



Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Zyzygium polyanthum* Wight.)

Lulu Rahmatia¹, Nasrudin¹, Nurlansi².

¹Alumni Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Halu Oleo, Kendari

^{2,3}Pengajar Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Halu Oleo, Kendari

(*) Corresponding author: larudi.fkip@uho.ac.id

Article History

Received

Revised:

Published:

Abstract

*Research on Phytochemicals and Antiradical Activities of DPPH infusion of Salam Leaf (*Syzygium polyanthum* Wight) has been carried out. This study aims to determine the phytochemical description of infusion of bay leaf (*Syzygium polyanthum* Wight), to determine the operating time in determining the antiradical activity of infusion of bay leaf (*Syzygium polyanthum* Wight) and to describe the anti-radical activity of DPPH steeped bay leaf (*Syzygium polyanthum* Wight). The methods used to test the secondary metabolites of bay leaf are phytochemical and anti-radical test with DPPH. A total of 5 grams of bay leaves were then extracted by infusion method with 3 repetitions in a row using water as a solvent. The filtering results were collected and the volume of bay leaf steeping was 90 mL with the extracted sample concentration of 1,264,835 ppm. The extract was then tested for Phytochemical, operating time test and anti-radical test. The results of the phytochemical test showed that the infusion of bay leaves contained flavonoids, saponins, tannins and polyphenols. The operating time test results showed that the time for the active compound in the sample and the DPPH radical to interact perfectly was at 30 minutes which gave a stable absorbance of 0.449. The results of the antioxidant activity test using the DPPH method showed that the infusion of bay leaves (*Syzygium polyanthum* Wight) was classified as very weak with an IC50 value of 259.058 ppm.*

Keywords: Bay Leaf, Phytochemicals, DPPH Radicals, Antiradicals.

1. PENDAHULUAN

Aktivitas keseharian yang dilakukan oleh masyarakat Indonesia tidak terlepas dari paparan sinar matahari, polusi udara, penggunaan barang elektronik seperti televisi, handphone, komputer yang merupakan pemicu dari timbulnya radikal bebas. Radikal bebas juga dapat dihasilkan dari metabolisme tubuh yang merupakan faktor internal, selain itu juga dihasilkan oleh faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat pemicu radikal dalam makanan dan polutan lainnya (Fakriah dkk, 2019). Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, dalam tubuh radikal bebas dapat menjadi senyawa yang sangat reaktif dengan cara mengikat elektron molekul sel tubuh akibat adanya elektron-selektron yang tidak berpasangan pada senyawa radikal bebas. Reaksi ini dapat berlansung secara terus menerus dalam tubuh dan mengakibatkan berbagai penyakit seperti serangan jantung, kanker, penuaan dini katarak, menurunnya fungsi ginjal serta penyakit degeneratif lainnya. Untuk mencegah penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan untuk menangkap atau berikatan dengan radikal bebas sehingga tidak menginduksi penyakit-penyakit tersebut. (Hani dan Tiana, 2016).

Antioksidan termaksud senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas radikal tersebut dapat terhambat. Ketidakstabilan radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron pada senyawa radikal bebas. Manusia memiliki antioksidan dalam tubuh, namun jumlahnya tidak cukup untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen. Antioksidan

eksogen dibagi menjadi dua berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Contoh antioksidan sintetik adalah BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBHQ (*tertiary butylhydroquinone*), dan PG (*propyl gallate*) beberapa contoh antioksidan sintetik tersebut dapat memiliki efek karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan. Beberapa senyawa kimia dalam tumbuhan yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan, diantaranya berasal dari golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan β -karoten (Hani dan Tiana, 2016)

Kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan juga diperlukan untuk meningkatkan sistem imun atau daya tahan tubuh. Kekebalan tubuh bersifat dinamis, dapat naik – turun. Usia, nutrisi, vitamin, mineral, hormon, olahraga dan emosi mempengaruhi imunitas tubuh. Sistem imunitas tubuh sangat diperlukan dalam kondisi pandemi covid-19 seperti sekarang, masyarakat diimbau untuk rajin mencuci tangan dan menjaga imunitas tubuh. Wiku Adisasmito mengatakan bahwa pasien Covid-19 dapat sembuh dengan imunitas tubuh hal yang sama juga diungkapkan oleh Menteri Kesehatan Terawan Agus Putranto yang mengatakan bahwa sistem imun yang kuat adalah cara untuk melawan virus. Ketika virus korona masuk dalam tubuh manusia dan menular dari binatang atau manusia, virus akan teridentifikasi oleh tubuh, usaha tubuh dalam melawan virus ini dengan terdapatnya gejala-gejala pada pasien yang terinfeksi. Wiku menjelaskan tubuh makhluk hidup akan menjadi tempat untuk virus mencari peluang hidup. Akibat dari resiko adanya peningkatan kasus korona dengan menurunnya imunitas tubuh serta riwayat penyakit lain yang dapat melemahkan tubuh. Oleh karena itu, sangat penting dalam menjaga sistem imunitas tubuh dengan menerapkan pola hidup sehat dan mengkonsumsi tanaman yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh adalah tanaman daun salam yang mengandung senyawa kimia steroid, fenolik, saponin, alkaloid dan kandungan utamanya flavonoid (Novira, 2018). Tanaman daun salam tidak hanya dapat digunakan untuk meningkatkan sistem imun tubuh namun juga digunakan sebagai obat tradisional dan antioksidan alami.

Tanaman daun salam adalah jenis tanaman yang telah lama digunakan sebagai antioksidan alami yang mengandung senyawa flavonoid, selenium, vitamin A dan Vitamin E. daun salam juga merupakan tanaman obat asli Indonesia yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kolesterol, kencing manis, hipertensi, gastritis dan diare (Riansari, 2008). Daun salam apabila diremas-remas dapat menghasilkan minyak astiri yang memiliki aroma harum (Sembiring dkk, 2008). Uji daya antioksidan pada sampel daun salam dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) dimaksudkan untuk menguatkan aktivasi suatu senyawa uji ekstrak daun salam sebagai tioksi. DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Pemanfaatan daun salam sebagai obat tradisional dilakukan dengan cara direbus. Pada penelitian yang dilakukan oleh Haziawati (2014) mengenai rebusan daun salam dapat menurunkan kadar asam urat didapatkan hasil yang signifikan penurunan kadar asam urat 5,22 mg/dL, didukung oleh penelitian Yankusuma dan Putri (2016) didapatkan bahwa ada pengaruh pemberian rebusan daun salam terhadap penurunan kadar asam urat nilai rata-rata kadar penurunan asam urat sebelum dan sesudah diberikan rebusan daun salam dapat menurunkan kadar asam urat 2,19 mg/dL.

Pada penelitian ini daun salam dibuat dalam bentuk seduhan, sehingga aktivitas fitokimia dan antiradikal diuji dalam bentuk seduhan daun salam. Karena suhu yang tinggi diduga dapat berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif yang terkandung dalam kandungan sampel daun salam senyawa bioaktif dapat dipengaruhi oleh suhu. Suhu tinggi dapat merusak beberapa jenis dari kandungan senyawa bioaktif tersebut.

Berdasarkan analisis fitokimia yang dilakukan, daun salam (*Syzygium polianthum* Wight) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti essential oils, tannin, flavanoid, terpendoid (Widyawati, 2012). Walaupun berbagai jenis kandungan metabolit sekunder *Syzygium polianthum* Wight, namun tumbuhan dari famili *Myrtaceae* lebih banyak dikenal sebagai penghasil minyak astiri atau essential oil. Pemanfaatan tumbuhan daun salam sebagai bumbu masak sebagian besar berhubungan juga

dengan fungsinya sebagai bahan obat. Selain itu, kandungan antioksidan pada daun salam dapat digunakan sebagai obat antiradikal yang dapat dikonsumsi oleh manusia (wartini dkk, 2007).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian dengan judul “Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)” untuk mengetahui gambaran fitokimia seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight), mengetahui *operating time* dalam penentuan aktivitas antiradikal seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dan mengetahui gambaran aktivitas antiradikal DPPH seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

2. METODE

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, blender, spatula, botol timbang, botol vial, timbangan analitik, gelas kimia 100 mL dan 250 mL, gelas ukur 5 mL, 10 mL dan 100 mL, labu ukur 10 mL, 25 mL dan 100 mL, dispenser listrik, batang pengaduk, termometer, rak tabung, tabung reaksi, pipet volum, filler, pipet tetes, piknometer dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam, air galon, aquades, HCl, pereaksi wagner, pereaksi mayer, pereaksi dragendroff, pereaksi Lieberman-burchard, H₂SO₄ pekat, logam Mg, HCl pekat, HCl 1%, larutan FeCl₃ 10%, larutan gelatin 1%, serbuk DPPH, etanol p.a, aluminium foil dan kertas saring.

Preparasi Sampel

Daun salam yang telah diambil, disortasi dengan memilih daun salam tua yang segar dan tidak dalam keadaan busuk atau cacat, kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk memisahkan daun dari pengotor yang tidak dikehendaki. Daun salam yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu ruangan dan selanjutnya di blender sehingga diperoleh serbuk daun salam.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi terhadap daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dalam penelitian ini dilakukan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel seduhan. Ekstraksi sampel seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dilakukan dengan menggunakan metode infusa dengan cara penyeduhan. Sebanyak 5 gram serbuk daun salam diseduh dengan 50 mL air panas yang bersumber dari dispenser air (suhu 76 °C) dengan waktu perendaman 20 menit sambil sesekali diaduk kemudian disaring menggunakan kertas saring sampai diperoleh ampas dan filtrat 1, ampas diseduh kembali dengan 30 mL air panas seperti perlakuan pertama. Pekerjaan dilakukan kembali sebanyak tiga kali sehingga diperoleh filtrat 2, dan seduhan ketiga 10 mL seperti perlakuan kedua hingga diperoleh filtrat 3. Filtrat yang diperoleh ditampung dalam gelas kimia. Kemudian ditentukan konsentrasinya untuk dilakukan uji fitokimia dan uji antioksidan. Rendemen yang diperoleh kemudian dihitung konsentrasinya menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi sampel (ppml)} = \frac{mg}{L}$$

Pembuatan Pereaksi Uji Senyawa Metabolit Sekunder

Pereaksi Mayer (Moelyono, 1996)

Sebanyak 1,36 gram HgCl₂ dilarutkan dalam 60 mL aquades (larutan I). Sebanyak 5 gram KI dilarutkan dalam 10 mL aquades (larutan II). Kedua larutan (larutan I dan II) dicampur lalu diencerkan sampai 200 mL.

Pereaksi Wagner (Heyne dkk., 1987)

Sebanyak 1 gram KI dicampurkan dengan 2,5 mL aquades, kemudian ditambahkan 0,635 gram I₂ lalu diencerkan hingga 50 mL.

Pereaksi Dragendorff (Harbone, 1987)

Sebanyak 2,72 gram KI dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian ditambahkan 1 gram Bi(NO₃)₃ dan 20 mL HNO₃.

Pereaksi Lieberman-Burchard (Moelyono, 1996)

Dicampurkan 3-4 tetes H₂SO₄ pekat (98%) dengan 4-5 tetes larutan asam asetat glasial.

Uji Senyawa Metabolit Sekunder Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.)

Uji Alkaloid (Riaz dkk., 2015)

Sebanyak 5 mL seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL HCl 1% lalu diaduk. Filtrat diambil masing-masing 1 mL kedalam tabung reaksi kemudian masing-masing ditambahkan dengan reagen Wagner, Mayer dan Dragendorff.

Indikasi positif senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih untuk pereaksi Mayer, endapan coklat kemerahan untuk Dragendorff dan endapan coklat untuk pereaksi Wagner (Robinson, 1991).

Uji Flavonoid (Trisnawati dkk, 2020)

Sebanyak 1 mL seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk logam magnesium, kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL asam klorida pekat (10 tetes). Hasil positif uji flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga/kuning.

Uji Steroid dan Terpenoid (Robinson, 1991)

Sebanyak 1 mL sampel seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Indikasi positif senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau.

Indikasi positif senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya lapisan permukaan atau antarmuka berwarna coklat kemerahan (Mariyono, 2015).

Uji Saponin (Riaz dkk, 2015)

Sebanyak 1 mL seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) ditambahkan 10 mL aquades, kemudian larutan dikocok dalam tabung reaksi. Hasil positif uji saponin ditunjukkan adanya buih. Kemudian dihidrolisis menggunakan HCl 2 N, hasil positif uji saponin menunjukkan adanya buih. Untuk mendeteksi adanya saponin steroid dan saponin terpenoid maka dilakukan penambahan kloroform pada sampel kemudian di panaskan selama 5 menit dan diambil lapisan bawah kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard dan akan menghasilkan cincin warna coklat-ungu yang menunjukkan adanya saponin triterpen dan cincin hijau-biru untuk saponin steroid (Jaya, 2010).

Uji Tannin dan Polifenol

Uji fitokimia tanin dan polifenol digunakan 2 tabung reaksi. Sebanyak 1 mL seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes larutan gelatin 1% untuk mendeteksi adanya tanin (Keyman, 2015).

Indikasi positif senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya endapan biru kehitaman atau biru kehijauan (Riaz dkk, 2015).

Tabung kedua ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10% untuk mendeteksi adanya polifenol. Hasil positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pakat (Robinson, 1991).

Uji Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Pembuatan Pereaksi DPPH 0,5 mM (Yuliani dkk, 2015).

Larutan pereaksi adalah DPPH 0,5 mM dalam pelarut etanol dibuat dengan cara menimbang 19,7 mg serbuk DPPH (BM 394,32) kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Volumennya dicukupkan dengan etanol p.a hingga batas tera.

Penentuan Panjang Gelombang DPPH 0,5 mM (Yuliani dkk, 2015)

1 mL larutan DPPH 0,5 mM dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 4 mL etanol p.a dikocok, tutup dengan aluminium foil, dihomogenkan dengan vortex lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 510-520 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan Operating Time Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) (Hasan, 2015)

Seduhan daun salam dibuat pada konsentrasi 125 ppm kemudian dilakukan penentuan *operating time* dengan menambahkan 1 mL larutan DPPH 0,5 mM. dihomogenkan dan diukur absorbansinya pada selang waktu mulai dari 0, 5, 10 sampai 40 menit pada panjang gelombang maksimum.

Pembuatan dan Pengukuran Absorbansi Blanko (Molyneux, 2004)

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,5 mM dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol p.a sebanyak 4 mL. Tutup dengan aluminium foil. Campuran dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya larutan blanko diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,5 mM.

Pengukuran Absorbansi Larutan Uji Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dan Vitamin C (Molyneux, 2004)

Larutan uji pada masing-masing variasi konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 3 mL etanol p.a dan 1 mL larutan DPPH 0,5 mM, dihomogenkan dengan vortex dan selanjutnya diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Larutan uji kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,5 mM. Hal yang sama dilakukan pada masing-masing variasi konsentrasi larutan pembanding Vitamin C.

Analisis dan Pengolahan Data

Penentuan Persen Peredaman (Andayani dkk, 2008)

Penentuan persen pemerangkapan radikal bebas oleh sampel uji seduhan *daun* salam, menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), yaitu dihitung dengan menggunakan rumus:

$$100\% \text{ peredaman} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A Blanko = Absorbansi Tidak mengandung sampel

A Sampel = Absorbansi Mengandung Sampel

Penentuan Nilai IC50 (Molyneux, 2004)

Parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dengan nilai *efficient concentration* (EC50) atau sering disebut nilai IC50, yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH.

Nilai persen penghambat radikal bebas dari teh daun salam (*Eugenia polyantha*) yang diperoleh, kemudian akan digunakan untuk memperoleh persamaan regresi linear menggunakan aplikasi microsoft office excel 2007. Dari persamaan regresi linear yang diperoleh dapat ditentukan nilai IC50 dengan rumus:

$$y = ax \pm b, \text{ sehingga } x = \frac{y \pm b}{a}$$

Keterangan: y = aktivitas penghambat radikal bebas sebesar 50 %
a = intersep b = gradient
x = nilai IC50 yang dicari.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN**A. Uji Senyawa Metabolit Sekunder Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Hasil Uji Senyawa Metabolit Sekunder Seduhan Daun Salam**

Hasil uji senyawa metabolit sekunder seduhan daun salam dapat dilihat pada tabel 1, sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Senyawa Metabolit Sekunder Seduhan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* Wight)

Senyawa Metabolit Sekunder Golonga		Pereaksi	Hasil Pengujian
Alkaloid		Mayer	-
		Wagner	-
		Dragendorf	-
Flavonoid		Mg + HCl Pekat	+
Steroid		Lieberman-	-
	Triterpen	Lieberman-	-
Saponin	Steroid	Lieberman-	-
	Glikosida	Lieberman-	+
Terpenoid		Lieberman-	-
Tannin		Gelatin 1%	+
Fenolik		FeCl3 10%	+

Berdasarkan **Tabel 2** hasil pengujian secara kualitatif menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sek under pada sampel seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) yang teridentifikasi positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, tannin dan fenolik. Sedangkan, golongan senyawa metabolit sekunder yang negatif atau tidak teridentifikasi adalah alkaloid, terpenoid dan steroid.

Golongan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi positif adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polar, maka flavonoid akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain lain. Sampel seduhan daun salam yang direaksikan dengan logam magnesium kemudian ditambahkan dengan asam klorida pekat menghasilkan indikasi positif dengan ditunjukkan pada pembentukan warna kuning. Warna kuning terbentuk karena flavonoid termaksud senyawa fenol (Markam, 1988). Tujuan penambahan logam magnesium dan asam klorida adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina dkk, 2014).

Selanjutnya, golongan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi positif adalah saponin. Saponin merupakan senyawa yang menimbulkan busa stabil jika dikocok dalam air. Busa yang timbul disebabkan saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam pelarut polar hidrofilik dan senyawa

yang larut dalam pelarut non polar atau hidrofobik (Widyasari., 2008). Tetapi, dari hasil identifikasi lebih lanjut melalui hidrolisis saponin untuk memastikan jenis aglikon yang ada pada saponin dengan uji Lieberman-Burchard menunjukkan saponin pada seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) negatif terpenoid dan steroid dan positif saponin glikosida. Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikogen berupa saponin. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan saponin (Nurzaman dkk., 2018).

Senyawa fenolik pada sampel seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) teridentifikasi positif dengan menambahkan larutan $FeCl_3$ menunjukkan penampakan kontras warna hijau kehitaman yang menunjukkan indikasi positif adanya senyawa fenolik. Uji fitokimia dengan menggunakan $FeCl_3$ digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua pada seduhan setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$ karena akan membentuk ion Fe^{3+} . (Sa'adah 2010).

Tannin merupakan senyawa polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein (Noviyanti dkk, 2020). Senyawa tannin teridentifikasi positif dalam seduhan daun salam dengan penambahan larutan gelatin 1% yang menunjukkan terbentuknya endapan putih di dasar tabung reaksi. Endapan yang terbentuk dihasilkan dari sifat tannin yang dapat mengendapkan protein, semua tannin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambah gelatin karena termaksud protein alami (Noviyanti dkk, 2020). Adanya tannin juga akan mengendapkan protein pada gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (Harbone, 1987).

Hasil Penelitian kandungan senyawa metabolit sekunder pada seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) juga dilaporkan oleh Wilapangga dan Lina (2018) pada ekstrak metanol daun salam teridentifikasi positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tannin, didukung penelitian yang dilakukan oleh Trisnawati dkk (2020) hasil maserasi ekstrak metanol daun salam teridentifikasi positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steoid, flavonoid dan fenolik. Perbedaan data hasil penelitian senyawa metabolit sekunder yang dilakukan dapat dipengaruhi oleh faktor metode ekstraksi yang digunakan, berat dan volume sampel uji, pelarut yang digunakan hingga letak tumbuh tanaman.

B. Uji Operating Time Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Hasil Uji Operating Time Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Hasil uji operating time seduhan daun salam dapat dilihat pada tabel 4.2, sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Operating Time Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

Menit Ke	Absorbansi
12q0	0,764
5	0,621
10	0,597
15	0,517
20	0,560
25	0,449
30	0,449
35	0,429
40	0,392

Berdasarkan **Tabel 3** hasil pengujian *operating time* seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) menunjukkan bahwa *operating time* dengan serapan yang stabil yaitu pada menit 25 sampai 30. Maka pengujian antioksidan dilakukan pada menit ke 30, seelah dilakukan penambahan radikal DPPH 0,5

mM dengan vitamin C. *Operating time* ditentukan dengan cara mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yaitu 517,5 nm dengan konsentrasi yang digunakan adalah 125 ppm dengan rentang waktu 0 sampai 40 menit. Penentuan *operating time* (OT) digunakan untuk menentukan waktu paling tepat larutan uji dalam meredam radikal bebas DPPH. *Operating time* menunjukkan bahwa reaksi antara larutan uji dan DPPH telah bereaksi sempurna (Rastuti & Purwati, 2012). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Widyowati dkk (2014) pada penelitiannya tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan metode DPPH. Widyowati dkk (2014) melaporkan *operating time* dengan serapan yang stabil terjadi pada menit ke 15 sampai 30 dengan nilai absorbansi berturut-turut 0,670, 0,671, 0,674 dan 0,675 pada menit ke 35 terjadi penurunan nilai absorbansi 0,662. Maka pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada menit ke 30 setelah penambahan radikal DPPH.

C. Uji Aktivitas Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Hasil uji aktivitas antiradikal DPPH seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dapat dilihat pada table 4.3 berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Aktifitas Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Konsentrasi (ppm)	Persen Penghambatan ± SD	IC ₅₀ (ppm)
31,25	6,7597 ± 0,0725	259,058 ± 19,684 (Sangat lemah)*
62,5	11,802 ± 0,0458	
125	39,056 ± 0,0204	
250	50,347 ± 0,1872	
500	87,435 ± 0,2071	
Blanko DPPH	0	

*Kekuatan antioksidan merujuk pada skala molyneux (2004)

Berdasarkan **Tabel 3** menunjukkan bahwa konsentrasi seduhan daun salam terendah 31,25 ppm hanya mampu menghambat radikal DPPH sebesar $6,7597 \pm 0,0725$ dan terus meningkat hingga pada konsentrasi tertinggi 500 ppm seduhan daun salam mampu menghambat radikal DPPH sebesar $87,435 \pm 0,2071$. Secara keseluruhan **Tabel 4** menunjukkan semakin tinggi konsentrasi seduhan daun salam yang ditambahkan maka akan semakin besar persen penghambatan radikal DPPH yang dihasilkan. Hal ini disebabkan, karena semakin tinggi konsentrasi seduhan yang ditambahkan maka akan semakin banyak senyawa yang memiliki kekuatan antioksidan dalam seduhan daun salam yang berinteraksi dengan radikal DPPH. Reaksi penetralan radikal DPPH oleh seduhan daun salam ditandai dengan perubahan warna yang semula saat ditambahkan radikal DPPH larutan uji berwarna ungu menjadi kekuningan. Perubahan warna larutan uji setelah penambahan sampel seduhan daun salam menjadi kekuningan menunjukkan bahwa radikal DPPH telah tereduksi oleh proses donasi hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan yang bersumber dari seduhan daun salam.

Hubungan antara konsentrasi seduhan daun salam dengan persen penghambatan radikal DPPH dapat digunakan untuk menentukan tingkat kekuatan antioksidan dari seduhan daun salam dengan menggunakan parameter inter pretasi nilai IC₅₀ (*Inhibition concentration*) adalah nilai konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal DPPH (Widyasanti dkk., 2016). Pada penelitian ini, besarnya nilai IC₅₀ seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) yang diperoleh yakni $259,058 \pm 0,3033$. Berdsarkan nilai IC₅₀ yang merujuk pada skala Molyneux (2004) seduhan daun salam tergolong antioksidan sangat lemah. Kekuatan antioksidan seduhan daun salam (*Syzygium polyantum* Wight) dipengaruhi oleh kemampuan senyawa antioksidan yang terkandung di dalamnya dalam mendonorkan elektron kepada radikal DPPH.

Sebagai pembanding kekuatan antioksidan digunakan vitamin C. vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas

antioksidan, hal ini dikarenakan vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang relatif aman dan tidak menimbulkan toksisitas selain itu vitamin C lebih murah dan mudah di diperoleh (Lung dan Destiani., 2017). Perbandingan vitamin C yang digunakan dibuat dengan konsentrasi yang lebih kecil dikarenakan pertimbangan bahwa vitamin C memiliki daya antioksidan yang sangat tinggi. Tesajari (2005) menyatakan bahwa vitamin C merupakan antioksidan yang sangat kuat dan dapat mencegah proses di dalam pangan maupun di dalam tubuh manusia, vitamin C juga dikenal sebagai asam askorbat. Asam askorbat mempunyai kemampuan kuat dalam reduksinya dan bertindak sebagai antioksidan dalam reaksi-reaksi hidroksil (Almatsier., 2009). Berdasarkan hasil penelitian nilai IC₅₀ vitamin C yang diperoleh adalah 7,23 ppm yang tergolong antioksidan sangat kuat, sehingga aktivitas antioksidan seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) jauh lebih lemah dibandingkan dengan vitamin C. Perbedaan nilai IC₅₀ antara seduhan daun salam dan vitamin C, dapat diakibatkan oleh kemampuan masing-masing senyawa dalam memberikan elektron kepada radikal DPPH.

Faktor yang menyebabkan kekuatan antioksidan dalam seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) tergolong sangat lemah dalam percobaan ini di duga senyawa fenolik yang berfungsi sebagai sumber antioksidan terdeteksi dalam bentuk glikosidanya. Glikosida dapat menurunkan aktivitas antiradikal. Penggunaan pelarut juga dapat mempengaruhi kekuatan senyawa metabolit sekunder yang terekstrak. Hal ini dapat dilihat dari penelitian yang dilakukan oleh Bahriul., dkk (2014) yang melaporkan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam dengan menggunakan DPPH. Ekstraksi yang dilakukan adalah ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol selama 2 x 24 jam. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan senyawa antioksidan tergolong sangat kuat dengan masing-masing nilai IC₅₀ pada daun muda, daun setengah tua dan daun tua adalah 37,441 ppm, 14,889 ppm dan 11, 001 ppm.

4. KESIMPULAN.

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka, dapat di tarik kesimpulan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam seduhan dalam salam (*Syzygium polyanthum* Wight) adalah flavonoid, saponin, polifenol dan tannin. *Operating Time* dalam pengujian aktivitas antiradikal DPPH seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) adalah di menit ke 30. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) tergolong sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 259,058 ± 0,3033 ppm.

REFERENSI

- Andayani, R., Y. Lisawati. Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1).
- Almatsier., Sunita. 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia. Yogyakarta.
- Bahriul, P., dkk. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *J.Akad.Kim*. 3(3).
- Fakriah., dkk. 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*.3(1).
- Hani, R. C., Tiana, M. 2016. Review: Manfaat Antioksidan pada Tanaman Buah di Indonesia. *Farmaka Suplemen*. 14(1).
- Harborne, J.B. (1987). *Phytochemical Method*. London: Chapman and Hall.
- Hasan, M.N. 2015. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara In Vitro. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; Malang.

- Haziawati, V. 2014. Pengaruh Pemberian Air Rebusan Daun Salam Terhadap Kadar Asam Urat Lansia Penderita *Gout* di Dusun Modinan Gamping Sleman Yogyakarta. Naskah Publikasi. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan 'Aisyiyah: Yogyakarta.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* (Penerjemah: Badan Litbang Kehutanan). Jilid II. Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan; Jakarta.
- Keyman. (2015). *Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Dan Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kemiri (Aleurites Moluccana L.)*. Skripsi. Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Lung, J. K. S., Destiani, D. P. 2017. Uji Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka*. 15(1).
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* 26(2).
- Moelyono, M.W. 1996. Panduan Praktikum Analisis Fitokimia. Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjajaran: Bandung.
- Riansari, A. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Jantan Galur Wistar. *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Riaz, H., Begum, A., Raza, S. A., Khan, Z. M., Yousaf, H., Tariq, A. (2015). Antimicrobial Property and Phytochemical Study of Ginger Found in Local Area of Punjab – Palistan. *International Current Pharmaceutical Journal*. 4(7).
- Robinson. (1991). *The Organic Constituents of Higher Plants* 6th Edition. USA: University of Massachusetts.
- Simbiring, S., Christina, W., Bariyah, B. 2008. *Identifikasi Komponen Kimia Minyak Daun Salam (Eugenia polyantha) dari Sukabumi dan Bogor*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah.
- Tejasari. 2005. Nilai Gizi Pangan. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Trisnawati, E.L., Winni, A., Rudi, K. 2020. Kemampuan Ekstrak Metanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* AND *Salmonella typhi*. *Jurnal Atomik*. 5(1).
- Widyawati, P. S. R. I. 2012. Determination Of Antioxidant Capacity In *Pluechea Indica* Less Leaves Extract and its Fractions. 8(9).
- Widyowati, H., Maria, U., Sumantri. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. 11(1).
- Wilapangga, A., Lina, P. S. 2018. Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *IJOB*. 2(1).
- Yankusama., Putri. 2016. Pengaruh Rebusan Daun Salam terhadap Penurunan Kadar Asam Urat di Desa Malanggaten Kecamatan Kebakramat Kabupaten Karanganyar. "KOSALA" JIK. 4(1).
- Yuliani, S., N.Purwanti dan T.Indrawati. (2015). *Formulasi Granul Ekstrak Jahe Berkarbonat*. Buletin Tanaman Rempah dan Obat XIII (2).