

Perbandingan Kadar Fenolik Total Antara Seduhan Daun Gaharu Dan Kombucha Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*)

Nurmiati, Ernanin Dyah Wijayanti

Program Studi D3 Farmasi
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
E-mail: nanin.wijayanti@gmail.com

Abstrak

Daun gaharu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, sehingga berpotensi sebagai antioksidan. Fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan karena adanya peningkatan senyawa fenolik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan kadar senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Simplisia daun gaharu dilakukan dengan diseduh pada suhu 80°C selama 30 menit, kemudian difermentasi dengan kombucha selama 10 hari dengan penambahan gula 10%. Pengujian organoleptis meliputi warna, rasa, aroma dan pH. Seduhan dan kombucha daun gaharu diidentifikasi senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan antrakuinon. Hasil identifikasi positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan diuji kadar fenolik total dengan metode Follin Ciocalteau. Hasil penentuan kadar fenolik total pada seduhan sebesar 28,524±0,359 mgGAE/gram dan pada kombucha 62,857±2,104 mgGAE/gram. Kesimpulan dari penelitian ini terdapat perbedaan kadar fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu yang mengalami peningkatan setelah difermentasi.

Kata-kata kunci: Fenolik, Fermentasi, Gaharu

Abstract

*Agarwood leaf contains flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, so it is potential as an antioxidant. Fermentation can increase the antioxidant activity due to the increasing of phenolic compound. This study aims to determine the comparison of total phenolic content of agarwood leaf brew and agarwood (*Aquilaria malaccensis*) leaf kombucha. The agarwood leaf simplicia was prepared by brewing it at 80°C for 30 minutes, then fermented with kombucha for 10 days with 10% of sugar addition. The organoleptic testing includes dye, flavor, aroma and pH. The agarwood leaf brew and kombucha were identified their phenolic, flavonoid, tannin, and anthraquinone. Finding shows that they positively contain phenolic, flavonoid, tannin. The total phenolic content was tested by the Follin Ciocalteau method. The determination result shows that total phenolic content of agarwood leaf brew is equal to 28.524 ± 0.359 mgGAE/gram and the total phenolic of agarwood leaf kombucha is equal to 62.857 ± 2.104 mgGAE/gram. It can be concluded that there is a difference of total phenolic content between the agarwood leaf brew and agarwood leaf kombucha, which has increased after the fermentation.*

Keywords: Agarwood, Fermentation, Phenolic

PENDAHULUAN

Gaharu adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Gaharu merupakan salah satu komoditi perdagangan hasil hutan bukan kayu (HHBK) berupa resin yang dihasilkan dari salah satu jenis pohon penghasil gaharu yaitu jenis *Aquilaria malaccensis* Lamk dari genus *Aquilaria* (Sumarna, 2002 dalam Suhendra, 2012)..

Di Kalimantan Tengah, petani gaharu hanya menjual bagian kayu dan gubalnya saja yang

memiliki nilai jual yang tinggi karena merupakan komoditas ekspor yang bisa dimanfaatkan untuk kerajinan tangan, bahan industri parfum dan kosmetik, sedangkan pada daun gaharu kurang dimanfaatkan. Beberapa kelompok masyarakat yang percaya bahwa rebusan daun gaharu dapat digunakan untuk mengobati penyakit degeneratif, salah satunya adalah penyakit antidiabetes. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Yunus *et al* (2015) yang membuktikan khasiat daun gaharu sebagai antidiabetes. Beberapa kandungan yang terdapat pada ekstrak daun gaharu (A.

malaccensis) melalui skrining fitokimia antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid. Diantara senyawa tersebut, flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Menurut Pratt dan Hudson dalam Rorong (2008), senyawa antioksidan dari tumbuhan termasuk senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, tokoferol dan asam-asam polifungsional. Nithya et al (2016) menyatakan bahwa metabolit sekunder yang tersebar luas pada tumbuhan antara lain senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, dan tanin memiliki berbagai efek biologis, diantaranya kemampuan menangkal radikal bebas, antiinflamasi serta antikanker.

Senyawa fenolik di alam terdapat sangat luas mempunyai variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tanin), dan kuinon fenolik (Fauziah, 2008 dalam Tahir, 2017).

Daun gaharu mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan. Namun sebagian senyawa fenolik sulit dicerna oleh tubuh manusia. Senyawa fenolik yang tinggi ditemukan pada sayuran, kecuali flavonol yang ditemukan dalam bentuk terglisosilasi sehingga sulit dicerna oleh tubuh manusia. Oleh karena itu untuk mempermudah penyerapan perlu dilakukan pemecahan oleh enzim atau mikroba sehingga dapat dicerna atau diserap (Filannino et al., 2016). Maka dibutuhkan suatu proses fermentasi pada daun gaharu agar mudah diserap dan dicerna oleh tubuh manusia.

Pada proses fermentasi menghasilkan senyawa baru dan juga peningkatan senyawa tertentu seperti fenolik. Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Bhanja, 2009 dalam Suhardini 2016). Hal tersebut membuat senyawa tersebut mudah diserap oleh tubuh. Salah satu proses fermentasi yang dilakukan pada seduhan daun gaharu yang memiliki rasa sepat adalah dengan memfermentasi daun gaharu menggunakan kultur kombucha agar dapat memperbaiki cita rasa yang segar pada sediaan. Kultur kombucha terdiri dari *Acetobacter* dan jenis khamir (Mayser et al., 1995 dalam Surhardini 2016).

Fermentasi daun gaharu dapat menghasilkan perubahan baik dari segi organoleptis maupun komposisi senyawa, termasuk senyawa fenolik. Fermentasi diketahui dapat meningkatkan kadar fenolik total pada bunga jaruk tigarun (Nazarni et al, 2016) dan teh herbal Malaysia (Ibrahim, Mustafa & Ismail 2014), namun belum diketahui kadar fenolik total pada hasil fermentasi seduhan daun gaharu dengan kultur kombucha. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar total fenolik pada seduhan daun gaharu sebelum dan sesudah fermentasi sehingga dapat diketahui adanya perubahan kadar fenolik total melalui proses fermentasi.

METODE

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang ditekankan pada perbandingan kadar senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu.

Daun gaharu yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies *Aquailaria malaccensis* yang diperoleh dari Kabupaten Seruyan, Kalimantan Tengah, dan dideterminasi di Materia Medika Batu, Jawa Timur. Simplisia daun gaharu sebanyak 4 g diseduh dengan air 1 L pada suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan gula 10% (b/v) dan dilarutkan. Skrining fitokimia seduhan dan kombucha daun gaharu menggunakan uji reaksi warna dan diuji kadar fenolik total dengan metode spektrofotometri menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Genesis 2.0), reagen reagen Folin Ciocalteau (Merck KGaA) dan standar asam galat (Sigma-Aldrich, $\geq 98,5\%$).

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan uji T (dengan software SPSS versi 15). Data sebelumnya diuji normalitasnya dengan metode Kolmogorov-Smirnov.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi Daun Gaharu

Fermentasi daun gaharu menggunakan kultur kombucha dengan waktu fermentasi selama 10 hari menghasilkan perubahan organoleptis dan pH pada seduhan daun gaharu. Seduhan gaharu sebelum difermentasi memiliki warna coklat, rasa sepat, aroma khas daun gaharu dan pH 6,5. Sedangkan setelah difermentasi dengan kultur kombucha menghasilkan warna coklat, rasa masam, aroma khas kombucha dan pH 3,0.

Rasa sepat pada seduhan daun gaharu disebabkan

karena daun gaharu mempunyai kadar tanin yang tinggi (Batubara et al., 2017).

Sedangkan kombucha daun gaharu memiliki rasa masam yang dihasilkan oleh aktivitas *Acetobacter* dan beberapa jenis khamir dalam merubah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida yang kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. *Acetobacter* sebagai bakteri utama dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat (Naland, 2008).

Identifikasi Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam sampel seduhan dan kombucha daun gaharu. Senyawa yang diidentifikasi antara lain fenolik, flavonoid, tanin, dan antrakuinon. Hasil identifikasi fitokimia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Fitokimia

Senyawa	Seduhan Daun Gaharu	Kombucha Daun Gaharu
Fenolik	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Antrakuinon	-	-

Pada pengujian identifikasi fitokimia, seduhan dan kombucha daun gaharu positif mengandung senyawa golongan fenolik, flavonoid, dan tanin. Sedangkan golongan senyawa yang tidak teridentifikasi yaitu senyawa antrakuinon. Adanya senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan menandakan bahwa tumbuhan tersebut memiliki senyawa antioksidan. Menurut Yusuf et al., (2015) kandungan yang terdapat pada ekstrak daun gaharu (*A. malaccensis*) melalui skrining fitokimia antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid.

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan melalui penambahan FeCl₃ 5%. Penambahan FeCl₃ 5% akan menyebabkan terjadinya perubahan warna seperti warna hijau, kuning, orange, atau merah (Harborne, 1987 dalam Nafisah 2014). Pada pengujian fenolik seduhan daun gaharu terbentuk warna orange dan kombucha daun gaharu terbentuk warna orange kehitaman. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa seduhan daun

gaharu dan kombucha daun gaharu warna positif mengandung fenolik.

Identifikasi senyawa flavonoid dapat diuji keberadaannya menggunakan Mg dan HCl pekat. Senyawa flavonoid dapat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga ketika tereduksi dengan Mg dan HCl (Harborne, 1987 dalam Munte 2015). Pada pengujian flavonoid seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu terbentuk warna jingga. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu positif mengandung flavonoid.

Identifikasi senyawa tanin dilakukan melalui penambahan FeCl₃ 1%. Penambahan FeCl₃ 1% akan menyebabkan terjadinya perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Baud et al., 2014 dalam Munte 2015). Menurut Sangi et al., (2008), tanin terhidrolisis akan menunjukkan warna biru kehitaman sedangkan tanin terkondensasi akan menunjukkan warna hijau kehitaman ketika penambahan FeCl₃. Pada pengujian seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu terbentuk warna hijau kehitaman. Hasil identifikasi ini menunjukkan seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu positif mengandung tanin terkondensasi.

Identifikasi antrakuinon akan memberikan karakteristik warna merah, violet, hijau atau ungu dengan basa (Marliana et al., 2005 dalam Munte 2015). Jika larutan berubah warna menjadi merah maka positif antrakuinon. Jika larutan berubah warna menjadi kuning maka positif antron dan diantron (Setyawaty et al., 2014 dalam Munte 2015). Pada pengujian seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu tidak terbentuk perubahan warna. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu negatif mengandung antrakuinon.

Penentuan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total menggunakan metode Folin Ciocalteu. Metode ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total dalam tanaman dengan pertimbangan bahwa dengan teknik ini pengerjaannya lebih sederhana dan reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya.

Analisis kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang absorbansinya

diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pourmorad dkk; 2006, dalam Sari, 2017). Larutan standar yang digunakan adalah asam galat yang merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Menurut Viranda (2009) dalam Sari (2017) asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana. Asam galat direaksikan dengan reagen Folin Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenolik, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin Ciocalteu, membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molibdenumtungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat.

Untuk menentukan kadar fenolik totalnya, terlebih dahulu penentuan panjang gelombang maksimal dengan dilakukan scanning dari panjang gelombang 400-800 nm dan diperoleh panjang gelombang yaitu 775 nm kemudian pengukuran operating time. Hasil operating time diperoleh pada menit ke-60 nilai absorbansi yang diperoleh telah stabil, berarti reaksi telah berjalan sempurna.

Dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dari beberapa konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y=0,0075x-0,2229$ dengan koefisien korelasi (r) 0,9865. Berdasarkan persamaan tersebut, maka diperoleh hasil perhitungan kadar fenolik total yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar Fenolik Total

Sampel	Kadar Fenolik Total (mgGAE/gram)
Seduhan Daun Gaharu	28,542±0,359 ^a
Kombucha Daun Gaharu	62,857±2,104 ^b

*Notasi huruf yang berbeda pada nilai kadar fenolik total menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan hasil uji T menggunakan SPSS versi 15.

Berdasarkan data pada Tabel 2, seduhan daun

gaharu memiliki kadar fenolik total yang lebih rendah dari kombucha daun gaharu. Kadar fenolik total pada kombucha daun gaharu mengalami peningkatan sebesar 220% dan berdasarkan uji T, kadar fenolik total antara seduhan dan kombucha daun gaharu berbeda secara signifikan, sehingga dapat diketahui bahwa fermentasi kombucha dapat meningkatkan kadar fenolik total pada daun gaharu.

Senyawa fenolik dikenal sebagai metabolit sekunder, yang penting, berasal dari fenilalanin dan tirosin. Senyawa-senyawa ini mengandung dalam jumlah besar beragam dalam tumbuhan. Senyawa fenolik pada tanaman penting dan memiliki potensi sebagai antioksidan karena kelompok hidroksil yang dapat mencegah radikal bebas (Nithya et al. 2016).

Berdasarkan hasil penentuan kadar fenolik total seduhan daun gaharu, terjadi peningkatan total fenolik setelah seduhan daun gaharu difermentasi dengan kombucha. Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi kombucha dapat meningkatkan fenolik total daun gaharu. Peningkatan fenolik total dapat terjadi karena aktivitas dari *Acetobacter* dan beberapa jenis khamir dan penambahan gula yang digunakan proses fermentasi. Proses fermentasi glukosa menjadi alkohol dan karbon dioksida yang kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. *Acetobacter* sebagai bakteri utama dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat. Setelah beberapa hari melakukan aktivitasnya, koloni jamur dan bakteri akan berkumpul dalam cairan tersebut hingga menjadi cairan asam (Naland, 2008). Dalam proses fermentasi khamir memiliki kemampuan menghasilkan enzim vinyl phenol reductase, dimana menurut Shahidi dan Nazck dalam Suhardini (2016) enzim tersebut dengan enzim ferulic acid reductase akan membentuk fenol akibat dekarboksilasi asam sinamat dan asam firulat. Asam sinamat merupakan senyawa fenol yang berperan sebagai antioksidan alami tumbuhan. Asam ferulat adalah turunan dari golongan asam hidroksi sinamat, yang memiliki kelimpahan yang tinggi dalam dinding sel tanaman yang merupakan senyawa aktif bersifat antioksidan.

Hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian lain dimana terjadi peningkatan kadar fenolik total setelah proses fermentasi, yaitu pada fermentasi sari buah tin (Wijayanti et al., 2017). Namun pada fermentasi sari buah tin tersebut

terjadi penurunan kadar flavonoid (Wijayanti and Setiawan, 2017).

Penelitian ini merupakan penelitian awal untuk mengetahui bahwa fermentasi dapat meningkatkan kadar fenolik daun gaharu. Namun belum diketahui pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas antioksidan untuk mengetahui adanya peningkatan kadar antioksidan pada fermentasi kombucha daun gaharu.

DAFTAR RUJUKAN

Batubara, R., Surjanto, T. Ismanelly H. 2017. Kelayakan Daun Gaharu Endemik Sumatera (*Wikstroemia tenuiramis* Miq) Sebagai Bahan Baku Teh Gaharu yang Kaya Antioksidan. Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY.

Filannino, P., I. Cavoski, N. Thlien, O. Vincentini, M. De Angelis, M. Silano, M. Gobetti, R. D. Cagno. 2016. Lactic Acid Fermentation of Cactus Cladodes (*Opuntia ficus-indica* L.) Generates Flavonoid Derivatives with Antioxidant and Anti-Inflammatory properties. *PLoS ONE*, 11(3): 1-22

Ibrahim, N. A., S. Mustafa and A. Ismail. (2014). Effect of Lactic Fermentation on The Antioxidant Capacity of Malaysian Herbal Teas. *International Food Research Journal* 21(4): 1483-1488.

Munte, L., M. R. Runtuwene, G. Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(3): 41-50.

Naland, Henry. 2008. *Kombucha; Teh Dengan Seribu Khasiat*. Agromedia

Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati., N. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). Prosiding Seminar Nasional Kimia

Nazarni, R., Purnama, D., Umar, S. and Eni, H. (2016). The Effect Of Fermentation On Total Phenolic, Flavonoid And Tannin Content And Its Relation To Antibacterial Activity In Jaruk Tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM). *International Food Research Journal* 23 (1): 309-315.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu. Kadar fenolik total mengalami peningkatan setelah difermentasi dengan kombucha.

Nithya, T.G, Jayanthi J, Rangunathan M.G. (2016). Antioxidant Activity, Total Phenol, Flavonoid, Alkaloid, Tannin, And Saponin Contents Of Leaf Extracts Of *Salvinia Molesta* D. S. Mitchell (1972). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(1), 200-203

Rorong, J. A. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Cengkeh (*Eugenia Carryophyllus*) Dengan Metode DPPH. *Chem Prog*, 1(2): 111-115.

Sangi, M., Max R. J. Runtuwene, Herny E. I. Simbala, Veronica M. A. Makang. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.*, 1 (1), 47-53

Sari, A. K. dan N. Ayuhecaria. 2017. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Estrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2 (2): 327-335.

Suhardini, P. N., dan E. Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1): 221-229.

Suhendra, A., Y. P. Roswanjaya, D. P. Handayani 2012. Aplikasi Inokulasi *Fusarium* Untuk Mempercepat Proses Pembentukan dan Produksi Gubal Gaharu di Kabupaten Penjaman Paser Utara Kalimantan Timur. Prosiding InSINas.

Tahir, M., Muflihunna, A. Syafrianti. 2017. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon Cablin Benth*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4 (1): 215-218.

Wijayanti, E. D., N. C. E. Setiawan, J. P. Crisi. 2017. Effect of Lactic Acid Fermentation on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Fig Fruit Juice (*Ficus carica*). *Advances in Health Sciences Research (AHSR)*, volume 2, Atlantis Press.

Wijayanti, E.D.&N. C. E. Setiawan. 2017. The Effect of Lactic Acid Fermentation on Fig (*Ficus carica*) Fruit Flavonoid. *Journal of Biological Researches*, 23 (1), 39-44

Yusuf, S., A. Jayuska, N. Idiawati. 2016. Isolasi dan Karakteristik Senyawa Triterpenoid dari Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.). *J. Kim Khatulistiwa*, 5(1): 65-69