

**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DENGAN METODE *WATER  
SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1* (WST-1)**



**Oleh :  
Mitha Oktavia Mandasari  
25195900A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2022**

**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DENGAN METODE *WATER  
SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1* (WST-1)**

*SKRIPSI*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)  
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh :  
Mitha Oktavia Mandasari  
25195900A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2022**

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :  
**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)  
EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DENGAN  
METODE *WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1*  
(WST-1)**

Oleh:  
**Mitha Oktavia Mandasari  
25195900A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 11 Januari 2023

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Octari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping

Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si

Penguji :

1. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.Si., Ph.D
2. apt. Mamik Ponco Rahayu, M.Si
3. apt. Avianti Eka Dewi A. P., S.Farm., M.Sc
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

## HALAMAN PERSEMBAHAN



Alhamdulillah segala puji syukur bagi Allah SWT karena berkat limpahan rahmat dan hidayah-Nya, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semua ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari orang yang saya hormati dan saya sayangi. Oleh karena itu, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan hidayah-Nya serta kemudahan, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar dan tepat waktu.
2. Kedua orang tua saya tercinta, Bapak saya Tugiman dan Ibu saya Suratmi yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa, dan kasih sayang yang tiada henti, yang mana saya tidak dapat membalas semua yang telah orang tua saya berikan. Semoga dengan ini dapat membuat orang tua saya bangga.
3. Adik saya Ahmad Iqbal Maulana yang telah memberikan dukungan serta mendoakan saya.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si. dan Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si. selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan bimbingan, pengarahan, masukan, dan dukungan kepada saya sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini tepat waktu. Terimakasih atas ilmu yang telah diberikan sangatlah bermanfaat bagi saya.
5. Sahabat saya Viona, Wahyu, Sendy, Ana, Ningsih, Sesilia, Linda yang selalu memberikan dukungan, semangat, serta doa selama proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
6. Fitriana Novita Sari sebagai sahabat dan tim peneliti saya yang telah membantu dan selalu memberikan dukungan selama perkuliahan dan penyusunan skripsi. Terimakasih telah bersedia menjadi partner berjuangku melawan segala kemalasan.
7. Teman-teman Angkatan 2019 Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini terdapat jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 26 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mitha Oktavia Mandasari', with a horizontal line drawn underneath it.

Mitha Oktavia Mandasari

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK DAUN JAMBU BILJI (*Psidium guajava*L.) DENGAN METODE *WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1* (WST-1)”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. apt. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si., selaku Pembimbing Utamayang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan, serta nasihat dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si., selaku Pembimbing Pendampingyang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan, serta nasihat dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Dosen, karyawan, staff laboratorium serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Bapak dan Ibu tercinta yang telah memberikan dukungan, doa, kasih sayang, serta nasihat demi terselesaikannya skripsi ini.
8. Keluarga besar saya yang telah memberikan doa, semangat, dan dukungan selama proses penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca untuk perkembangan dunia farmasi yang lebih baik.

Surakarta, 26 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mitha Oktavia Mandasari', written over a horizontal line.

Mitha Oktavia Mandasari

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
PERNYATAAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Tanaman Jambu Biji.....	6
1. Klasifikasi Daun Jambu Biji .....	6
2. Morfologi tanaman.....	7
3. Kandungan kimia .....	7
4. Manfaat tanaman.....	8
B. Radikal Bebas.....	8
C. Antioksidan .....	9
1. Pengertian Antioksidan .....	9
2. Manfaat Antioksidan .....	9
3. Penggolongan Antioksidan.....	10
3.1 Antioksidan endogen .....	10
3.2 Antioksidan eksogen.....	10
D. Superoksida Dismutase .....	11
E. Ekstraksi Enzim.....	12
1. Definisi Enzim.....	12
2. Metode Isolasi Enzim.....	12
2.1. Ekstraksi .....	12
2.2. Filtrasi .....	13



2.3. Sentrifugasi .....	13
3. Metode Pemurnian Enzim .....	13
3.1. Presipitasi.....	14
3.2. Kromatografi pertukaran ion. ....	14
3.3. Kromatografi filtrasi gel. ....	14
3.4. Kromatografi afinitas.....	14
F. Penentuan Kadar Protein .....	15
1. Metode Bradford .....	15
2. Metode Biuret.....	15
3. Metode Bicinchoninic Acid (BCA).....	15
4. Metode Lowry .....	15
G. Metode Uji Aktivitas SOD .....	16
1. Micro Tetrazolium.....	16
2. Nitroblue Tetrazolium .....	16
3. Water Soluble Tetrazolium Salt-8 .....	16
4. Water Soluble Tetrazolium Salt-1 .....	17
H. Metode Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (WST-1).....	17
I. Mekanisme uji aktivitas SOD .....	17
J. Bovine SerumAlbumin (BSA) .....	18
K. Landasan Teori .....	18
L. Hipotesis.....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
A. Populasi dan Sampel .....	21
1. Populasi .....	21
2. Sampel.....	21
B. Variabel Penelitian.....	21
1. Identifikasi Variabel Utama.....	21
2. Klasifikasi Variabel Utama.....	21
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	22
C. Alat dan Bahan .....	22
1. Alat.....	22
2. Bahan.....	22
D. Jalannya Penelitian.....	23
1. Determinasi Tanaman.....	23
2. Pengambilan Bahan.....	23
3. Ekstraksi Enzim SOD Daun Jambu Biji .....	23
4. Pemurnian EkstrakEnzim SOD Daun Jambu Biji....	23
5. Pengukuran Kadar Protein dengan Metode Lowry ..	24

5.1	Pembuatan Reagen Lowry .....	24
5.2	Pembuatan Larutan Induk.....	24
5.3	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	24
5.4	Penentuan Operating Time (OT) .....	24
5.5	Pembuatan Kurva Baku .....	24
5.6	Pengukuran Kadar Protein.....	25
6.	Uji Aktivitas Enzim SOD Daun Jambu Biji.....	25
6.1.	Penyiapan WST Working Solution .....	25
6.2.	Penyiapan Enzyme Working Solution .....	25
6.3.	Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif.....	25
6.4.	Penyiapan Sampel Uji .....	25
E.	Analisis Hasil .....	26
F.	Skema Penelitian .....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		32
A.	Determinasi Tanaman.....	32
B.	Pengambilan Sampel .....	32
C.	Ekstraksi Enzim Daun Jambu Biji .....	32
D.	Pemurnian Ekstrak Enzim Daun Jambu Biji.....	34
E.	Pengukuran Kadar Protein dengan Metode Lowry .....	36
F.	Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase .....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		43
A.	Kesimpulan.....	43
B.	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA .....		44
LAMPIRAN .....		51

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Komposisi larutan sampel, kontrol positif dan negatif, serta blanko .....	25
Tabel 2. Hasil ekstraksi daun jambu biji.....	33
Tabel 3. Bobot pelet hasil pemurnian parsial enzim daun jambu biji...	34
Tabel 4. Nilai absorbansi seri konsentrasi larutan BSA .....	36
Tabel 5. Hasil kadar protein dengan metode <i>Lowry</i> .....	37
Tabel 6. Nilai absorbansi blanko pada WST-1 assay .....	39
Tabel 7. Nilai absorbansi sampel menggunakan WST-1 .....	40
Tabel 8. Hasil persen inhibisi enzim SOD .....	40

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L).....	6
Gambar 2. Skema <i>plate 96 well</i> .....	26
Gambar 3. Skema Penelitian .....	27
Gambar 4. Skema Ekstraksi Enzim .....	28
Gambar 5. Skema Pemurnian Enzim.....	29
Gambar 6. Skema Pengukuran Kadar Protein .....	30
Gambar 7. Skema Uji Aktivitas SOD.....	31
Gambar 8. Kurva regresi linear .....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Surat keterangan determinasi jambu biji .....	52
2. Ekstraksi enzim SOD daun jambu biji .....	53
3. Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7,2.....	55
4. Penimbangan konsentrasi amonium sulfat .....	56
5. Hasil pelet dan supernatan presipitasi amonium sulfat .....	57
6. Pembuatan reagen <i>Lowry</i> .....	58
7. Pembuatan larutan induk .....	59
8. Hasil Panjang gelombang maksimum .....	60
9. Hasil <i>operating time</i> .....	61
10. Pembuatan seri konsentrasi kurva baku.....	62
11. Hasil absorbansi kurva baku .....	63
12. Hasil absorbansi kadar protein enzim SOD daun jambu biji.....	64
13. Perhitungan kadar protein total enzim SOD daun jambu biji.....	65
14. Hasil SPSS kadar protein total.....	69
15. Tanda bukti uji aktivitas SOD.....	71
16. Hasil uji aktivitas SOD .....	72
17. Perhitungan persen inhibisi .....	73
18. Hasil SPSS uji aktivitas SOD .....	76

## DAFTAR SINGKATAN

SOD	Superoksida Dismutase
WST-1	<i>Water Soluble Tetrazolium Salt-1</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleat Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
CAT	Katalase
NADH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
<i>Hydrogen</i>	
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
XO	Xantin Oksidase

## ABSTRAK

**MITHA OKTAVIA. M, 2022. UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DENGAN METODE *WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1* (WST-1), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas. Enzim antioksidan meliputi superoksida dismutase, glutathion, dan katalase. SOD dapat memberikan perlindungan pada sel atas radikal bebas yang memunculkan timbulnya beberapa penyakit. Tanaman jambu biji merupakan salah satu tanaman yang mempunyai kegiatan SOD. Penelitian ini memiliki tujuan guna mengetahui aktivitas enzim Superoksida Dismutase (SOD) ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi amonium sulfat 25%, 50%, dan 75% menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium Salt-1*.

Penelitian ini menggunakan daun jambu biji yang di ekstraksi melalui cara penambahan buffer fosfat dan disentrifugasi. Pemurnian enzim SOD menggunakan amonium sulfat dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Tahap selanjutnya penetapan kadar protein dengan metode *Lowry* dan uji aktivitas SOD melalui penggunaan metode WST-1 untuk menghitung persen inhibisi dan dianalisis menggunakan *one way ANOVA*.

Hasil penelitian memperlihatkan jika ekstrak daun jambu biji mempunyai aktivitas enzim SOD. Kadar protein total ekstrak kasar daun jambu biji dan pemurnian amonium sulfat konsentrasi 25%, 50% dan 75% secara berturut-turut nilainya sebesar 9,683 mg/mL; 6,958 mg/mL; 8,842 mg/mL; dan 11,269 mg/mL. Nilai persen inhibisi secara berturut-turut adalah 69,652%; 35,323%; 61,691% dan 79,104 dengan konsentrasi yang paling optimum adalah pada konsentrasi 75%.

Kata kunci : *Psidium guajava* L., radikal bebas, antioksidan, SOD, WST-1

## ABSTRACT

**MITHA OKTAVIA. M, 2022. ACTIVITY TEST OF SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) ENZYME LEAF EXTRACTS OF GUAVA (*Psidium guajava*L.) USING WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1) METHOD, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Antioxidants are substances that can prevent cell damage caused by free radicals. Antioxidant enzymes include superoxide dismutase, glutathione, and catalase. SOD can protect cells against free radicals that cause several diseases. One of the plants with SOD activity is the guava plant. The purpose of this research is to ascertain the superoxide dismutase enzyme activity in guava leaf extract with ammonium sulfate concentrations of 25%, 50%, dan 75% using the *Water Soluble Tetrazolium Salt-1* method.

This study used guava leaves which were extracted by adding phosphate buffer and centrifuging. Ammonium sulfate is used to purify the SOD enzyme at concentrations of 25, 50, and 75%. The Lowry method was used to assess protein content next, and the WST-1 method was used to measure SOD activity and determine the percent inhibition and analyzed using *one way* ANOVA.

The results showed that guava leaf extract had SOD enzyme activity. Total protein content of the crude extract guava leaves and purified ammonium sulfate concentrations of 25, 50 and 75% were 9.683 mg/mL; 6,958 mg/mL; 8,842mg/mL; and 11.269 mg/mL. The percent inhibition values were respectively 69.652%; 35,323%; 61.69% and 79.104% with the most optimum concentration is at a concentration of 75%.

Keywords: *Psidium guajava* L., free radicals, antioxidants, SOD, WST-1



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kehidupan manusia telah menghadapi berbagai banyak pergantian dan pergeseran diikuti dengan kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan. Pergeseran pola hidup manusia membawa pengaruh buruk untuk kesehatan. Dampak buruk yang diakibatkan oleh perubahan pola hidup manusia yaitu seperti pola makan yang tidak sehat. Di samping itu, keadaan lingkungan yang semakin memburuk layaknya banyak polusi yang ditemukan juga dapat mengakibatkan penurunan kualitas hidup manusia melalui menurunnya produksi senyawa-senyawa yang dapat memelihara keadaan tubuh. Senyawa yang dapat memelihara keadaan tubuh yaitu antioksidan alami yang berguna untuk melakukan penetralan radikal bebas yang terciptakan dikarenakan adanya asap rokok, sumber radiasi, polusi udara, zat kimia berbahaya, dan paparan sinar matahari (Arnanda *et al.*, 2019).

Radikal bebas adalah molekul atau sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan maka dari itu akan menarik elektron dari senyawa lain yang ada di sekelilingnya. Di dalam inti sel, senyawa seperti lipid, protein, karbohidrat, dan DNA (*deoxyribo nucleat acid*) dapat ditarik oleh elektron sehingga mengalami kerusakan sel yang dapat mengakibatkan seperti ginjal, kanker, katarak, diabetes melitus, asma, hati, gangguan paru, dan radang usus (Bintarti, 2019). Di dalam tubuh tubuh, radikal bebas adalah produk sampingan dari oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung selama respirasi, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan paparan polusi (asap rokok, asap kendaraan, logam berat, makanan, dan radiasi matahari). Radikal bebas nantinya menjadi stabil apabila radikal bebas berinteraksi dengan molekul sel yang berada di dekatnya untuk mendapatkan pasangan elektron, namun molekul sel tubuh yang kehilangan elektronnya akan mengalami perubahan menjadi radikal bebas. Proses tersebut terjadi secara berkelanjutan pada tubuh, dan jika tidak dihentikan maka nantinya mengakibatkan stres oksidatif yang mengakibatkan rusaknya DNA atau sel, menimbulkan peradangan, serta menyebabkan sejumlah penyakit, antara lain katarak, kanker, penuaan dini dan penyakit degeneratif (Parwata, 2016).

Salah satu penanggulangan bahaya radikal bebas ialah melalui pemberian antioksidan. Antioksidan dapat mencegah stres oksidatif dengan menekan oksidasi molekuler. Peranan penting antioksidan terhadap kesehatan tubuh manusia yaitu mampu menetralkan dan menghambat berlangsungnya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas. Siste kerja dari antioksidan berlangsung ketika reaksi-reaksi inisiasi ataupun propagasi dalam reaksi oksidasi lemak ataupun molekul lainnya pada tubuh melalui metode penetralan radikal bebas atau pendekoposisian peroksida. Penetralan radikal bebas ini dilaksanakan melalui teknik pemberiansatu elektronnya sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil atau berlangsung reaksi terminasi dan reaksi-reaksi radikal berakhir atau stress oksidatif tidak berlangsung pada sel (Zheng dan Wang, 2009).

Stess oksidatif terjadi pada kondisi dimana ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan yang memiliki fungsi untuk memelihara keadaan dari kerusakan jaringan. Stres oksidatif berlangsung ketika produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas beredar bebas lebih dari ntioksidan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah radikal yang sangat reaktif ataupun molekul yang dihasilkan dengan cara intraseluler layaknya mitokondria, peroksisom, dan retikulum endoplasma. Produksi ROS yang berlebihan didalam sel mampu melebihi sistem detoksifikasi seluler sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif (Arief dan Widodo, 2018). Apabila stress oksidatif terjadi dalam waktu yang lama, maka dapat menyebabkan terjadinya kerusakan-kerusakan sel atau jaringan maka dari itu dapat menyebabkan munculnya inflamasi, keganasan, aterosklerosis, penuaan dan iskemia (Arief dan Widodo, 2018). Di dalam sel tubuh kita menyediakan antioksidan enzimatik dan antioksidan non-enzimatik, dimana antioksidan tersebut berfungsi untuk menetralkan ROS (Simanjuntak *et al.*, 2020). Antioksidan yang diperoleh dalam bentuk enzimatik atau juga dikenal sebagai antioksidan endogen adalah sistem pertahanan tubuh terhadap efek aktivitas radikal bebas. Misalnya enzim antioksidan yakni *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase* (GPx), dan enzim katalase (Rahman *et al.*, 2012).

SOD adalah antioksidan dalam bentuk enzimatik dan dihasilkan oleh rantai transport elektron pada rantai pernafasan sel yang menghasilkan hidrogen peroksid (Yuslianti,2018). SOD dapat memberikan perlindungan atas sel terhadap radikal bebas yang dapat menimbulkan

berbagai penyakit. SOD melindungi sel melalui metode pencegahan penyusunan senyawa radikal bebas yang baru ataupun dengan cara perubahan senyawa radikal bebas yang sudah terciptakan menjadi molekul yang kurang reaktif. Anion superoksida dapat diubah oleh SOD menjadi hidrogen peroksida dan oksigen (Yanti *et al.*, 2016). SOD memiliki manfaat menjadi salah satu antioksidan yang paling kuat di alam dan dapat diberikan sebagai suplemen untuk mencegah beberapa penyakit kronis. Enzim SOD dapat menaikkan perbaikan sel dan peremajaan sel dengan cara menekan kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas yang memiliki sifat reaktif. SOD dapat memblokir pembentukan kerutan dan juga dapat meningkatkan penyembuhan luka, mengurangi bekas luka dan mencerahkan pigmentasi kulit akibat sinar UV. Losion dan obat-obatan yang mengandung SOD dapat menunjukkan sifat perbaikan yang disebabkan oleh pembentukan radikal bebas (Islam *et al.*, 2021). SOD memiliki kemampuan untuk melindungi sel baik di dalam maupun di luar, dan dapat digunakan untuk mengobati penyakit. SOD juga dapat membantu meningkatkan efek terapeutik obat dalam mengobati suatu penyakit, dan dapat digunakan sebagai suplemen dan nutrisi bagi tubuh (Younus, 2018).

SOD dapat diperoleh dari tumbuhan yang mengandung senyawa antioksidan. Antioksidan terdapat pada makanan yang terdapat kandungan vitamin C dan E, senyawa fenolik, betakaroten, serta flavonoid. Sumber utama antioksidan terdapat pada tumbuh-tumbuhan karena di dalam tumbuhan seperti pada daun, bunga, buah, serta pada biji-bijian banyak memiliki kandungan senyawa antioksidan seperti tokorefol, asam askorbat, karotenoid, polifenol, dan flavonoid (Bintarti, 2019).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa antioksidan yakni jambu biji (*Psidium guajava* L). Jambu biji (*Psidium guajava* L) ialah tanaman tradisional yang memiliki peran untuk menghambat radikal bebas. Bagian yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional yaitu bagian daun dan buah tanaman jambu biji. Kandungan kimia pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai peran sebagai penghambat penuaan dini (Maulana *et al.*, 2016). Kandungan senyawa kimia pada daun jambu biji (*Psidium guajava*L.) yaitu seperti senyawa karoten, tannin, flavonoid, dan polifenol. Senyawa polifenol yang diperoleh dalam daun diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (Farah, 1970). Kandungan lain yang terdapat dalam daun jambu biji yaitu seperti

asam psidiolat, vitamin, asam guajaverin, asam kratogolat, asam ursolat, dan asam oleanolat. Daun jambu biji kaya akan senyawa flavonoid, terutama kuersetin. Senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan yaitu terdiri dari flavon, flavonon, kalkon, isoflavone, katekin dan flavonol. Senyawa flavonoid juga diketahui mempunyai aktivitas menjadi antioksidan yang mampu mereduksi radikal bebas (Sari *et al.*, 2021).

Pemurnian enzim dilaksanakan melalui penggunaan reaksi pengendapan dengan garam amonium sulfat dengan tiga konsentrasi, yaitu 25, 50 dan 75%. Pada penambahan amonium sulfat dengan konsentrasi yang tinggi dapat mengakibatkan pertambahan kekuatan ion yang diakibatkan oleh terdapatnya interaksi ion garam dengan molekul air dan sebaliknya sehingga akan menyebabkan penurunan interaksi protein dengan air (Rahman *et al.*, 2012). Pada penambahan garam amonium sulfat dengan konsentrasi yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas enzim dan persen inhibisi. (Damanis *et al.*, 2020).

Aktivitas enzim SOD yang terdapat pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yaitu sebesar 100%. Daun jambu biji tergolong memiliki aktivitas SOD yang tinggi (Widowati *et al.*, 2005). Aktivitas enzim SOD dapat diukur dengan menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium salt-1* (WST-1) yang memproduksi pewarna formazan yang larut pada air dalam reduksi dengan anion superoksida. Prinsip pengukuran SOD adalah superoksida atau radikal bebas akan melakukan reaksi dengan WST-1 memproduksi zat warna formazan berwarna kuning. (Widowati *et al.*, 2005).

Pada uji aktivitas enzim SOD dengan menggunakan metode WST-1 didapatkan persen inhibisi. Persen inhibisi digunakan sebagai penentuan persentase hambatan sampel uji terhadap radikal bebas (Munadia dan Aulianshah, 2021). Dengan didasarkan pemaparan tersebut, diperlukan pelaksanaan penelitian uji aktivitas enzim superoksida dismutase dari ekstrak daun jambu biji menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium Salt-1* (WST-1). Penelitian ini memiliki tujuan guna mengetahui kadar protein total dan persen inhibisi ekstrak kasar SOD daun jambu biji dengan pemurnian amonium sulfat pada konsentrasi 25, 50 dan 75% serta mengetahui persen inhibisi yang paling optimum dari variasi konsentrasi pemurnian amonium sulfat.

## **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang dapat disusun dari latar belakang yang di bab sebelumnya ialah antara lain:

1. Apakah ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas enzim SOD ?
2. Berapakah kadar protein total dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian dengan konsentrasi amonium sulfat 25, 50 dan 75% pada daun jambu biji (*Psidium guajava*L.)?
3. Berapakah persen inhibisi dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian dengan konsentrasi amonium sulfat 25, 50 dan 75% pada daun jambu biji (*Psidium guajava*L.) dan berapakah konsentrasi ammonium sulfat yang memberikan nilai persen inhibisi paling optimum?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian yang dapat disusun dari rumusan masalah yang terdapat pada bab sebelumnya ialah antara lain.

1. Untuk mengetahui aktivitas enzim SOD pada ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*L.).
2. Untuk mengetahui kadar protein total dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian dengan konsentrasi amonium sulfat 25, 50 dan 75% pada daun jambu biji (*Psidium guajava*L.).
3. Untuk mengetahui nilai persen inhibisi dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian dengan konsentrasi amonium sulfat 25, 50, dan 75% dan mengetahui konsentrasi amonium sulfat yang memberikan nilai persen inhibisi paling optimum pada daun jambu biji (*Psidium guajava*L.).

## **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini dikehendaki mampu menyediakan informasi, manfaat serta wawasan untuk ilmu pengetahuan pada sektor teknologi bahan alam dan memberikan dasar alamiah potensi SOD dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan hasil penelitian ini juga dapat dimanfaatkan menjadi salah satu alternatif pada pengembangan obat alami atas usaha preventif atau pengobatan berbagai penyakit degeneratif yang diakibatkan oleh radikal bebas.