karena bagian-bagian dari tanaman jambu biji mempunyai khasiat dan manfaat yang baik untuk kesehatan manusia. Salah satu bagian dari tanaman jambu biji yang banyak memiliki khasiat untuk kesehatan yaitu daun jambu biji. Daun jambu biji mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, fenolat dan minyak atsiri (Sudarsono *et al.*, 2002). Rosalina (2014) menyatakan bahwa daun jambu biji mengandung total fenol sebesar 267,272 mg GAE/g. Menurut Pratt dan Hudson (1990), senyawa fenolik dan

yang paling umum flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian Indriani (2006) bahwa ekstrak daun jambu biji lokal berdaging putih memiliki potensi antioksidan terbaik dibandingkan dengan daun jambu biji lokal berdaging merah yang diekstrak dengan etanol 70% secara maserasi.

Daun jambu biji dalam industri farmasi sering digunakan sebagai obat herbal yaitu obat diare, karena kandungan tanin yang banyak terdapat di dalamnya. Selain sebagai obat herbal, komponen bioaktif yang terkandung pada daun jambu biji dalam industri makanan dapat digunakan sebagai

*Korespondensi Penulis:

E-mail: sandrasekars@gmail.com¹⁾

antioksidan alami serta pewarna alami makanan dan minuman.

Komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan dapat diperoleh dengan metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan cara pemisahan komponen bioaktif dari larutannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, ultrasonik dan soxhletasi.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik. Metode ekstraksi dengan mempergunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16 kHz. Metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik diketahui memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode maserasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah kecepatan ekstraksinya, dibandingkan dengan ekstraksi secara termal atau konvensional. Metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar.

Faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi adalah suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan. Ibrahim *et al.* (2015), melaporkan peningkatan suhu dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan, suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama serta melampaui batas optimum dapat menyebabkan hilangnya senyawa-senyawa pada larutan karena terjadi proses oksidasi. Komponen bioaktif seperti flavonoid tidak tahan terhadap suhu tinggi di atas 50°C, sehingga mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah. Suhu ekstraksi yang terlalu rendah dan waktu ekstraksi yang terlalu singkat akan menyebabkan komponen bioaktif yang terekstrak dari bahan tidak maksimal sehingga komponen bioaktif yang diperoleh rendah (Yuliantari *et al.*, 2017).

Yuliantari *et al.*, (2017) melakukan penelitian tentang pengaruh suhu dan waktu

ekstraksi daun sirsak menggunakan ultrasonik melaporkan bahwa suhu 45°C dengan waktu 20 menit memberikan hasil yang terbaik dengan nilai rendemen, total flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian terkait pengaruh suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji menggunakan metode gelombang ultrasonik belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu diperlukan penelitian terkait suhu dan waktu ekstraksi dengan gelombang ultrasonik yang tepat untuk memperoleh aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak daun jambu biji.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Pangan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, dan Laboratorium Biosains, Universitas Udayana. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2018.

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) muda varietas pasar minggu yang berdaging putih yang diperoleh dari Desa Pancasari, Kabupaten Buleleng. Bahan kimia yang dipergunakan terdiri dari aquades, etanol PA (Merck), reagen Folin-Ciocalteu (Merck), reagen Folin Denis (Merck), Na₂CO₃ (Merck), NaNO₂ 5% (Merck), AlCl₃ 10% (Merck), NaOH 1M (Merck), air es, asam galat (Sigma), kuersetin (Sigma), asam tanat (Sigma) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) (Sigma).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari botol sampel, aluminium foil, kertas saring Whatman No. 1, *rotary vacuum evaporator* (IKA Labortechnik), pipet volume (pyrex), timbangan analitik (sartorius), spektrofotometer UV-VIS (Biochrom Libra), pipet tetes, *beaker glass* (pyrex), vortex, gelas ukur (pyrex), *erlenmeyer* (pyrex), labu ukur

(*pyrex*), corong kaca (*pyrex*), *ultrasonic bath* (Branson 2002), cawan porselen, blender (*Philips*), oven (*Labo DO 225*), loyang, *water bath*, tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung reaksi, kuvet, ayakan 60 mesh (*Retsch*), dan kertas label.

Pelaksanaan Penelitian

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan perlakuan suhu dan waktu. Faktor pertama yaitu suhu ekstraksi (S) terdiri dari 3 taraf yaitu: S1 : suhu ekstraksi 40°C, S2 : suhu ekstraksi 45°C, S3 : suhu ekstraksi 50°C. Faktor yang kedua yaitu waktu ekstraksi (W) yang terdiri dari 3 taraf yaitu: W1 : waktu ekstraksi 10 menit, W2 : waktu ekstraksi 20 menit, W3 : waktu ekstraksi 30 menit.

Perlakuan ini diulang sebanyak dua kali sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Data yang diperoleh pada penelitian ini selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dan apabila perlakuan berpengaruh nyata akan dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel and Torrie, 1993).

Persiapan Sampel

Daun jambu biji muda varietas pasar minggu yang berdaging putih disortasi, dicuci bersih kemudian dipotong-potong dan dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C selama 23 jam (kadar air sebesar 8,55%, dengan kriteria daun berwarna hijau pudar dibanding keadaan segar dan mudah hancur ketika diremas). Daun jambu biji yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh.

Ekstraksi Daun Jambu Biji

Bubuk daun jambu biji ditimbang sebanyak 15 gram dengan timbangan analitik, dimasukkan ke Erlenmeyer. Ditambahkan etanol 70% sebanyak 150 ml (1:10),

kemudian diekstraksi dengan kombinasi suhu 40°C, 45°C dan 50°C dengan waktu 10, 20, 30 menit menggunakan *ultrasonic bath*. Bubuk daun jambu biji yang telah diekstraksi dengan *ultrasonic bath* kemudian disaring menggunakan kertas whatman no.1. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan evaporasi. Evaporasi dilakukan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan tekanan 100 mbar, temperatur 40°C dan putaran 100 rpm (Hendryani *et al.*, (2015) yang telah dimodifikasi). Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemen ekstraknya kemudian ditempatkan di dalam botol, untuk selanjutnya dilakukan penentuan total fenol, total flavonoid, total tanin serta aktivitas antioksidan.

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi rendemen (AOAC, 1999), total fenol (Garcia *et al.*, 2007), total flavonoid (Xu dan Chang 2007), total tanin (Rajan *et al.*, 2011) dan aktivitas antioksidan (Mosquera *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun jambu biji. Perlakuan suhu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun jambu biji. Perlakuan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun jambu biji. Nilai rata-rata rendemen ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata rendemen ekstrak daun jambu biji (%)

Perlakuan Suhu (°C)	Waktu (menit)		
	10	20	30
40	10,95 ± 0,46 b B	14,32 ± 0,42 a B	12,99 ± 0,84 a B
45	12,86 ± 1,051 b A	16,26 ± 0,85 a A	13,54 ± 0,08 ab A
50	12,17 ± 0,80 b A	14,75 ± 0,70 a B	12,44 ± 0,56 b B

Keterangan : - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibawah nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).
- Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibelakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Tabel 1 menyatakan bahwa rendemen ekstrak daun jambu biji tertinggi didapat pada perlakuan ekstraksi dengan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 16,26%, sementara rendemen terendah terdapat pada perlakuan ekstraksi dengan suhu 40°C dengan waktu 10 menit yaitu 10,95%. Rendemen ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan. Suhu dan waktu ekstraksi yang tepat dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang tinggi. Semakin meningkat suhu ekstraksi yang digunakan hingga suhu 45°C dan waktu ekstraksi yang digunakan semakin lama hingga 20 menit akan menghasilkan rendemen ekstrak daun jambu biji yang tinggi. Apabila suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan melebihi batas optimum yaitu suhu 45°C dengan waktu 20 menit akan menyebabkan rendemen yang dihasilkan menurun. Suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama dan melebihi batas optimum akan menyebabkan hilangnya senyawa-senyawa yang tidak tahan panas karena terjadi oksidasi (Ibrahim *et al.*, 2015).

Suhu ekstraksi yang terlalu rendah yaitu 40°C dan waktu ekstraksi yang singkat yaitu

10 menit pada ekstraksi daun jambu biji akan menyebabkan komponen bioaktif yang terdapat pada daun jambu biji tidak terekstrak dengan maksimal karena proses difusi tidak berlangsung secara optimal sehingga komponen bioaktif masih banyak yang tertinggal di dalam bahan. Hal serupa telah dibuktikan oleh Yuliantari *et al.*, (2017) yang melaporkan bahwa rendemen ekstrak daun sirsak akan meningkat diikuti dengan suhu dan waktu ekstraksi yang meningkat hingga mencapai batas optimum.

Total Fenol

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap total fenol ekstrak daun jambu biji. Perlakuan suhu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap total fenol ekstrak daun jambu biji. Perlakuan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap total fenol ekstrak daun jambu biji. Nilai rata-rata total fenol ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata total fenol ekstrak daun jambu biji (mg GAE/g).

Perlakuan Suhu (°C)	Waktu (menit)		
	10	20	30
40	227,51 ± 6,01 b B	275,74 ± 6,01 a B	273,61 ± 7,02 a B
45	271,49 ± 5,01 c A	331,77 ± 7,02 a A	304,11 ± 6,01 b A
50	260,14 ± 8,02 b A	283,54 ± 1,00 a B	268,65 ± 2,00 ab B

Keterangan : - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibawah nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).
- Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibelakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Tabel 2 menunjukkan nilai rata-rata tertinggi total fenol diperoleh pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 331,77 mg GAE/g, sementara total fenol terendah terdapat pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 40°C dengan waktu 10 menit yaitu 227,52 mg GAE/g ekstrak. Semakin meningkat suhu hingga 45°C dan semakin lama waktu ekstraksi hingga 20 menit akan menyebabkan pelarut semakin mudah untuk menarik zat-zat kimia yang terdapat pada ekstrak sehingga menyebabkan kenaikan total fenol. Tetapi, suhu dan waktu yang melebihi kondisi optimum yaitu suhu 45°C dan waktu 20 menit akan menyebabkan penurunan total fenol, hal ini terjadi karena proses ekstraksi telah mencapai keadaan ekuilibrium, sehingga senyawa fenol yang terdapat dalam permukaan dan bagian dalam *solid* sudah tidak dapat terekstrak lagi (Margaretta *et al.*, 2011).

Pada suhu ekstraksi yang semakin tinggi akan menyebabkan kelarutan senyawa fenol dalam pelarut etanol semakin besar, selain itu suhu yang semakin tinggi akan menyebabkan jaringan dinding sel partikel *solid* semakin lunak sehingga akan mempermudah perpindahan *solute* ke pelarut. Tetapi, suhu yang terlalu tinggi yaitu lebih dari 45°C dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan total fenol (Margaretta *et al.*, 2011).

Proses ekstraksi dengan suhu ekstraksi yang terlalu rendah yaitu 40°C dan waktu ekstraksi yang singkat yaitu 10 menit pada ekstraksi daun jambu biji akan menyebabkan senyawa fenol yang terdapat pada daun jambu biji tidak terekstrak dengan maksimal karena proses difusi tidak berlangsung secara optimal sehingga senyawa fenol masih banyak yang tertinggal di dalam bahan. Sari *et al.*, (2012) melaporkan bahwa total fenol pada ekstrak *Kappahycus alvarezzi* akan meningkat diikuti dengan suhu dan waktu ekstraksi yang meningkat hingga mencapai batas optimum dan mengalami penurunan apabila melebihi batas optimumnya. Hasil total fenol pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan Rosalina (2014) yang melakukan penelitian terhadap kandungan fenol daun jambu biji dengan metode maserasi yang menghasilkan fenol sebesar 267,272 mg GAE/g.

Total Flavonoid

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak daun jambu biji. Perlakuan suhu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak daun jambu biji. Perlakuan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang

ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak daun jambu

biji. Nilai rata-rata total flavonoid ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata total flavonoid ekstrak daun jambu biji (mg QE/g).

Perlakuan Suhu (°C)	Waktu (menit)		
	10	20	30
40	414,00 ± 14,14 b B	584,00 ± 9,42 a B	577,33 ± 28,28 a AB
45	490,66 ± 18,85 b A	637,33 ± 9,42 a A	614,00 ± 14,14 ab A
50	480,66 ± 14,14 c A	620,66 ± 4,71 a A	540,66 ± 14,14 b B

Keterangan : - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibawah nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$).

- Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibelakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$).

Tabel 3 menunjukkan nilai rata-rata tertinggi total flavonoid diperoleh pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 637,33 mg QE/g, sementara total flavonoid terendah terdapat pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 40°C dengan waktu 10 menit yaitu 414,00 mg QE/g ekstrak. Semakin tinggi suhu ekstraksi hingga suhu 45°C dan semakin lama waktu ekstraksi hingga 20 menit akan menghasilkan total flavonoid yang tinggi. Suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi yang melewati batas optimum yaitu suhu 45°C dengan waktu 20 menit akan menyebabkan total flavonoid menurun, hal ini disebabkan karena terjadinya proses oksidasi terhadap senyawa flavonoid. Apabila suhu ekstraksi yang digunakan semakin rendah yaitu 40°C dan waktu ekstraksi yang digunakan semakin singkat yaitu 10 menit akan menyebabkan senyawa flavonoid pada bahan tidak akan terekstrak secara maksimal.

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi (Harborne, 1996 dalam Hudaya, 2015). Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Selain itu, beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida

dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Rijke, 2005).

Suhu dengan waktu ekstraksi yang terbaik dari penelitian ini adalah suhu 45°C dengan waktu 20 menit. Hal serupa juga dilaporkan oleh Yuliantari *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa suhu 45°C dengan waktu 20 menit merupakan suhu dan waktu yang optimum untuk memperoleh total flavonoid yang tertinggi pada daun sirsak.

Total Tanin

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total tanin ekstrak daun jambu biji. Perlakuan suhu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total tanin ekstrak daun jambu biji. Perlakuan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total tanin ekstrak daun jambu biji. Nilai rata-rata total tanin ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata total tanin ekstrak daun jambu biji (mg TAE/g).

Perlakuan Suhu (°C)	Waktu (menit)		
	10	20	30
40	402,50 ± 13,25 b B	477,50 ± 13,25 a B	471,25 ± 13,25 a B
45	483,75 ± 13,25 b A	583,75 ± 22,09 a A	543,12 ± 8,83 a A
50	455,62 ± 8,83 b A	524,37 ± 26,51 a AB	430,62 ± 8,83 c C

Keterangan : - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibawah nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

- Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibelakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Tabel 4 menyatakan bahwa nilai rata-rata tertinggi total tanin diperoleh pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 583,75 mg TAE/g, sementara total tanin terendah terdapat pada ekstraksi dengan perlakuan suhu 40°C dengan waktu 10 menit yaitu 402,50 mg TAE/g ekstrak. Semakin tinggi suhu ekstraksi yang digunakan hingga suhu 45°C dan semakin lama waktu ekstraksi hingga 20 menit akan menghasilkan total tanin semakin tinggi. Pada suhu dan waktu yang telah mencapai titik optimum yaitu suhu 45°C dengan waktu 20 menit, total tanin mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena proses ekstraksi total tanin pada suhu dan waktu tersebut sudah mencapai titik optimum, sehingga proses difusi sudah tidak berlangsung.

Proses ekstraksi dengan suhu ekstraksi yang terlalu rendah yaitu 40 °C dan waktu ekstraksi yang singkat yaitu 10 menit pada ekstraksi daun jambu biji akan menyebabkan senyawa tanin yang terdapat pada daun jambu biji tidak terekstrak dengan maksimal karena proses difusi tidak berlangsung secara optimal sehingga senyawa tanin masih banyak yang tertinggal di dalam bahan.

Aktivitas Antioksidan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap

aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji. Perlakuan suhu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji. Perlakuan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan nilai rata-rata tertinggi aktivitas antioksidan diperoleh pada perlakuan ekstraksi dengan suhu 45°C dengan waktu 20 menit yaitu 89,03% dan aktivitas antioksidan terendah terdapat pada perlakuan ekstraksi dengan suhu 40°C dengan waktu 10 menit yaitu 77,90%.

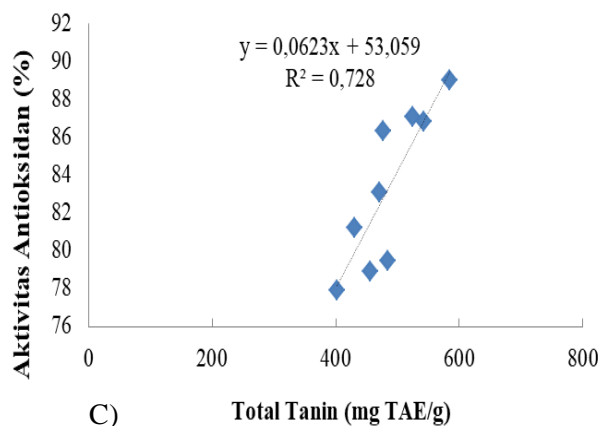
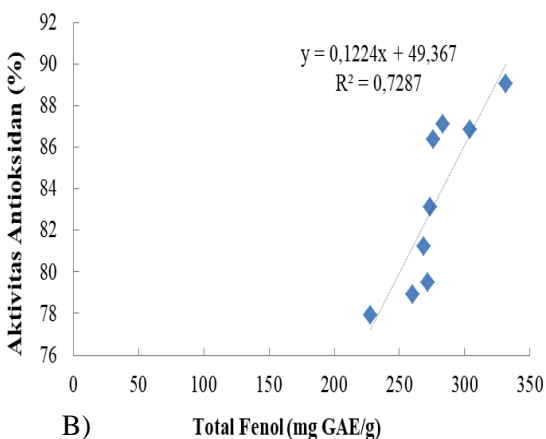
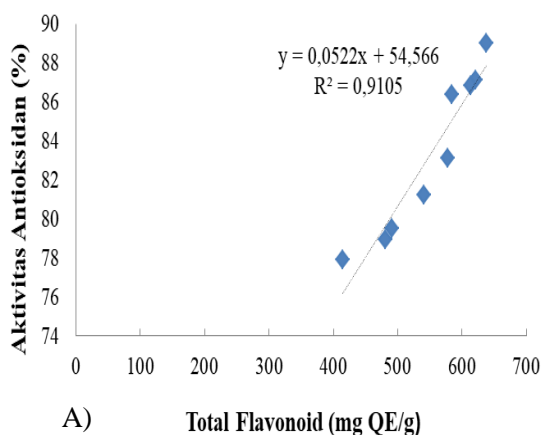
Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji meningkat seiring dengan meningkatnya senyawa yang bersifat antioksidan seperti total flavonoid, total fenol dan total tanin, tetapi setelah mencapai kondisi yang optimum, maka aktivitas antioksidan akan menurun selaras dengan penurunan senyawa yang bersifat antioksidan. Berdasarkan penelitian Kosakih (2017), proses pemanasan mampu mengekstrak lebih banyak senyawa antioksidan, tetapi proses pemanasan yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan aktivitas antioksidan.

Tabel 5. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji (%).

Perlakuan Suhu (°C)	Waktu (menit)		
	10	20	30
40	77,90 ± 0,82 c C	86,37 ± 0,14 a B	83,09 ± 0,41 b B
45	79,50 ± 0,61 c A	89,03 ± 0,43 a A	86,85 ± 0,21 b A
50	78,92 ± 1,03 b B	87,09 ± 0,57 a B	81,24 ± 0,84 b C

Keterangan : - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibawah nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata (P>0,05).
 - Nilai rata-rata yang diikuti notasi yang sama dibelakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata (P>0,05).

Penelitian ini, total flavonoid, total fenol dan total tanin memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH. Grafik hubungan antara total flavonoid, total fenol dan total tanin dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Gambar 1A, 1B dan 1C.



Gambar 1. Hubungan antara total flavonoid (A), total fenol (B) dan total tanin (C) dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji.

Gambar 1 menunjukkan korelasi antara total flavonoid dengan aktivitas antioksidan pada perlakuan suhu dan waktu ekstraksi. Koefisien korelasi (R²) antara total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji sebesar 0,9105, koefisien korelasi (R²) antara total fenol dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji sebesar 0,728 sedangkan koefisien korelasi (R²) antara total tanin dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji sebesar 0,728. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan menunjukkan korelasi yang kuat, sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji dipengaruhi oleh total flavonoid, total fenol dan total tanin. Addai *et al.*, (2013)

menyatakan bahwa nilai korelasi antara *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) terhadap aktivitas antioksidan sebesar $> 0,72$ merupakan korelasi yang kuat, sehingga disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh TPC dan TFC.

Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan, suhu 45°C dengan waktu 20 menit memberikan perlakuan yang terbaik berdasarkan nilai aktivitas antioksidan yang tinggi disertai dengan total flavonoid, total fenol dan total tanin yang juga tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain, sehingga perlakuan ini dipilih untuk diuji penentuan IC_{50} .

Berdasarkan analisis regresi linier konsentrasi ekstrak daun jambu biji dengan aktivitas antioksidan (%) didapatkan nilai IC_{50} sebesar 3,55 mg/L. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan antioksidannya. Menurut Blois (1958) suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 50$ mg/L, sehingga ekstrak daun jambu biji dalam penelitian ini termasuk dalam kategori sangat kuat. Nilai IC_{50} dari ekstrak daun jambu biji pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang dilaporkan Hidayati (2015) yaitu 8,29 mg/L. Lebih rendah juga dibandingkan dengan IC_{50} dari ekstrak etanol daun jambu biji yang dilaporkan oleh Rosalina (2014) yaitu sebesar 8,838 mg/L.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Interaksi antara suhu dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid, total tanin dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji.

2. Perlakuan suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi daun jambu biji dengan gelombang ultrasonik berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid, total tanin dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji.
3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu 45°C dengan waktu 20 menit mampu menghasilkan ekstrak daun jambu biji yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi berdasarkan persentase penghambatan radikal yaitu 89,03% dengan nilai IC_{50} sebesar 3,55 mg/L, rendemen sebesar 16,26%, total fenol sebesar 331,77 mgGAE/g ekstrak, total flavonoid sebesar 637,33 mgQE/g ekstrak dan total tanin sebesar 583,75 mgTAE/g ekstrak.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aplikasi ekstrak daun jambu biji pada produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Addai, Z.R., A. Abdullah dan S.A. Mutalib. 2013. Effect of extraction solvent on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. *J. of Medicinal Plants Research*. 7(47): 3354-3359.
- AOAC. 1999. Official Method of Analysis of Association Official Agriculture Chemist Washington DC.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *J. Nature*, 181 : 1199-1200.
- Dewi, R.A.S. 2011. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Tanin Pada Kulit Batang dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Secara Spektrofotometri Menggunakan Pereaksi Biru Prusia. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya.

- Garcia, C.A., G. Gavino, M.B. Mosqueda, P. Hevia dan V.C. Gavino. 2007. Correlation of tocopherol, tokotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *J. Food Chemistry*. 102: 1228-1232.
- Hendryani, R., M. Lutfi, L.C. Hawa. 2015. Ekstraksi antioksidan daun sirih merah kering (*Piper croctatum*) dengan metode pra-perlakuan ultrasonic assisted extraction (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 3(2):33-38.
- Hidayati, T. 2015. Penentuan Fraksi Aktif Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Sebagai Antioksidan. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor.
- Hudaya, T., A. Sabianto, S. Prasetyo. 2015. Tannin Removal by Hot Water as the PreTreatment of the Multi Stages Extraction of *Phaleria macrocarpa* Bioactive Compounds. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan. Fakultas Teknologi Industri UPN, Yogyakarta.
- Ibrahim, A.M., Yunita dan H.S. Feronika. 2015. Pengaruh suhu dan lama waktu ekstraksi terhadap sifat kimia dan fisik pada pembuatan minuman sari jahe merah dengan kombinasi penambahan madu sebagai pemanis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (2):530-541.
- Indriani, S. 2006. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *J. II. Pertanian Indonesia*. 11:1.
- Kosakih, F. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut, Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Aplikasinya Dalam Produk Hard Candy. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegija Pranata, Semarang.
- Margaretta, S., S.D. Hanyani, N. Indraswati dan H. Hindarso. 2011. Ekstraksi senyawa phenolic *Pandanus amaryllifolius* Roxb sebagai antioksidan alami. *Jurnal Widya Teknik*. 10(1):21-30.
- Mosquera, O.M., Y.M. Correa dan J. Nino. 2009. Antioxidant activity of plants extract from Colombian flora Braz. *J. Pharm*. 19(2A): 382-387.
- Pratt, D.E. dan B. J. F. Hudson. 1990. Natural Antioxidant Not Exploited Commercially of Food Antioxidant. Hudson (ed) Elsevier Applied Science, London.
- Rajan, S., S. Mahalakshmi, V. Deepa, K. Sathya, S. Shajitha dan T. Thirunalasundari. 2011. Antioxidant potentials of *punica granatum* fruit rind extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3:82-88.
- Rijke, E. 2005. Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application ti Plants of The Leguminosae Family. Disertasi. Tidak dipublikasikan. Universitas Amsterdam, Amsterdam.
- Rosalina, A.N. 2014. Korelasi Kandungan Fenolat dan Flavonoid Terhadap Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Metode DPPH dan FTC. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

- Sari, D.K., D.H. Wardhani dan A. Prasetyaningrum. 2012. Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu dan Waktu. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi ke 3. 1(1):40-44.
- Steel, R.G.D., dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. Penerjemah B. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka, Jakarta.
- Sudarsono, G.D., S. Wahyono, I.A. Donatus dan Purnomo. 2002. Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan). Pusat Studi Obat Tradisional-Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Xu, B.J. dan S.K.C. Chang. 2007. A Comperative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affectedby extraction solvents. Journal of Food Science. 72(2):159-166.
- Yuliantari, N.W.A., I.W.R. Widarta dan I.D.G.M. Permana. 2017. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan ultrasonik. Scientific Journal of Food Technology. 4(1): 35-42.