

UJI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI EKSTRAK METANOL DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii* (Gilg). Domke) DENGAN METODE DPPH

Rini Isromarina¹, Reza Agung Sriwijaya

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang

Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan

e-mail : ¹riniisromarina@gmail.m

ABSTRAK

Bahan alam sebagai obat herbal untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas banyak digunakan saat ini. Salah satu tanaman yang digunakan untuk pengembangan obat herbal adalah tanaman Gaharu. Kandungan senyawa Daun gaharu *Gyrinops versteegii* dan manfaatnya sebagai antioksidan belum banyak diteliti. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak metanol daun Gaharu serta mengidentifikasi golongan senyawa bioaktif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun gaharu dan fraksi II (metanol : etil asetat = 5 : 1) memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan masing-masing IC₅₀ 11,659 µg/mL dan 12, 958 µg/mL. Golongan senyawa bioaktif sebagai antioksidan adalah fenol, flavonoid, dan tanin.

Kata kunci : Antioksidan, ekstrak, *Gyrinops versteegii*, metabolit sekunder

PENDAHULUAN

Produk alami tumbuhan terus dikembangkan untuk memperoleh obat baru yang memiliki efek farmakologis. Tumbuhan yang banyak dieksplorasi adalah kelompok tumbuhan tingkat tinggi yang memiliki kemampuan memproduksi metabolit sekunder dalam jumlah besar (Castello *et al.*, 2002). Penelitian Khalil (2013) dan Kamonwannasit *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak daun gaharu jenis *Aquilaria* diketahui berpotensi sebagai antioksidan.

Gaharu merupakan salah satu bahan alam yang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Masyarakat Papua telah menggunakan daun, kulit dan akar gaharu sebagai obat malaria dan perawatan kulit (Sumarna, 2002). Daun gaharu dapat dimanfaatkan sebagai analgesik dan antiinflamasi (Zhou *et al.*, 2008; Eswaraiyah *et al.*, 2012). Daun gaharu digunakan sebagai minuman kesehatan di Vietnam, Kamboja dan Thailand (Kamonwannasit *et al.*, 2013).

Berbagai penyakit seperti neurodegeneratif, inflamasi, dan kerusakan pada sistem pencernaan disebabkan oleh radikal bebas yang berasal dari polusi udara, asap rokok dan sinar UV (Rappetto dan Ilesuy, 2002; Aruoma, 2003; Surh dan Fergusson 2003). Selain itu, radikal bebas dapat merusak membran sel, merubah susunan DNA, menonaktifkan protein, merubah zat kimia dalam tubuh dan dapat meningkatkan resiko terkena kanker. Salah satu upaya alternatif untuk mengatasi radikal bebas adalah dengan memanfaatkan senyawa antioksidan alami tumbuhan.

Pemanfaatan daun gaharu jenis *Gyrinops versteegii* Gilg. Domke belum banyak dikenal oleh masyarakat dan penelitian terkait senyawa yang terkandung dalam daun gaharu belum banyak dilakukan terutama di Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian identifikasi golongan senyawa dan uji aktivitas antioksidan daun gaharu.

METODE PENELITIAN

Alat

Sokhlet, alat gelas, cawan porselen, neraca analitik, bejana KLT, mikropipet, lampu UV λ 254 nm dan UV λ 366 nm dan spektrofotometer UV-VIS.

Bahan

Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke), kloroform (Merck), metanol (Merck), etil asetat (Merck), n-heksan (Merck), akuades, kristal 1,1-Difenil-2-difikrilhidrazil (DPPH) dan Vitamin C (asam askorbat), plat silika jel 60 F₂₄₅ (Merck), FeCl₃, sitroborat, anisaldehyd asam sulfat, asam galat, quersetin, tymol, dan kertas saring.

Prosedur

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan berupa daun Gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke) berumur tua yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat.

Preparasi sampel

Daun Gaharu dibersihkan, dikeringanginkan kemudian dibungkus kertas koran, selanjutnya dijemur. Proses pengeringan sampel selanjutnya di oven pada suhu 40°C selama 7 hari. Hal ini bertujuan agar sampel benar-benar kering.

Pembuatan Ekstrak Daun Gaharu

Daun Gaharu diekstraksi dengan menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut metanol. Serbuk daun gaharu seberat 10 gr dibungkus kertas saring dimasukkan dalam tabung sokhlet dan 150 mL metanol dimasukkan dalam labu penampung. Ekstrak metanol daun Gaharu berupa pasta dimasukkan dalam flakon.

Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Gaharu

Fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi cair hampa (*Vacuum Liquid Chromatography/ VLC*) dengan fase diam serbuk silika gel GF₂₅₄ dan berbagai macam fase gerak. Pada penelitian ini ekstrak metanol daun gaharu tua 2,2 gr difraksinasi dengan menggunakan fase gerak yang terdiri dari kloroform 100%, etil asetat 100%, metanol : etil asetat = 5 : 1, metanol 100% dan akuades 100% masing-masing 100 mL.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Metanol Daun Gaharu

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif DPPH

DPPH 1,972 mg dilarutkan ke dalam metanol 100 mL dengan konsentrasi 0,05 mM.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif Vitamin C

Vitamin C 5 mg dilarutkan dalam 5 mL akuades dengan konsentrasi 100 μ g/mL, kemudian dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 μ g/mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 1,9 mL dimasukkan kedalam mikrotube ditambahkan 0,1 mL metanol dihomogenkan, kemudian diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Campuran DPPH dan metanol dimasukkan dalam kuvet diukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-VIS.

Penentuan Absorbansi Sampel dan Perhitungan Persen Redaman Radikal Bebas

Ekstrak dan fraksi metanol daun Gaharu masing-masing dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 1; 10; 25, 45, 70, 100 μ g/mL. Larutan DPPH 1,2 mL dimasukkan kedalam mikrotube, kemudian ditambahkan masing-masing ekstrak dan fraksi metanol daun Gaharu dengan berbagai konsentrasi sebanyak 0,8 mL (DPPH : ekstrak = 3 : 2).

Campuran larutan DPPH dan ekstrak diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (517 nm) dengan spektrofotometer UV-VIS. Persen redaman dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ redaman} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel} \times 100\%}{A \text{ kontrol}}$$

Keterangan : A = Absorbansi

Penentuan Nilai IC₅₀

Data persen redaman radikal bebas pada variasi konsentrasi selanjutnya digunakan untuk menentukan harga IC₅₀ sampel. Penentuan harga IC₅₀ dengan analisis probit dan persamaan regresi linear $y = ax + b$, dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai IC₅₀.

Penentuan Golongan Senyawa Bioaktif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Golongan senyawa fenolik dideteksi dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5) dan pembanding asam galat. Golongan senyawa flavonoid menggunakan fase gerak heksan : etil asetat : asam formiat (6 : 4 : 0,2) dan pembanding quersetin. Golongan senyawa tanin menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5 : 9 : 0,5) dan pembanding asam galat. Golongan senyawa terpenoid menggunakan fase gerak heksan : etil asetat (93 : 7) dan pembanding tymol.

ANALISA DATA

Data yang diperoleh adalah persen redaman radikal bebas ekstrak dan fraksi ekstrak metanol daun Gaharu, IC₅₀ antioksidan dan golongan senyawa bioaktif. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan analisis probit dan persamaan regresi linear.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Gaharu

Fraksinasi ekstrak metanol daun gaharu tua menghasilkan lima fraksi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun gaharu tua.

Fraksi	Fase gerak
I	Kloroform 100%
II	Etil asetat 100%,
III	Metanol : etil asetat = 5 : 1
IV	Metanol 100%
V	Akuades 100%

Urutan eluen berdasarkan polaritas pelarut mulai dari yang nonpolar sampai polar. Menurut Holme dan Peck (1998), eluen yang dituang ke dalam kolom kromatografi diawali dengan yang polaritasnya rendah, sehingga senyawa yang kurang polar keluar terlebih dahulu diikuti senyawa semipolar dan polar. Ketika sederetan eluen dengan polaritas yang tinggi dialirkan melalui silika gel, senyawa non polar terdesak keluar kolom terlebih dahulu diikuti senyawa semipolar dan terakhir senyawa polar. Fraksi selanjutnya diuji aktifitas antioksidannya.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Gaharu

Ekstrak metanol daun gaharu memiliki kemampuan meredam radikal bebas paling tinggi yaitu 92,26% pada konsentrasi 100 µg/mL (Tabel 2) dengan nilai IC₅₀ 11,659 µg/mL. Penelitian Huda *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Gaharu jenis *Aquilaria malaccensis* memiliki aktivitas antioksidan. Potensi ekstrak metanol tersebut dimungkinkan karena metanol mampu menarik senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavanoid dan tanin yang diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan alami (Khalil, 2013; Amansour *et al.*, 2010; Kavitha dan Satish, 2013).

Tabel 2. Persentase rerata redaman radikal bebas ekstrak metanol daun gaharu

Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Gaharu ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata Redaman Radikal Bebas (%) \pm SD
1	42,19 \pm 2,16
10	49,82 \pm 0,87
25	57,80 \pm 2,03
45	68,06 \pm 3,45
70	79,34 \pm 2,35
100	92,26 \pm 1,79

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Metanol Daun Gaharu

Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi ekstrak metanol daun gaharu menunjukkan

Tabel 3. Persentase rerata redaman radikal bebas fraksi ekstrak metanol daun gaharu tua

Konsentrasi Fraksi ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata Peredaman Radikal Bebas (%) \pm SD				
	Fraksi				
	I	II	III	IV	V
1	41,64 \pm 1,04	42,12 \pm 1,60	41,31 \pm 1,28	42,35 \pm 0,33	41,95 \pm 0,23
10	43,04 \pm 0,50	46,17 \pm 1,62	45,84 \pm 0,71	45,78 \pm 0,32	46,20 \pm 4,13
25	47,93 \pm 0,97	47,92 \pm 4,30	58,29 \pm 0,60	50,07 \pm 4,93	53,16 \pm 1,34
45	54,28 \pm 3,03	54,39 \pm 0,57	72,10 \pm 0,93	53,27 \pm 0,72	57,58 \pm 1,73
70	56,95 \pm 0,80	57,38 \pm 0,08	82,83 \pm 0,83	62,18 \pm 4,17	62,60 \pm 0,85
100	64,00 \pm 0,31	63,80 \pm 0,44	93,61 \pm 0,07	68,31 \pm 0,81	75,81 \pm 0,81

Berdasarkan nilai IC_{50} diketahui bahwa semua fraksi ekstrak metanol memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 40 \mu\text{g/mL}$. Fraksi III memiliki nilai IC_{50} paling rendah 12,958 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi I memiliki nilai IC_{50} paling tinggi 36,078 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa Fraksi II merupakan fraksi potensial yang memiliki aktivitas antioksidan. Sanchez-Moreno *et al.* (1999), menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas antioksidan semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh. Nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC_{50} ekstrak metanol dan fraksi ekstrak metanol daun gaharu.

Jenis ekstrak dan Fraksi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD
Ekstrak metanol	11,659 \pm
Fraksi I	36,078 \pm 1,11
Fraksi II	32,492 \pm 1,44
Fraksi III	12,958 \pm 0,74
Fraksi IV	27,790 \pm 1,88
Fraksi V	22,305 \pm 1,51
Vitamin C	2,12 \pm 0,38

bahwa pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ fraksi III (metanol : etil asetat = 5 : 1) memiliki persentase redaman paling tinggi yaitu 93,61%. Woo *et al.* (2011) melaporkan bahwa fraksi yang menggunakan pelarut polar pada umumnya mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi yang kurang polar seperti n-heksan dan kloroform. Selanjutnya Robinson (1995), melaporkan bahwa golongan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti fenol dan flavonoid mampu larut pada pelarut yang bersifat polar.

Hasil identifikasi Golongan Senyawa Fraksi III Ekstrak Metanol Daun Gaharu dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tabel 5. Hasil identifikasi golongan senyawa bioaktif fraksi III

Golongan senyawa	Pereaksi semprot	Keterangan
Fenolik	FeCl_3	+
Flavonoid	Sitroborat	+
Tanin	FeCl_3	+
Terpenoid	Anisaldehyd asam sulfat	-

Hasil identifikasi KLT menunjukkan bahwa fraksi III ekstrak metanol daun gaharu tua mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin. Ketiga senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan. Menurut Sala *et al.*, (2002) dan Kaur *et al.*, (2011) menyatakan bahwa tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid dan tanin memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun gaharu dan fraksi III ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan masing-masing IC₅₀ 11,659 dan 12,958 µg/mL. Senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dalam daun Gaharu berperan dalam menangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa daun gaharu dapat digunakan sebagai antikosidan alami.

SIMPULAN

Ekstrak metanol dan fraksi ekstrak metanol daun Gaharu memiliki aktivitas antioksidan dengan masing-masing IC₅₀ 11,659 µg/mL dan 12,958 µg/mL.

Senyawa yang terkandung dalam daun gaharu yang berperan sebagai antioksidan adalah fenolik, flavonoid, dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Aruoma, O.I. 2003. Methodological Considerations for Characterizing Potential Antioxidant Actions of Bioactive Components in Food Plants. *Mut. Res.* 25 (9) : 523- 524.
- Eswaraiah, M.C., Rahman, H., dan Vakati, K. 2012. In-Vivo and In-Vitro Anti-Inflammatory Activity of *Aquilaria agallocha* Oil. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy (IJBMS)*. 2 (1).
- Holme, D.J dan Peck, H. 1998. Analytical Biochemistry. 3rd edition. Prentice Hall, Addison Wesley Longman, Ltd. Singapore.
- Huda, A.W. N., Munira, M.A.S., Fitrya SD., dan Salmah, M. 2009. Antioxidant activity of *Aquilaria malaccensis* (Thymelaeaceae) leaves. *Pharmacognosy Res.* 1:270-273.
- Kamonwannasit, C., Nantapong, N., Kumkrai, P., Luecha, P., Kupittayanant dan Chudapongse, N. 2013. Antibacterial Activity of *Aquilaria crassna* Leaf Extract Against *Staphylococcus epidermidis* by Disruption of Cell Wall. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 7 p.
- Kavitha, K.S dan Shatish, S. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activities from *Toona ciliate* Roemer. 2013. *Journal aof Analytical Science and Technology.* 4 : 23.
- Khalil, A. S., Rahim, A. A., Taha, K. K. dan Abdallah, K. B. 2013. Characterization of Methanolic Extracts of Agarwood Leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences.* 1 (3) : 78 - 88.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi Ke-6. Penerbit ITB. Bandung.
- Sumarna, Y. 2002. *Budi Daya Gaharu*. Swadaya, Jakarta.
- Woo, K., Song, J., Lee, S., Kang, J., Seo, M., Kwak, D., Oh, B., Nam, M. dan Jeong H. 2011. Antioxidant Compounds and Antioxidant Activities of the Methanolics Extract from Cockscom (*Celosia cristata* L.) Flowers. *Planta Medica* 12.
- Zhou, M., Wang, H., Suolangjiba., Kou, J., dan Yu, B. 2008. Antinociceptive and Anti- Inflammatory Activities of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. Leaves Extract. *J Ethnopharmacol.* 117: 345 - 350.

