

**PENGARUH CARA PENGERINGAN TERHADAP PEROLEHAN
EKSTRAKTIF, KADAR SENYAWA FENOLAT DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DARI DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* Linn.)
(Effect of Drying Methods on Extractive Results, Phenolic Content and
Antioxidant Activity of Guava (*Psidium guajava* Linn.) Leaves)**

Harrizul Rivai¹⁾, Hazli Nurdin²⁾, Hamzar Suyani²⁾ dan Amri Bakhtiar¹⁾

¹⁾Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang

²⁾Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Padang

Abstract

*Effects of drying methods on extractive results, phenolic content and antioxidant activity in *Psidium guajava* Linn. leaves have been evaluated. The drying methods tested were air-drying at ambient temperature, oven-drying at 40 °C, oven-drying at 60 °C, and fresh samples as control. Results revealed that drying of the fresh plant caused the decrease of extractive result, phenolic content and antioxidant activity. There were significant differences among drying methods ($P < 0.05$). Amongst drying methods tested, the highest phenolic concentration was by oven-drying at 40 °C, whereas the highest extractive result and antioxidant activity were by oven-drying at 60 °C.*

*Keywords : Antioxidant, *Psidium guajava* Linn., drying methods, phenolic compounds*

Naskah diterima tanggal 9 Desember 2009, disetujui untuk dimuat 24 Mei 2010

Alamat korespondensi:

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang. email: harrizul@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) adalah salah satu tumbuhan obat Indonesia yang telah lama digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan berbagai penyakit seperti antidiare, astringens dan menghentikan perdarahan (1), disentri, haid tidak lancar, keputihan, mencret, pencernaan tidak baik pada anak-anak, radang usus, sariawan usus, panu (obat luar) dan sakit kulit (obat luar) (2). Daun jambu biji telah terbukti mempunyai berbagai efek farmakologis, antara lain analgesik dan antiinflamasi (3), antimutagenik (4), antidiare (5), antibatuk (6), antibakteri (5) dan antijamur (7). Malahan daun jambu biji telah terbukti secara klinis menghambat pertumbuhan rotavirus yang menyebabkan enteritis pada anak-anak (8) dan menyembuhkan kejang dan penyakit diare akut (9).

Efek farmakologis tersebut disebabkan oleh berbagai kandungan kimia dalam daun jambu biji seperti senyawa fenolat, flavonoid, karotenoid, terpenoid dan triterpen (5). Ekstrak kental daun jambu biji mengandung kuersitrin, minyak atsiri, tanin, β -sitosterol dan asam guaiakolat (10). Selain itu berbagai kajian fitokimia telah menemukan kandungan kimia daun jambu biji yang lebih rinci, antara lain kuersetin (11), morin, morin-3-O-likosida, morin-3-O-arabinosa, kuersetin-3-O-arabinosida (12), guaijavarin (13), guajadial (14), asam ferulat (15).

Karena pentingnya daun jambu biji dalam pengobatan, maka mutu, keamanan dan kemaanfaatannya harus ditingkatkan melalui penelitian dan pengembangan. Untuk meningkatkan mutu, keamanan dan kemanfaatan daun jambu biji sebagai obat bahan alam Indonesia, perlu dilakukan standarisasi terhadap bahan bakunya, baik yang berupa simplisia maupun yang berbentuk ekstrak atau sediaan galenik. Salah satu faktor yang mempengaruhi mutu adalah kondisi proses pengeringan tumbuhan obat terutama untuk yang berasal dari tumbuhan liar (16, 17).

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menentukan kondisi optimum pada pengeringan daun jambu biji menjadi simplisia yang bermutu baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa cara pengeringan daun jambu biji terhadap mutu simplisia. Parameter mutu simplisia yang diukur adalah perolehan ekstrak (rendemen ekstrak), kadar kandungan kimia (kadar senyawa fenolat) dan aktivitas biologis (aktivitas antioksidan) (18).

METODE

Bahan dan Alat

Bahan Tumbuhan. Daun jambu biji dikumpulkan dari daerah sekitar kampus Universitas Andalas, Limau Manih, Padang pada bulan Juli 2009. Tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas dan spesimennya disimpan di Laboratorium Kimia Farmasi, Universitas Andalas dengan Nomor Koleksi HR-20090702.

Bahan Kimia. Natrium karbonat p.a. (Merck), asam galat (Sigma), etanol p.a. (Merck), Reagen Folin-Ciocalteu (Merck), DPPH (Sigma) dan metanol p.a. (Merck).

Alat. Seperangkat alat rotary evaporator (Buchi[®]), oven (Memmert[®]), timbangan analitik (Shimadzu[®] AUX 220), alat spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu[®] 1240) dan shaker.

Cara Kerja

Perlakuan pengeringan tumbuhan

Daun jambu biji segar dicuci dan ditiriskan, kemudian dibagi menjadi empat bagian. Bagian pertama berupa sampel segar diekstraksi langsung dengan etanol 80%. Bagian kedua dikering-anginkan dalam udara terbuka pada suhu $\pm 25^\circ\text{C}$ sampai kadar air $< 10\%$. Bagian ketiga dikeringkan dalam oven pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$ sampai kadar

air < 10% dan bagian keempat dikeringkan dalam oven pada suhu ± 60 °C sampai kadar air < 10%.

Ekstraksi sampel

Sampel berupa tumbuhan segar atau yang telah dikeringkan dengan cara di atas (5 g) direndam dengan 50 mL etanol 80 % selama 15 menit kemudian dikocok dengan shaker selama 10 menit, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 1). Ampas dari sampel diekstraksi lagi dengan 50 mL etanol 80 % selama 10 menit kemudian dikocok selama 10 menit, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 2). Ampas tersebut dicuci lagi dengan 50 mL etanol 96 % lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 3). Ketiga filtrat dari tiap sampel digabung lalu diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu <50°C sampai kental. Sebelum dianalisis, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam labu ukur sampai 50 mL dengan campuran air suling : metanol (1:1).

Penentuan kadar ekstraktif (rendemen)

Penentuan kadar ekstraktif (rendemen ekstrak) yang diperoleh dengan berbagai cara pengeringan di atas dilakukan menurut metode WHO (18) sebagai berikut: Larutan ekstrak yang telah disiapkan dengan cara di atas dipipet sebanyak 10 mL ke dalam piring penguap yang telah ditara. Pelarutnya diuapkan di atas penangas air sampai kering. Sisanya dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang segera. Pengeringan dan penimbangan diulangi beberapa kali sampai diperoleh bobot konstan. Kadar ekstraktif (rendemen) dinyatakan dalam satuan mg ekstrak per gram simplisia kering (mg/g)

Penentuan kadar senyawa fenolat total

Kadar senyawa fenolat total dalam larutan ekstrak sampel ditentukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menggunakan prosedur yang dipakai Pourmorad *et al.* (19). Larutan encer masing-masing ekstrak tumbuhan obat (0,5 mL, ekstrak 1:10) atau larutan asam galat (senyawa fenolat standar) dicampur dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (5 mL, diencerkan 1:10 dengan air suling) dan larutan natrium karbonat (4 mL, 1 M). Campuran tersebut dibiarkan selama 15 menit dan kadar senyawa fenolat ditentukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 765 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 µg/mL dalam metanol-air (1:1). Kadar senyawa fenolat total dinyatakan sebagai mg senyawa fenolat setara asam galat per g simplisia kering (mg/g).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan obat ditentukan dengan metode DPPH yang digunakan oleh Mosquera *et al.* (20). Masing-masing ekstrak encer tumbuhan obat sebanyak 1 mL dicampur dengan 2 mL larutan DPPH (20 mg/L) yang baru dibuat. Masing-masing campuran itu dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Kemudian serapan masing-masing campuran itu diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai blanko, digunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan 1 mL metanol-air (1:1) dengan 2 mL larutan DPPH (20 mg/L). Untuk meniadakan serapan ekstrak pada panjang gelombang ini, sampel blanko dibuat dengan

mencampurkan 1 ml ekstrak dengan 2 ml metanol-air (1:1). Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus (1).

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{ekstrak}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\% \dots (1)$$

Di sini A_{kontrol} adalah serapan larutan DPPH tanpa ekstrak, A_{ekstrak} adalah serapan ekstrak uji yang sama dengan serapan ekstrak tumbuhan obat + DPPH dikurangi dengan serapan ekstrak blanko tanpa DPPH.

Nilai IC_{50} ekstrak tumbuhan obat ditentukan dengan mengukur persentase aktivitas antioksidan larutan ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 dan 6,76 mg/mL melalui analisis regresi linear. Nilai IC_{50} dihitung sebagai kadar larutan ekstrak tumbuhan obat yang menyebabkan aktivitas antioksidan sebesar 50%.

Analisis Statistik

Data percobaan dianalisis dengan menggunakan analisis variansi satu arah dan perbedaan antar rata-rata setiap perlakuan ditentukan dengan uji rentang berganda Duncan dengan menggunakan program komputer SPSS for Windows Version 17. Nilai P kecil dari 0,05 dianggap mempunyai perbedaan yang signifikan secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode analisis senyawa fenolat total

Pada penelitian ini, unjuk kerja dan validitas metode analisis kadar senyawa fenolat dalam ekstrak daun jambu biji dievaluasi terlebih dahulu. Kriteria yang digunakan untuk mengevaluasi metode analisis disebut *figures of merit* (21). Hasil evaluasi dan validasi metode tersebut menunjukkan persamaan regresi hubungan antara serapan (y) dan kadar senyawa fenolat (x) sebagai $y = 0,0158 + 0,0064 x$, dengan koefisien korelasi $r = 0,9967$, rentang linearitas 25 – 125 µg/mL, batas deteksi 11,172 µg/mL, batas kuantitasi 37,240 µg/mL, perolehan kembali 97% dan simpangan baku relatif 0,24%. Hasil evaluasi tersebut menunjukkan bahwa metode analisis untuk menentukan kadar senyawa fenolat secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu mempunyai ketepatan dan ketelitian yang tinggi sesuai dengan batas-batas unjuk kerja yang baik (22).

Pengaruh cara pengeringan terhadap perolehan kadar ekstraktif dan kadar senyawa fenolat total dari daun jambu biji

Tabel I memperlihatkan kadar ekstraktif dan kadar senyawa fenolat total yang terdapat dalam daun jambu biji segar dan yang telah dikeringkan dengan kering angin dan dengan oven pada suhu 40 dan 60 °C. Cara pengeringan kelihatannya mempunyai kecenderungan yang sama dalam mempengaruhi kadar ekstraktif dan kadar senyawa fenolat dalam daun jambu biji. Pengeringan daun jambu biji menyebabkan peningkatan kadar ekstraktif dan suhu pengeringan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap peningkatan kadar ekstraktif. Kadar ekstraktif tertinggi diperoleh pada pengeringan dengan oven pada suhu 60 °C (165,367 mg/g). Sebaliknya, pengeringan daun jambu biji menyebabkan penurunan yang signifikan ($P < 0,05$) kadar senyawa fenolat total dari

Tabel I. Pengaruh Cara Pengeringan terhadap Perolehan Kadar Ekstraktif, Kadar Senyawa Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) pada Daun Jambu Biji

Cara Pengeringan	Lama Pengeringan	Kadar ekstraktif (mg/g)*	Kadar Fenolat (mg/g)*	IC_{50} (mg/mL)
Segar	-	81,967 ± 2,139 ^a	4,943 ± 0,061 ^a	0,218
Kering angin (± 25 °C)	7 hari	120,100 ± 1,229 ^b	4,140 ± 0,059 ^b	0,515
Kering oven 40 °C	9 jam	150,367 ± 1,617 ^c	4,536 ± 0,034 ^c	0,500
Kering oven 60 °C	3,5 jam	165,367 ± 2,053 ^d	4,189 ± 0,020 ^d	0,315
Asam galat (pembanding)				0,947

* Kadar dihitung dalam satuan mg/g berat kering semuanya, nilai rata-rata ± SD, n = 3; nilai yang mempunyai angka superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

4,943 mg/g simplisia kering pada daun segar menjadi 4,140 mg/g pada pengeringan angin, 4,536 mg/g pada pengeringan oven 40 °C dan 4,189 mg/g pada pengeringan oven 60 °C. Suhu pengeringan juga berpengaruh terhadap perolehan kadar fenolat. Pengeringan pada suhu 40 °C memberikan kadar fenolat lebih besar daripada pengeringan dengan angin pada suhu ± 25 °C ($P < 0,05$). Sedangkan pengeringan pada suhu 60 °C menyebabkan penurunan kadar fenolat yang signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan pengeringan pada suhu 40 °C. Dengan demikian, pengeringan daun jambu biji dalam oven pada suhu 40 °C adalah cara pengeringan yang optimum untuk mendapatkan kadar senyawa fenolat yang tinggi.

Tabel I (kolom 2) juga memperlihatkan bahwa pengeringan angin memakan waktu yang lama (7 hari) sehingga dikhawatirkan terjadinya penguraian senyawa fenolat oleh bantuan enzim fenolase yang terdapat dalam tumbuhan. Hal ini terlihat dari kadar fenolat yang lebih rendah pada pengeringan angin daripada pengeringan pada 40 °C yang hanya memakan waktu 9 jam. Namun demikian, peningkatan suhu pengeringan sampai 60 °C malahan menurun kadar fenolat lebih banyak lagi walaupun waktunya lebih singkat. Pemanasan di atas 40 °C diperkirakan akan mempercepat penguraian senyawa fenolat.

Pengaruh cara pengeringan terhadap aktivitas antioksidan daun jambu biji

Tabel I memperlihatkan pengaruh cara pengeringan terhadap aktivitas antioksidan daun jambu biji. Pengeringan dengan angin dapat menyebabkan berkurangnya aktivitas antioksidan daun jambu biji dari $IC_{50} = 0,218$ mg/mL menjadi 0,515 mg/mL. IC_{50} adalah konsentrasi zat yang dapat menyebabkan penghambatan radikal bebas sebesar 50%. Semakin tinggi angka IC_{50} semakin rendah aktivitas antioksidan. Pengeringan pada suhu 40 °C ternyata hanya sedikit meningkatkan aktivitas antioksidan daun jambu biji, tetapi pengeringan pada suhu 60 °C dapat menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan ($IC_{50} = 0,315$). Hasil ini sejalan dengan peningkatan kadar ekstraktif dengan pengeringan pada suhu 60°C.

KESIMPULAN

Cara-cara pengeringan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perolehan kadar ekstraktif, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan dari daun jambu biji. Cara pengeringan dalam oven pada suhu 40°C adalah cara terbaik untuk mendapatkan kadar senyawa fenolat yang tertinggi. Sedangkan cara pengeringan terbaik untuk mendapatkan kadar ekstraktif dan aktivitas antioksidan yang tertinggi adalah pengeringan dengan oven pada 60°C.

DAFTAR RUKUN

1. Ditjen POM. 1989. *Vademikum Bahan Obat Alam*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
2. Sudibyo M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan: Manfaat dan Kegunaan*, Jakarta: Balai Pustaka
3. Ojewole JAO. 2006. Anti-inflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrsinaceae) leaf aqueous extracts in rats and mice, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 28(7): 441
4. Grover IS and Bala S. 1993. Studies on antimutagenic effect of Guava (*Psidium guajava*) in *Salmonella typhimurium*, *Mutat. Res.*, 300(1): 1-3
5. Kamath JV, Rahul N, Kumar CKA, and Lakshmi SM. 2008. *Psidium guajava* L: a review, *Int. J. Green Pharmacy*, 2(1): 9-12
6. Jaiarj P, Khoohaswan P, Wongkrajang Y, Peungvicha P, Suriyawong P, Saraya MLS and Ruangsomboon O. 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract, *J. Ethnopharmacol.*, 67(2): 203-212
7. Sato J, Goto K, Nanjo F, Kawai S and Murata K. 2000. Antifungal activity of plant extracts against *Arthrinium sacchari* and *Chaetomium funicola*, *J. Biosci. Bioeng.*, 90(4): 442-446
8. Wei L, Li Z and Chen B. 2000. Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis with *Psidium guajava* L., *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 20(12): 893-895
9. Lozoya X, Reyes-Morales H, Chavez-Soto MA, Martinez-Garcia MC, Soto-Gonzales Y and Doubova SV. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment

- of acute diarrheic disease, *J Etnopharmacol.*, 83(1-2): 19-24
10. Badan POM. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
 11. El Sohafy SM, Metwalli AM, Harraz FM and Omar AA. 2009. Quantification of flavonoids of *Psidium guajava* L. preparations by planar chromatography (HPTLC), *Phcog Mag.*, 4(17): 61-66
 12. Rattanachai-kunsoon P and Phumkhachom P. 2007. Bacteriostatic effect of flavonoids from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens, *Fitoterapia*, 78(6): 434-436
 13. Arima H and Danno G. 2002. Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(8): 1727-1730
 14. Yang XL, Hsieh KL and Liu JK. 2007. Guajadial: an unusual meroterpenoid from guava leaves *Psidium guajava*, *Organic Letters*, 9(24): 5135-5138
 15. Chen HY and Yen GC. 2007. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves, *Food Chemistry*, 101(2): 686-694
 16. Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
 17. Gaedcke F, Steinhoff B and Blasius H. 2003. *Herbal Medicinal Products: Scientific and Regulatory Basis for Development, Quality Assurance and Marketing Authorisation*, Stuttgart: Medpharm Scientific Publisher
 18. WHO. 1998. *Quality control Methods for medicinal plant materials*, Geneva: World Health Organization.
 19. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ and Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *Afr. J. Biotechnol.*, 5(11):1142-1145
 20. Mosquera OM, Correa YM and Nino J. 2009. Antioxidant activity of plants extract from Colombian flora, *Braz. J. Pharmacogn.*, 19(2A): 382-387
 21. Mitra S and Brukh R. 2003. Sample Preparation: An Analytical Perspective, in *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, (Ed: Mitra, S.), New York: John Wiley & Sons, Inc., 1-36
 22. Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3): 117-135