

SCREENING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS EKSTRAK METANOL DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*)

I Made Mega¹⁾ dan Dewa Ayu Swastini²⁾

¹⁾*Fakultas Pertanian Universitas Udayana, PB Sudirman Denpasar*

²⁾*Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

ABSTRAK

Telah dilakukan screening fitokimia dan uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Screening fitokimia dilakukan dengan metoda uji warna dengan beberapa pereaksi. Aktivitas antiradikal bebas ditentukan dengan metode difenil pikril hidrazil (DPPH) secara spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur % peredamannya pada panjang gelombang 497, 517 dan 537 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mengandung metabolit sekunder seperti senyawa fenol, flavonoid dan terpenoid dan besarnya aktivitas antiradikal bebas dengan % peredamannya = 106,32 % (5 menit) dan 111,31 % (60 menit).

Kata kunci : aktivitas antiradikal bebas, metode DPPH, gaharu, screening fitokimia

ABSTRACT

It has been done screening fitokimia and the determination of free antiradical activity extract methanol of gaharu leaf. The screening fitokimia determined by the colour test and free antiradical activity determined by diphenyl pykriil hydrazil (DPPH) method according to sphectrophotometry UV-Vis, before that the honey was diluted with methanol and then the absorbance was measured on 497nm, 517 nm, and 537 nm. The result showed that methanol extract of gaharu leaf contain phenol, flavonoid and terpenoid compound and the free antiradical activity showed inhibitor percent is 106,32 % (5'') and 111,31 % (60').

Keywords : anti-freeradical activity, DPPH method, gaharu, fitochemistry screening

PENDAHULUAN

Pengembangan penelitian obat tradisional sebenarnya sudah dikembangkan puluhan tahun yang lalu melalui apa yang dicantumkan dalam GBHN 1993 yaitu Pemeliharaan & Pengembangan Pengobatan tradisional sebagai warisan budaya bangsa (ETNOMEDISINE) terus ditingkatkan dan didorong pengembangannya melalui penggalian, penelitian, pengujian dan pengembangan serta penemuan obat-obatan termasuk budidaya tanaman obat tradisional yang secara medis dapat dipertanggungjawabkan. Dalam hal ini

dapat di formulasikan menjadi 5 hal pokok yang harus diperhatikan yaitu etnomedicine, agroindustri tanaman obat, iftek kefarmasian dan kedokteran, teknologi kimia dan proses, pembinaan dan pengawasan produksi atau pemasaran bahan dan produk obat tradisional. Salah satu diantara tanaman obat tradisional tersebut adalah tanaman gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Etnomdisine merupakan warisan turun temurun dari nenek moyang yang harus dikembangkan, dikaji secara ilmiah dan dicatat /didokumentasikan sebaik mungkin sebelum mengalami kepunahan atau hilang. Adapun

Etnomedicine yang digunakan sebagai acuan adalah :

1. Cabe Puyang warisan nenek moyang,
2. Ayur weda,
3. Usada Bali,
4. Atlas tumbuhan obat Indonesia (Dalimarta),
5. Tumbuhan Obat Indonesia (Hembing), dan
6. Tumbuhan Berguna Indonesia (Heyne).

Agroindustri tanaman obat khususnya dikembangkan budidaya tanaman obat agar mudah didapat dan tidak mengalami kelangkaan. Khusus bagi tanaman yang hampir langka perlu adanya pengembangan budidaya melalui kultur jaringan dan selanjutnya dikembangkan di lapangan.

Setelah dibudidayakan sebanyaknya perlu dikembangkan lebih lanjut teknologi proses melalui teknologi farmasi dan kedokteran baik melalui eksplorasi sumber daya alam tanaman obat asli Indonesia melalui penelitian, uji bioaktivitasnya, pembuatan sediaan fitofarmakanya dan standarisasi bahan-bahan/simplisia sehingga warisan turun temurun yang digunakan oleh nenek moyang dapat dikembangkan secara ilmiah atau medis. Seperti misalnya budidaya, uji fitokimia, uji bioaktivitas dan pembuatan formula sediaan fitofarmaka tanaman gaharu sebagai tanaman obat tradisional agar manfaat tanaman gaharu dapat ditingkatkan.

Secara tradisional Cina tanaman gaharu dipergunakan sebagai obat : penghilang stress, gangguan ginjal, hepatitis, sirosis, pembengkakan hati dan ginjal, bahan antibiotic untuk TBC, reumatik, kanker, malaria dan tukak lambung.

Secara tradisional Tibet tanaman gaharu dapat dipergunakan sebagai obat : anti asmatik, antimikroba, stimulant kerja syaraf, sakit perut, perangsang nafsu birahi, penghilang rasa sakit, kanker, diare, ginjal, tumor dan paru-paru.

Kandungan kimia tanaman gaharu antara lain adalah : noroxo-agarofuran, agarospirol, 3,4-dihidroxy dihydroagarofuran, p-methoxy-benzylaceton, aquilochin, Jinkohol, jinkohol ermol, dan kusunol.

Inti gaharu atau gubal gaharu atau *aloeswood* atau *eaglewood* atau *agarwood* yang merupakan inti gaharu, damarwangi atau resin.

Inti gaharu ini merupakan substansi aromatic (resin aromatic/berbau harum) yang termasuk dalam golongan sesquiterpen dan memiliki struktur kimia yang spesifik dan sampai saat ini belum bias disintesis di laboratorium. Inti ini banyak mengandung minyak atsiri sehingga banyak dipergunakan sebagai parfum, kosmetik, hio/dupa dan obat-obatan.

Sebagai obat kanker maka erat hubungannya dalam antiradical bebas dimana antiradical bebas dapat mencegah terjadinya reaksi-reaksi radikal bebas alam maupun radikal-radikal bebas hasil metabolisme dalam tubuh dengan protein dapat dicegah, yang mana perubahan-perubahan protein atau perubahan DNA atau pembelahan sel akibat reaksi-reaksi oksidasi tidak bisa terjadi.

Tanpa disadari dalam tubuh kita secara terus-menerus terbentuk radikal bebas melalui peristiwa metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi lingkungan, sinar ultraviolet dan asap rokok. Akibat yang ditimbulkan oleh lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup, justru merangsang tumbuhnya radikal bebas (*free radical*) yang dapat merusak tubuh kita (Anonim, 1997). Penelitian di bidang gizi pada tingkat sel membuktikan bahwa antioksidan mampu melindungi jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas (Bruce, 2005).

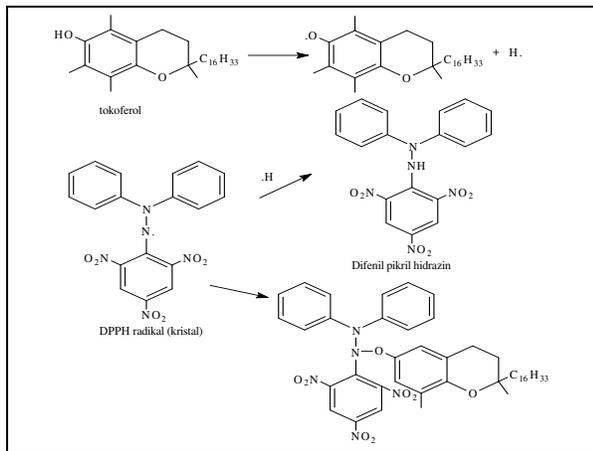
Tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Namun, hal ini tergantung terhadap pola hidup dan pola makan kita yang harus benar. Konsumsi antioksidan yang memadai dapat mengurangi terjadinya berbagai penyakit seperti kanker, kardiovaskuler, katarak, masalah pencernaan serta penyakit degeneratif lain (Greenvald, *et.al.*, 1995; Kumalaningsih, 2007).

Senyawa antioksidan diantaranya adalah asam fenolik, flavonoid, β -karoten, vitamin E, (tokoferol), vitamin C, asam urat, bilirubin, dan albumin (Gheldof, *et.al.*, 2002). Zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan. Diantara zat-zat anti oksidan ini diduga ada

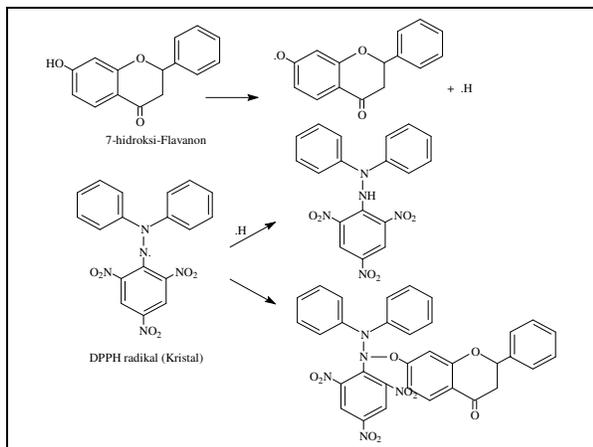
dalam ekstrak metanol daun gaharu seperti senyawa fenol dan flavonoi.

Pengujian anti radikal bebas senyawa-senyawa bahan alam / sintesis dapat dilakukan secara reaksi kimia dengan menggunakan DPPH (difenil pikril hidrazil) sebagai senyawa radikal bebas yang stabil dengan melihat proses peredaman panjang gelombang maksimumnya pada spektrofotometer UV-Vis. Peredaman warna ungu merah (absorbansi pada $517 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$) dikaitkan dengan kemampuan sebagai anti radikal bebas (*free radical scavenger*).

Adapun reaksi peredaman DPPH dengan senyawa anti radikal bebas dapat dilihat pada contoh berikut ini :



Melihat reaksi di atas maka flavonoid pada daun gaharu diharapkan akan mengalami proses reaksi peredama yang hamper sama, seperti yang ditunjukkan dalam reaksi berikut ini:



Beberapa senyawa flavanoid hasil isolasi pada tanaman obat telah dibuktikan mempunyai aktifitas sebagai antiradikal bebas seperti : pinostrobin dan pinocembrin (dalam rimpang temu kunci), 7-hidroksi-flavanon (pada daun sudamala), 5,6-dihidroksi-flavanon (pada buah mengkudu).

Gugus-gugus fungsi yang diduga terlibat pada reaksi antara senyawa antiradikal bebas adalah gugus -OH dan ikatan rangkap dua (>C=C<).

Kapasitas antiradikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah dari DPPH pada panjang gelombang $517 \pm 20 \text{ nm}$. Perhitungan kapasitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman (% peredaman DPPH) absorbansi pada puncak 517 menggunakan persamaan berikut ini :

$$\left(1 - \frac{\text{absorbansi hitung sampel}}{\text{absorbansi hitung DPPH}} \right) \times 100\%$$

Absorbansi hitung sampel dan DPPH pada puncak 517 mn dapat dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$A_{517} - \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas, 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antiradikal bebas bila prosentase peredamannya lebih dari atau sama dengan 50%.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain : daun gaharu, aquades, kristal difenilpikril hidrazil (DPPH), metanol, aseton, etanol, pereaksi Willstater, pereaksi Bate Smith, NaOH 10%, pereaksi Meyer, pereaksi Leiberman Burchad, Larutan FeCl₃.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain : seperangkat alat gelas, neraca analitik, labu ukur 10 mL, pipet ukur 1 mL dan 2 mL, stop watch, *micro syringe* 100 μ L, spektrofotometer UV-Vis (UV - 1601 Shimadzu).

Cara Kerja

Pembuatan ekstrak metanol daun gaharu

Lima kilogram daun gaharu dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga berbentuk serbuk. Serbuk ini kemudian dimaserasi dengan 5 L methanol, diamkan 2 x 24 jam. Saring hasil maserasi. Residu hasil penyaringan dimaserasi kembali dengan 10L (2 x 5L) Metanol dan Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan rotari evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ini dimasukkan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Lakukan proses maserasi ini sampai diperoleh filtrat yang bening yang diperkirakan senyawa aktif dalam serbuk daun gaharu sudah habis.

Screening Fitokimia Ekstrak Metanol Daun gaharu

Ekstrak kental methanol yang diperoleh pada proses maserasi ditambahkan pereaksi – pereaksi : Wilstater, Bate Smith, NaOH 10%, FeCl₃, Meyer dan Leiberman Burchard. Catat perubahan warna larutan sebelum dan sesudah ditambahkan pereaksi warna.

Penentuan Aktivitas Antiradikal Bebas secara Spektroskopi

Penentuan aktivitas antiradikal bebas ini dikerjakan dengan beberapa tahapan sebagai berikut :

Pengenceran Ekstrak methanol

Sebanyak 0,01gram madu yang diperoleh diencerkan dengan metanol pada labu ukur 10 mL sehingga kadarnya 1000 ppm.

Pembuatan Larutan DPPH

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 0,004 gram kemudian dilarutkan dalam metanol dengan menggunakan labu ukur tepat 100 mL sehingga kadarnya 0,004 % (b/v)

Pengujian Aktivitas Antiradikal Bebas (Djatkiko, 1998)

Pengukuran Absorbansi DPPH

Spektra absorbansi DPPH diukur pada panjang gelombang (λ) 400 – 700 nm (sinar tampak). Larutan blanko yang digunakan adalah metanol. Pencatatan dilakukan terhadap absorbansi pada panjang gelombang 497 nm, 517 nm dan 537 nm untuk DPPH.

Pengukuran Aktivitas Antiradikal Bebas Larutan ekstrak metanol 1000 ppm

Sejumlah 1 mL larutan standar 1000 ppm dimasukkan kedalam kuvet lalu ditambahkan ke dalamnya 2 mL larutan DPPH 0,004%. Campuran tersebut kemudian diaduk rata dengan menggunakan pipet. Pada menit ke-5 dan ke-60 setelah reaksi berlangsung, dilakukan pencatatan absorbansi pada panjang gelombang 497 nm, 517 nm, dan 537 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

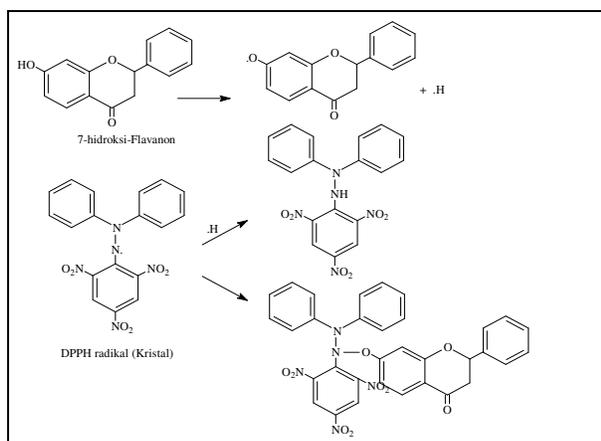
Screening Fitokimia Ekstrak Metanol Daun gaharu

Ekstrak Metanol daun gaharu yang diperoleh = 200 mg dan berwarna coklat tua. Screening fitokimia dipergunakan pereaksi Wilstater, pereaksi Bate Smith, NaOH 10% untuk menguji adanya senyawa flavonoid. Larutan FeCl₃ untuk menguji adanya senyawa fenol sedangkan pereaksi Leiberman Burchard dipergunakan untuk menguji adanya steroid. Hasil yang diperoleh dalam uji fitokimia ini dapat dilihat dalam table berikut ini :

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

No	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Keterangan
		<i>Perubahan warna larutan setelah + pereaksi</i>	
1.	Willstater	Coklat muda menjadi kuning muda	(+) mengandung Flavonoid
2.	NaOH 10%	Coklat muda menjadi kuning	(+) mengandung Flavonoid
3.	Meyer	Tak terjadi perubahan/tak timbul endapan	(-) mengandung Alkaloid
4.	Leiberman-Burchard	Coklat muda menjadi merah muda	(+) mengandung terpenoid
5.	+ Air lalu dikocok	Tidak Timbul Buih yang stabil selama 5 menit	(-) mengandung Saponin
6.	+ FeCl ₃	Coklat muda menjadi coklat keunguan	(+) mengandung Senyawa fenol

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka ekstrak daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, terpenoid dan senyawa fenol. Senyawa-senyawa metabolit sekunder inilah yang diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antiradikal bebas karena gugus-gugus fungsi yang ada dalam senyawa tersebut seperti gugus OH yang dalam pemecahan heterolitiknya akan menghasilkan radikal O (O[•]) dan radikal H (H[•]). Radikal-radikal inilah yang nantinya akan bereaksi secara radikal dengan DPPH sehingga dapat meredam panjang gelombang dari DPPH tersebut. Adapun reaksi yang diduga terjadi dalam reaksi ini adalah :



Aktivitas Antiradikal Bebas secara Spektroskopi UV-Vis

Besarnya aktivitas antiradikal bebas diperoleh yaitu % peredaman = 106,32 % (pada 5 menit) dan 111,31 % (pada 60 menit). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) positif atau aktif sebagai senyawa antiradikal bebas karena % peredamannya lebih besar dari 50%

Berdasarkan hasil pengukuran ini maka ekstrak metanol daun gaharu dapat dikembangkan selanjutnya sebagai senyawa antiradikal bebas atau anti oksidan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak Metanol Daun Gaharu mengandung metabolit sekunder : senyawa fenol, terpenoid dan flavonoid.
2. Ekstrak Metanol Daun Gaharu dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi senyawa antiradikal bebas karena mempunyai % peredaman cukup tinggi yaitu 106,32 % (pada 5 menit) dan 111,31 % (pada 60 menit)

Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas dari masing-masing senyawa yang dikandung pada ekstrak metanol daun gaharu dan elusidasi struktur dari senyawa-senyawa tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Drs. I Made Oka Adi Parwata, Bapak-bapak dan ibu-ibu di Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian UNUD dan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA UNUD atas saran dan masukannya, serta pihak-pihak lain yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bruce R D'Arcy, 2005, Antioxidants in Australian Floral Honeys – Identification of health-enhancing nutrient components, RIRDC publication
- Djarmiko, dkk, 1998, *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XII*, Unair, Surabaya
- Gheldof N, Wang Xiao-Hong, and Engeseth N J., 2002, Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 : 5870-5877
- Greenvald, P., Kelloff, C, Burch-Whitman, C., & Kramer, B. S., 1995, Chemoprevention. C A: *A Cancer Journal for Clinicians*, 45 : 31-44
- Oka Adi P., *et al.*, 2004, Uji Anti Radikal Bebas Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Metanol Buah Mengkudu (*Morinda cintrifolia* L.) Secara Spektroskopi, *Review Kimia*
- Harborne J. B. and Mabry, T. J., 1992, *Flavonoids, Advances and Research*, Chapman and Hall, London
- Harbone, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, ITB, Bandung
- Kelin Tarigan, 2004, Profil perusahaan (Budidaya) Gaharu, Departemen Kehutanan Pusat Bina Penyuluhan Kehutanan, Jakarta
- Mulyaningsih, T. dan Parman, 2005, Optimasi Produksi Gaharu *Gyrinops versegi* (Gilg) Domke, Secara Teknis dan Ekonomi, *Laporan Riset*, Fakultas Pertanian UNMAR
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta
- Yana Sumama, 2002, *Budidaya Gaharu Seri Agribisnis*, Penerbit Swadaya, Jakarta