

Uji Antioksidan Infusa Daun berwarna Merah dan Hijau dari Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan Metode DPPH

*(Antioxidant Test of Red and Green Colored-leaves Infusions of Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) with the DPPH method)*

Desy Muliana Wenas^{1,*}, Putrisa Anggun Meilani¹, Herdini¹

¹Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640

Korespondensi: desywenas@istn.ac.id

Abstract

Red and green leaves of pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) contain flavonoids, saponins, and tannins which have the potential as antioxidants. The purpose of the study was to determine the antioxidant activity of red leaves and green leaves infusions of pucuk merah plant (*S. myrtifolium*). The leaves sample was extracted using the infusion method. The determination of antioxidant activity was done using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The free radical concentration of DPPH was analyzed using UV-Vis spectrophotometer after addition of various concentrations of *S. myrtifolium* leaves infusion extracts, that were 20 ppm; 10 ppm; 5 ppm; 2.5 ppm; 1.25 ppm; 0.625 ppm. Vitamin C solutions as the positive control were prepared at 5; 2.5; 1.25; 0,625; 0.3125 ppm. The result showed that the IC₅₀ of the thick red and green leaf extract were 31,68 ppm and 30,56 ppm, respectively. The antioxidant activity of the green leaf extract was higher than that of the red leaf extract. These results recommend further study on the green leaves extract of *S. myrtifolium* as anticancer.

Keywords: *Antioxidant, DPPH, infusionthick extract, Syzygium myrtifolium*

Abstrak

Daun merah dan hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) memiliki kandungan flavonoid, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini ialah menguji aktivitas antioksidan infusa daun merah dan daun hijau tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*). Bahan uji diekstraksi menggunakan metode infusa. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Konsentrasi radikal bebas dari DPPH dianalisis menggunakan UV-Vis spectrophotometer setelah penambahan ekstrak infusi daun *S. myrtifolium* dengan konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 bpj. Larutan vitamin C sebagai pembanding positif digunakan dengan konsentrasi sebesar 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 bpj. Hasil analisa menunjukkan bahwa ekstrak infusa daun merah dan hijau memiliki nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 31,68 bpj dan 30,56 bpj. Aktivitas antioksidan ekstrak infusa daun berwarna hijau lebih tinggi dibandingkan daun berwarna merah. Penelitian ekstrak daun berwarna hijau *S. myrtifolium* perlu dilanjutkan terutama sebagai antikanker.

Kata kunci: *Antioksidan, DPPH, ekstrak kental infusa, Syzygium myrtifolium.*

I. Pendahuluan

Pola hidup masyarakat yang kurang sehat dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif (mutasi gen, karsinogenesis, gangguan kardiovaskular, dsb.) dan mengakibatkan penurunan fungsi organ tubuh¹. Salah satu penyebabnya yaitu adanya senyawa radikal bebas (*free radical*) di dalam tubuh yang bila berikatan dengan molekul lain akan membentuk senyawa radikal yang baru dalam reaksi berantai yang dapat terjadi terus menerus². Berlebihannya jumlah senyawa radikal bebas dalam tubuh dapat membahayakan kesehatan karena tubuh tidak akan mampu menanggulangi radikal bebas yang berlebih tersebut. Untuk dapat mengatasi senyawa radikal bebas, tubuh membutuhkan tambahan antioksidan dari luar tubuh yang disebut dengan antioksidan *exogen*. Antioksidan tersebut biasa didapatkan pada bahan alami, seperti buah, sayuran, biji-bijian dan pada bahan sintesis seperti obat dan suplemen contohnya *butylated hydroxyanisole* (BHA), dan *butylated hydroxytoluene* (BHT), Vitamin C, β -karoten. Namun, bahan sintesis seperti BHT dan BHA yang diuji pada hewan coba ternyata dapat menimbulkan efek hepatotoksik dan karsinogenik³ yang berarti juga dapat menimbulkan efek berbahaya pada manusia. Dengan demikian, sumber antioksidan alami cenderung lebih diinginkan dan masih sangat perlu dicari sumbernya dan diteliti lebih lanjut.

Contoh sumber antioksidan alami yang berasal dari tanaman yaitu herba seledri⁴, daun salam⁵, jambu air⁶, daun sirsak⁷, patikala⁸, pucuk merah (*S. myrtifolium*) dan lain sebagainya. Tanaman pucuk merah merupakan jenis tanaman hias yang termasuk suku Myrtaceae, yang memiliki warna daun lebih dari satu. Biasanya daunnya memiliki warna merah dan hijau. Warna merah biasanya dimiliki daun yang masih muda dan warna hijau merupakan daun yang sudah tua⁹.

Daun berwarna merah pada tanaman pucuk merah mempunyai kandungan fitokimia berupa flavonoid, saponin, dan tanin yang diduga memiliki aktivitas farmakologi sehingga dapat digunakan dalam pengobatan. Hasil penelitian Wati *et al.* menyatakan bahwa daun merah tanaman pucuk merah positif mengandung flavonoid, saponin, dan tannin karena itu diduga memiliki potensi sebagai antioksidan alami, terutama dari kandungan flavonoid¹⁰. Kelompok senyawa flavonoid juga ditemukan pada seledri yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan telah diuji melalui metode ekstraksi infusa⁴.

Secara umum, masyarakat biasanya mempersiapkan obat secara tradisional dengan cara merebus bagian dari tanaman tersebut¹¹. Cara perebusan yang dilakukan masyarakat hampir sama dengan metode ekstraksi infusa, perbedaannya hanya pada suhu dan waktu saja. Infusa dibuat dengan mengekstraksi simplisia dengan pelarut akuades pada temperatur 90°C selama seperempat jam¹². Pelarut akuades yang bersifat polar akan dapat menarik metabolit sekunder secara optimal¹⁴. Metode infusa ini lebih mudah, murah, serta lebih aplikatif bila digunakan oleh masyarakat¹³.

Pengujian antioksidan pada ekstrak infus dilakukan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH tersebut termasuk metode yang mudah, murah, cepat, peka, dan hanya perlu sampel dalam jumlah kecil³. Antioksidan yang digunakan sebagai pembanding adalah vitamin C, karena aktivitas antioksidannya yang sangat tinggi telah cukup dikenal dan teruji. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis²⁰. Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan *UV-Vis spectrophotometer* yaitu persen peredaman radikal pada panjang gelombang 513 nm yang dinyatakan dalam besar IC₅₀⁵. Sebuah penelitian pengujian antioksidan dengan metode 2,2'-

azinobis (*3-ethyl benzothiazoline-6- sulfonic acid*) (ABTS) pada pucuk merah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pucuk merah tergolong sangat kuat dengan nilai IC_{50} 26,668 bpj¹⁵. Penelitian tersebut juga menguji kandungan antosianin pada buah pucuk merah dimana antosianin diketahui sebagai senyawa yang dapat menghambat radikal bebas¹⁶.

Umumnya daun tanaman pucuk merah yang sudah diteliti adalah yang berwarna merah, sedangkan daun yang berwarna hijau masih belum banyak kajian yang dilakukan. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian untuk menguji antioksidan infusa daun berwarna merah dan juga daun yang berwarna hijau dari tanaman pucuk merah dengan menggunakan metode DPPH. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan aktivitas antioksidan pada ekstrak infusa daun berwarna merah dan daun berwarna hijau dari tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*) dengan metode DPPH.

II. Metodologi Penelitian

Tahapan penelitian diawali dengan persiapan simplisia berupa pemilihan, pembersihan, pengeringan daun berwarna merah dan daun berwarna hijau, serta masing-masing simplisia dibuat menjadi serbuk. Daun berwarna merah dan daun berwarna hijau diekstraksi secara infusa. Ekstrak infus dikentalkan dengan cara dipanaskan di atas *waterbath*. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya diuji organoleptis, skrining fitokimia, dan pengujian antioksidan.

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu aluminium foil, batang pengaduk, *beaker glass* (Pyrex), blender (Philips), cawan porselen, *waterbath*, gelas ukur (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), kertas saring, inkubator, *UV-Vis Spectrophotometer* (Shimadzu U-28000), pipet volume (Pyrex), timbangan analitik (CHQ), alat vortex, mikropipet (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), labu ukur (Pyrex).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun berwarna merah dan daun berwarna hijau tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium* Walp.), metanol p.a, HCL 2N (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, pereaksi Bouchardat, asam asetat anhidrat (Ajax Chemical), kloroform, DPPH (Sigma-Aldrich), $H_2SO_4(p)$ (Merck), $FeCl_3$ 1% (Merck), $NaNO_2$ 5% (Merck), $AlCl_3$ 10% (Merck), Vitamin C, NaOH (Rankem), dan akuades.

2.2. Pembuatan Infusa Daun Pucuk Merah

Infusa kedua daun pucuk merah dibuat dengan merebus 100 g serbuk masing-masing daun berwarna merah dan hijau dalam akuades sebanyak 1000 ml dengan pengaturan temperatur 90°C selama 15 menit, dan diulang sebanyak 3 kali. Ketiga hasil ekstraksi Infusa digabung dan diuapkan di atas *waterbath* untuk mendapatkan larutan kental⁴.

Tanaman pucuk merah diperoleh dari taman kompleks Kavling DKI Kecamatan Jagakarsa, Jakarta Selatan dan telah dideterminasi di "Herbarium Bogoriense" Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, Jawa Barat. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang dideterminasi memang merupakan tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium* Walp.) dari suku Myrtaceae. Bagian yang digunakan dalam penelitian yaitu daun berwarna merah dan daun berwarna hijau dari tanaman pucuk merah.

Sebanyak 1,5 kg daun berwarna merah dan 1 kg daun berwarna hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) segar terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau debu yang menempel, kemudian dikering-anginkan selama 5 hari. Selanjutnya, daun ditimbang dan dihaluskan menjadi serbuk yang kemudian diestrak dengan metode infusa.

2.3. Skrining Fitokimia

Serbuk dan ekstrak infusa diskriminasi kandungan fitokimianya untuk senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid. Senyawa alkaloid diidentifikasi dengan cara menambahkan 5 ml amoniak dengan konsentrasi 25% dan 20 ml CHCl_3 (kloroform) pada 2 g ekstrak kental infusa dan serbuk. Larutan tersebut kemudian dipanaskan di atas penangas air dan disaring. Filtrat diuapkan sampai volume berkurang menjadi setengahnya. Sisa penguapan dituang ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml HCl 2N, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk dua lapisan. Lapisan jernih yang terbentuk dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendroff jika endapan berwarna merah muncul maka ekstrak mengandung alkaloid. Tabung reaksi kedua ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi *Bouchardat*. Ekstrak terdeteksi mengandung senyawa alkaloid jika terbentuk endapan berwarna coklat. Tabung reaksi terakhir ditambahkan dengan pereaksi *Mayer* sebanyak 2 tetes. Endapan putih yang terbentuk menandakan bahan uji mengandung adanya senyawa alkaloid¹⁷.

Pendeteksian senyawa flavonoid dilakukan dengan cara penambahan 5 ml akuades panas ke dalam 1 g ekstrak yang kemudian dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 ml NaNO_2 (Natrium nitrit) 5% dan dikocok sampai homogen, lalu ditambahkan 1 ml AlCl_3 (aluminium klorida) 10% lalu ditambahkan dengan 2 ml NaOH (natrium hidroksida) 1N. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan merah jingga¹⁷.

Kandungan saponin diidentifikasi dengan cara penambahan 10 ml akuades panas pada 0,5 g bahan uji (serbuk dan infusa), setelah itu didinginkan lalu diaduk selama 10 detik. Adanya senyawa saponin terdeteksi jika terdapat busa stabil setebal 1-10 cm selama 10 menit dan busanya tetap bertahan walau sudah ditambah dengan setetes larutan HCl (asam klorida) 2N¹².

Senyawa tanin terdeteksi dengan cara penambahan 5 ml akuades panas dan tiga tetes larutan FeCl_3 1% pada 1 g bahan uji (infusa dan serbuk). Warna hitam kebiruan sampai hijau yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung tanin¹⁷.

Pengujian Steroid/Triterpenoid dilakukan dengan menambahkan 20 ml eter ke dalam 2 g ekstrak kemudian didiamkan selama 2 jam. Hasil maserasi disaring dan dipanaskan dalam cawan penguap sampai didapat residu. Selanjutnya, residu yang diperoleh ditambahkan 2 tetes $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ (asetat anhidrat), 2 ml CHCl_3 (kloroform), dan 1 ml larutan H_2SO_4 (asam sulfat) pekat. Warna ungu yang terbentuk membuktikan adanya kandungan triterpenoid, sedangkan pembentukan warna hijau menunjukkan adanya kandungan steroid¹⁷.

2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

2.4.1. Pembuatan Larutan DPPH 100 bpj

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 5 mg serbuk DPPH yang ditambahkan dengan metanol p.a. sampai mencapai volume 50 ml. Larutan tersebut merupakan larutan induk DPPH 100 bpj⁴. Pembuatan larutan blanko dibuat dengan penambahan 3 ml metanol p.a ke dalam 1 ml larutan DPPH 100 bpj, kemudian larutan tersebut divortex dan diinkubasi dengan pengaturan temperatur 37°C selama setengah jam. Tingkat absorbansi diukur dengan *UV-Vis spectrophotometer* pada panjang gelombang maksimum 513 nm. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali⁴.

2.4.2. Pembuatan Larutan Vitamin C Sebagai Pembanding

Larutan induk Vitamin C 10 bpj dibuat dengan menambahkan metanol p.a ke dalam 10 mg vitamin C sampai mencapai volume 10 ml, lalu larutan tersebut dikocok sampai homogen. Larutan tersebut merupakan larutan stok konsentrasi 1000 bpj yang kemudian

dilakukan pengenceran menjadi 10 bpj. Pengenceran dilakukan dengan mengencerkan 1 ml larutan vitamin C ditambahkan hingga menjadi 100 ml, lalu dikocok hingga homogen⁴. Larutan vitamin C dengan konsentrasi 5 bpj; 2,5 bpj; 1,25 bpj; 0,625 bpj dan 0,3125 bpj. Larutan dibuat dengan mengambil 5 ml larutan induk 10 bpj ditambahkan dengan metanol p.a sampai volume mencapai tepat 10 ml, kemudian dikocok hingga homogen dan selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat. Dari masing-masing larutan seri konsentrasi tersebut sebanyak 1 ml ditambah metanol p.a 2 ml, DPPH 1 ml dan divortex. Setelah divortex, larutan Vitamin C diinkubasi dengan pengaturan temperatur 37⁰C selama setengah jam. Serapan diukur dengan menggunakan *UV-Vis spectrophotometer* pada panjang gelombang 513 nm. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali⁴.

2.4.3. Pengukuran Serapan Sampel

Larutan induk sampel 1000 bpj dibuat dengan menambahkan pelarut metanol p.a ke dalam 100 mg ekstrak sampai volume mencapai tepat 100 ml, kemudian larutan tersebut diaduk hingga homogen⁵. Larutan pengenceran berseri bahan uji dibuat dengan menambahkan pelarut metanol p.a ke dalam 0,2 ml larutan induk konsentrasi 1000 bpj sampai mencapai volume tepat 10 ml, kemudian larutan tersebut diaduk hingga homogen. Konsentrasi 20 bpj diencerkan menjadi 10 bpj dengan menambahkan pelarut MeOH p.a (methanol) pada 2 ml larutan berkonsentrasi 20 bpj sampai diperoleh volume tepat 10 ml. Untuk mendapatkan konsentrasi 5 bpj, 5 ml larutan berkonsentrasi 10 bpj diencerkan dengan pelarut MeOH p.a sampai mencapai volume tepat 10 ml. Metode yang sama dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi 2,5 bpj; 1,25 bpj dan 0,625 bpj. Larutan dengan masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan pelarut MeOH p.a sebanyak 2 ml, DPPH sebanyak 1 ml dan kemudian divortex. Selanjutnya, larutan diinkubasi dengan pengaturan temperatur 37⁰C selama setengah jam. Perlakuan ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Serapan dari larutan diukur dengan *UV-Vis spectrophotometer* pada panjang gelombang 513 nm⁵.

2.4.4. Penentuan IC₅₀

Penentuan peredaman radikal bebas dengan metode DPPH dari sampel uji menggunakan *UV-Vis spectrophotometer* dilakukan pada panjang gelombang 513 nm. Pengukuran dilakukan setelah diinkubasi dengan pengaturan temperatur 37⁰C selama setengah jam. Besar serapan larutan DPPH dianggap sebagai persentase (%) penghambatan, dihitung dengan Persamaan 1⁵.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad \text{Persamaan 1}$$

Keterangan:

A kontrol = serapan pembanding

A sampel = serapan bahan uji

Penentuan aktivitas pemerangkapan radikal bebas adalah nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel uji (bpj) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%⁵. IC₅₀⁵ dihitung dengan Persamaan 2.

$$Y = a + bx \quad \text{Persamaan 2}$$

Keterangan:

y = IC₅₀

a = intersep

b = slop

x = konsentrasi sampel (bpj)

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi dan Skrining Fitokimia

Simplisia daun kering udara dari daun basah yang diperoleh adalah 750 g dan 620 g masing-masing untuk daun berwarna merah dan hijau. Setelah dihaluskan menjadi serbuk, didapatkan 450 g serbuk daun merah dan 400 g serbuk daun hijau. Serbuk daun berwarna merah diinfus sehingga didapat 55,1 g ekstrak sehingga persentase rendemen sebesar 7,34 %. Sedangkan serbuk daun hijau yang telah diinfus menghasilkan ekstrak sebanyak 53,2 g dan persentase rendemen yang didapat yaitu 8,58% (**Tabel 1**).

Tabel 1. Persentase Rendemen Ekstrak Infusa Daun Tanaman Pucuk Merah

Simplisia	Berat Serbuk (g)	Infusa (ml)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Daun merah	450	510	55,1	7,34
Daun hijau	400	500	53,2	8,58

3.2. Skrining Fitokimia

Pengamatan organoleptik dan skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif. Pengamatan organoleptik meliputi bau, rasa, dan warna. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Pengamatan organoleptik baik pada ekstrak infusa daun berwarna merah maupun pada daun berwarna hijau memberikan bau khas mirip kayu manis dan rasa agak pahit. Ekstrak infusa daun berwarna merah berwarna merah pekat, sedangkan ekstrak infusa daun hijau memiliki warna hijau pekat. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna¹⁸. Hasil Penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak infusa daun berwarna merah dan daun berwarna hijau tanaman pucuk merah mengandung senyawa saponin, flavonoid, tanin (**Tabel 2**).

Tabel 2. Skrining fitokimia pada infusa daun pucuk merah.

Golongan Senyawa	Daun Merah	Daun Hijau
Alkaloid		
➤ Mayer	-	-
➤ Bouchardat	-	-
➤ Dragendorff	-	-
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Flavonoid	+	+
Steroid/Triterpenoid	-	-

Keterangan: + mengandung senyawa metabolit sekunder

- tidak mengandung metabolit sekunder.

3.3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Infusa Pucuk Merah

Senyawa yang berperan sebagai aktivitas antioksidan pada ekstrak kental infusa kedua warna daun pucuk merah adalah flavonoid yang termasuk dalam kelompok senyawa polifenolik. Keberadaan flavonoid dalam ekstrak infusa dibuktikan dengan terbentuknya

larutan berwarna merah jingga pada hasil uji kualitatif pada ekstrak infusa daun berwarna merah dan hijau. Karena aktifitas antioksidan yang dimiliki oleh flavonoid maka senyawa ini sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid lainnya antara lain untuk melindungi struktur sel, antiinflamasi, dan mencegah keropos tulang. Flavonoid memiliki kapasitas antioksidan karena senyawa ini berperan sebagai penangkap radikal bebas melalui gugus hidroksil yang dimilikinya. Dalam hal ini, flavonoid berperan sebagai reduktor, dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas¹⁶.

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diukur berdasarkan perubahan warna pada larutan DPPH. Larutan DPPH yang berwarna ungu akan menjadi kuning bila terjadi reaksi antara molekul DPPH dengan atom hidrogen dari bahan uji. Proses tersebut merupakan peredaman radikal bebas. Perubahan warna tersebut akan memperlihatkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH. Tingkat absorbansi ini diukur menggunakan *UV-Vis Spectrophotometer* dan ditanyakan sebagai nilai IC₅₀¹⁹.

Tabel 3. Pengukuran Absorbansi Blanko DPPH

Pengulangan	λ_{max} (nm)	Absorbansi
I	513	0,656
II	513,5	0,656
III	513	0,657
Rata-Rata	513,1	0,656

Tabel 4. Absorbansi pada Ekstrak Infusa Daun Merah dan Daun Hijau

Ekstrak Infusa	Konsentrasi (bpj)	Absorbansi			Rerata Abs
		I	II	III	
Daun Merah	20	0,436	0,435	0,436	0,436
	10	0,589	0,589	0,589	0,589
	5	0,613	0,613	0,613	0,613
	2,5	0,631	0,631	0,632	0,631
	1,25	0,644	0,645	0,644	0,644
	0,625	0,647	0,647	0,647	0,647
Daun Hijau	20	0,421	0,422	0,421	0,421
	10	0,582	0,583	0,583	0,582
	5	0,587	0,587	0,587	0,587
	2,5	0,612	0,612	0,613	0,612
	1,25	0,631	0,631	0,631	0,631
	0,625	0,636	0,635	0,636	0,636
Vitamin C	5	0,398	0,399	0,34	0,379
	2,5	0,54	0,542	0,541	0,542
	1,25	0,549	0,547	0,54	0,545
	0,625	0,591	0,593	0,592	0,592
	0,3125	0,596	0,597	0,598	0,597

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa absorbansi maksimal yang diberikan DPPH berdasarkan faktor eksternal, lingkungan dan perlakuan yang berbeda. Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 100 bpj dalam MeOH p.a dengan menggunakan *UV-Vis Spectrophotometer* diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 513 nm⁵. Hasil pengukuran blanko

DPPH pada Spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 513,1 nm dengan absorbansi 0.656 (**Tabel 3**). Selanjutnya, aktivitas antioksidan dari sampel uji dapat dilihat dengan penurunan absorbansi dari masing-masing sampel uji seiring dengan bertambahnya konsentrasi setelah pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 513 nm.

Pengukuran peredaman radikal bebas pada infusa daun merah, infusa daun hijau dan vitamin C dengan UV-Vis-Spectrophotometer menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi, maka makin kecil nilai absorbansinya (**Tabel 4**). Kecinya nilai absorbansi mengindikasikan tingginya aktivitas antioksidan. Hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut, dengan tingginya konsentrasi bahan uji menyebabkan semakin banyak substrat yang dapat bereaksi atau berikatan dengan elektron-elektron dari DPPH, sehingga nilai absorbansi DPPH menjadi semakin kecil. Hal inilah yang menunjukkan bahwa adanya aktivitas delokalisasi elektron yang dilakukan oleh masing-masing sampel uji terhadap DPPH. Apabila semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari warna ungu menjadi warna kuning terang yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan⁵. Dapat dikatakan bahwa konsentrasi berbanding terbalik dengan nilai absorbansi.

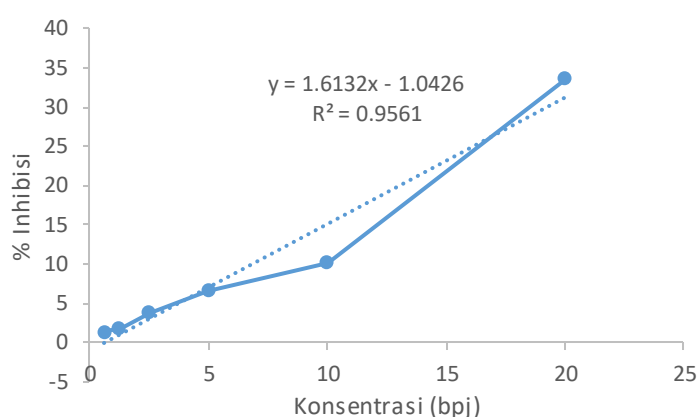
Tabel 5. Kapasitas Antioksidan pada Ekstrak Infusa Daun Merah dan Daun Hijau

Ekstrak Infusa	Konsentrasi (bpj)	% inhibisi			Rata-Rata ± SD	IC ₅₀ (bpj)
		I	II	III		
Daun berwarna Merah	20	33,53659	33,68902	33,53659	33,587 ± 0,088	31,689
	10	10,21341	10,21341	10,21341	10,213 ± 0,000	
	5	6,554878	6,554878	6,554878	6,555 ± 0,000	
	2,5	3,810976	3,810976	3,658537	3,760 ± 0,088	
	1,25	1,829268	1,676829	1,829268	1,778 ± 0,088	
	0,625	1,371951	1,371951	1,371951	1,372 ± 0,000	
Daun berwarna Hijau	20	35,82317	35,67073	35,82317	35,772 ± 0,088	30,559
	10	11,28049	11,12805	11,12805	11,179 ± 0,088	
	5	10,51829	10,51829	10,51829	10,518 ± 0,000	
	2,5	6,707317	6,707317	6,554878	6,6567 ± 0,088	
	1,25	3,810976	3,810976	3,810976	3,811 ± 0,000	
	0,625	3,04878	3,20122	3,04878	3,099 ± 0,088	
Vitamin C	5	39,32927	39,17683	48,17073	42,226 ± 5,149	6,424
	2,5	17,68293	17,37805	17,53049	17,530 ± 0,152	
	1,25	16,31098	16,61585	17,68293	16,869 ± 0,720	
	0,625	9,908537	9,603659	9,756098	9,756 ± 0,152	
	0,3125	9,146341	8,993902	8,841463	8,994 ± 0,152	

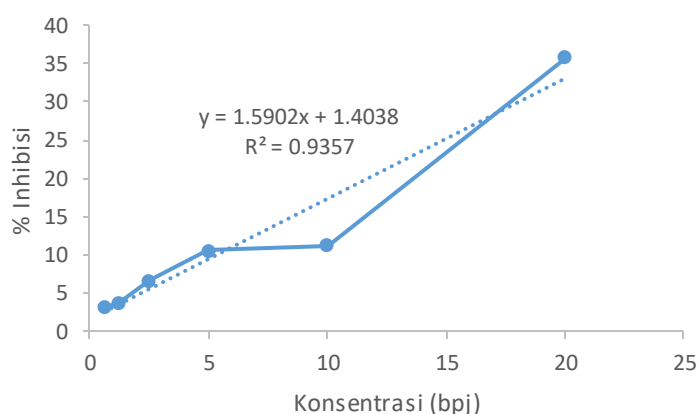
Keterangan : SD = Standar Deviasi, bpj = bagian per juta

Hasil uji aktivitas antioksidan (**Tabel 5**) menunjukkan bahwa ekstrak kental infusa daun berwarna merah tanaman pucuk merah memiliki tingkat kekuatan antioksidan intensitas yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 31,689 bpj dengan persamaan linear $y = 1,6132x - 1,0426$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9561 (**Gambar 1**). Ekstrak infusa daun berwarna hijau juga memiliki tingkat kekuatan antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀

30,559 bpj dengan persamaan linear $y = 1,5902x + 1,4038$ dengan koefisien korelasi (R^2) 0,9357 (**Gambar 2**). Nilai IC_{50} ekstrak kental infusa daun berwarna merah dan daun berwarna hijau tanaman pucuk merah lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} Vitamin C yang tergolong antioksidan sangat kuat. Dalam penelitian ini nilai IC_{50} vitamin C adalah sebesar 6,424 bpj dengan persamaan linear $y = 6,8926x + 5,7207$ dengan koefisien korelasi (R^2) 0,9435. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan tidak memenuhi syarat koefisien korelasi yaitu $\geq 0,997$. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sampel memiliki hubungan yang tidak linear dengan absorbansi yang dihasilkan, sehingga persamaan regresi yang diperoleh tidak dapat dijadikan acuan untuk pengujian antioksidan²¹. Nilai koefisien korelasi yang berada di bawah 0,997 kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti pada saat pengenceran larutan uji, preparasi sampel, dan pada saat setelah diinkubasi tidak segera diperiksa absorbansinya pada *UV-Vis Spectrophotometer*.



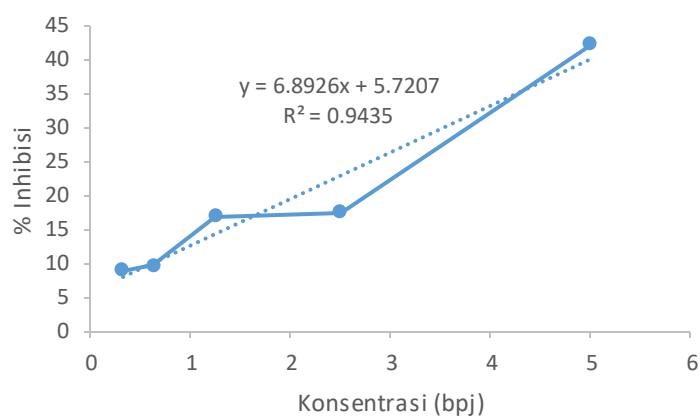
Gambar 1. Kurva regresi linier ekstrak daun berwarna merah.



Gambar 2. Kurva regresi linier ekstrak daun berwarna hijau.

Daun berwarna merah dan daun berwarna hijau tanaman pucuk merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai *50% inhibitory concentration* (IC_{50}) 31,68 bpj dan 30,56 bpj. Nilai IC_{50} menunjukkan kemampuan konsentrasi sampel uji untuk meredam DPPH sebesar 50%²². Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat²³. Aktivitas antioksidan daun berwarna hijau (IC_{50} 30,559

bpj) lebih tinggi dibandingkan dengan daun berwarna merah (IC₅₀ 31,689 bpj). Lebih tingginya kapasitas antioksidan daun warna hijau dapat disebabkan salah satunya oleh perbedaan usia daun. Daun berwarna merah diperkirakan berumur 14 hari dan daun berwarna hijau diperkirakan berumur 40 hari. Kandungan klorofil pada daun tua dan berwarna hijau lebih tinggi dibandingkan daun merah yang lebih muda, sehingga proses fotosintesis dapat berlangsung lebih optimal²⁴. Dengan lebih tingginya proses fotosintesis, maka proses metabolisme pun akan dapat memproduksi senyawa antioksidan (metabolit sekunder) lebih banyak²⁵. Bahriul (2014) juga melaporkan bahwa bahwa daun tua cenderung memiliki kapasitas antioksidan lebih tinggi daripada daun muda (tambahkan sitasi untuk Bahriul 2014 ini dengan citation manager yang penulis gunakan). Dalam laporannya, disebutkan bahwa aktivitas antioksidan daun salam (*Syzygium polyanthum*) muda, setengah tua, tua memiliki IC₅₀ masing-masing sebesar 37,441 bpj, 14,889 bpj, 11,001 bpj⁵. Data tersebut menunjukkan bahwa semakin tua umur daun maka cenderung semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hasil yang sama diperoleh untuk kasus pucuk merah, dimana daun tua memiliki kapasitas antioksidan yang lebih baik daripada daun muda.



Gambar 3. Kurva regresi linier pada larutan Vitamin C.

Kedua daun pucuk merah dengan warna yang berbeda ini ternyata memiliki potensi antioksidan dengan terdeteksinya keberadaan flavonoid pada ekstrak infusanya. Namun pengujian selanjutnya menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan daun berwarna hijau lebih tinggi pada daun berwarna merah. Hal ini mengindikasikan warna merah kemungkinan tidak berpengaruh pada kapasitas antioksidan. Warna daun yang merah disebabkan oleh pigmen *anthocyanin*²⁷. Warna menyolok pada daun biasanya digunakan tanaman untuk mengusir hama atau herbivori, dan biasanya juga mengandung senyawa dengan karakter *antifeedant*²⁸. Tanaman biasanya akan meningkatkan pertahanan pada daun muda untuk melindunginya dari serangan hama. Mekanisme ini diduga juga diadaptasi oleh tanaman pucuk merah yang menghasilkan daun muda berwarna merah untuk menghindari/menjauhkan hama. Singkatnya dapat disampaikan bahwa warna merah pada daun muda tanaman pucuk merah kemungkinan tidak berpengaruh pada kapasitas antioksidannya, dibandingkan dengan daun yang berwarna hijau. Menghasilkan daun muda berwarna merah yang kontras dengan daun tuanya, sepertinya merupakan mekanisme pertahanan tanaman pucuk merah untuk melindungi jaringan daun mudanya dari serangan hama, misalnya ulat. Sementara itu, pada daun tua investasi mekanisme pertahanan lebih cenderung pada kandungan antioksidan (flavonoid) yang lebih tinggi.

Nilai IC₅₀ vitamin C lebih tinggi dibandingkan dengan nilai IC₅₀ pada kedua warna daun tanaman pucuk merah. vitamin C memang sudah sangat dikenal sebagai senyawa

dengan kapasitas antioksidan yang sangat tinggi. Penelitian Ayyida melaporkan bahwa ekstrak metanol jambu air (*Syzygium samarangense* (BL.) Merrill & Perry) mengandung senyawa antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 2,47 bpj, dengan pembanding vitamin C IC₅₀ nya sebesar 0,81 bpj²⁶. Se jauh ini kapasitas antioksidan vitamin C memang masih lebih unggul, yang terus mendorong kajian-kajian untuk mencari dan menemukan antioksidan alami dari tanaman dengan kapasitas yang sebaik atau bahkan melebihi vitamin C. Kapasitas antioksidan infusa daun berwarna hijau pada tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*) lebih tinggi daripada ekstrak etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang tua, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metanol jambu air (*Syzygium samarangense*).

IV. Kesimpulan dan Saran

Ekstrak kental infusa daun berwarna merah dan daun berwarna hijau tanaman pucuk merah memiliki tingkat kekuatan antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 31,68 bpj dan 30,56 bpj. Dengan demikian, ekstrak kental infusa daun berwarna merah dan daun berwarna hijau berpotensi bagus dalam pengembangan produk antioksidan yang berguna dalam bidang kesehatan dan farmasi. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pelarut yang berbeda, metode ekstraksi, dengan metode pengujian antioksidan yang berbeda. Tahapan akhir setelah melewati proses elusidasi adalah pengujian lebih lanjut tentang antikanker dan potensi lainnya.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada seluruh anggota tim penelitian yang membantu terlaksananya penelitian.

Daftar Pustaka

1. Pangkahila JA. Pengaturan Pola Hidup dan Aktivitas Fisik Meningkatkan Umur Harapan Hidup. *Sport Fit J.* 2013;1(1):1-7.
2. Matheos H, Runtuwene MRJ, Sudewi S. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon J Ilm Farm.* 2014;3(3):235-246.
3. Fitri N. Butylated hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan. 2013:41-50.
4. Kusumadewi AP, Widiyastuti Y. Uji Potensi Antioksidan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) secara In Vitro. *J Badan Litbang Tanam Obat dan Obat Tradis.* 2010;3(1):59-64.
5. Bahriul P, Rahman N, Diah AWM. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *J Akad Kim.* 2014;3(3):368-374.
6. Fajar AK. Uji Potensi Antikanker pada Ekstrak Air Daun Jambu Air (*Syzygium samarangense*) (BL.) Merrill & Perry Varietas Deli Hijau dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 2016.
7. Fathurrachman DA. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH. 2014.
8. Handayani V, Ahmad AR, Sudir M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga

- dan Daun Patikala (Etingera elatior (Jack) R. M. Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res.* 2014;1(2):86-93. doi:10.7454/psr.v1i2.3321
9. Memon AH, Ismail Z, Aisha AFA, et al. Isolation, Characterization, Crystal Structure Elucidation, and Anticancer Study of Dimethyl Cardamonin, Isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2014;2014:1-11. doi:10.1155/2014/470179
 10. Wati M, Erwin, Tarigan D. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). *Kim FMIPA Unmul.* 2017;14(2):100-107.
 11. Murdopo. Obat Herbal Tradisional. *War Ekspor.* 2014;(September):1-20. http://djpen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/publication/4651421058307.pdf.
 12. Depkes. *Materia Medika Indonesia Jilid IV.* Departmen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
 13. POM D. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi V.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
 14. Yuliani NN, Dienina DP. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *J Info Kesehat.* 2015;14(2):1060-1082.
 15. Sondang I. Uji Potensi Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) sebagai Antimutagenik pada Mencit yang Diinduksi Siklofosamid. 2017.
 16. Santoni A, Darwis D, Syahri S. Isolasi Antosianin dari Buah Pucuk Merah (*syzygium*). In: *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.* Padang; 2013:1-10. <https://jurnal.fmipa.unila.ac.id/semirata/article/view/710/530>.
 17. Kusumawardhani E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Merah Dan Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*. 2018.
 18. Dewi AK. Isolasi , Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *JSV.* 2013;31(2):138-150.
 19. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J Sci Technol.* 2004;26(2):211-219.
 20. Mangiwa S, Maryuni AE. Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabika (*Coffea arabica*) Asal Wamena dan Moanemani, Papua. *J Biol Papua.* 2019;11(2):103-109. doi:10.31957/jbp.925
 21. Triyasmono L, Safitri R, Ni'mah M. Validasi Metode Dan Analisis Penetapan Kadar Sibutramin HCl Pada Jamu Pelangsing Dengan KCKT Fase Terbalik. *J Pharmascience.* 2015;2(1):50-57.
 22. Tristantini D, Ismawati A, Pradana BT, Jonathan JG. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). In: *Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.* UPN Veteran Yogyakarta; 2016:1-7.
 23. Rizkayanti, Diah AWM, Jura MR. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak

- Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *J Akad Kim.* 2017;6(2):125-131.
24. Pertamawati. Pengaruh Fotosintesis terhadap Pertumbuhan Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) dalam Lingkungan Fotoautotrof secara In Vitro. *J Sains dan Teknol Indones.* 2010;12(1):31-37.
 25. Mashud N. Stomata dan Klorofil Dalam Hubungannya dengan Produksi Kelapa. *Bul Palma.* 2007;32:52-59.
 26. Ayyida K. Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan pada Daun Dalam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) dengan Daun Jambu Air (*Syzygium samarangense* (BL.) Merr et. Perry). 2014.
 27. Hasidah M, Rousdy DW. Kandungan pigmen klorofil, karotenoid dan antosianin daun *Caladium*. *Jurnal Protobiont.* 2017;6(2).
 28. Menzies IJ, Youard LW, Lord JM, Carpenter KL, van Klink JW, Perry NB, Schaefer HM, Gould KS. Leaf colour polymorphisms: a balance between plant defence and photosynthesis. *Journal of Ecology.* 2016 Jan;104(1):104-13.