

UJI AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL DPPH EKSTRAK PRODUK TEH HITAM (Camellia sinensis (L.) O.K.) DAN GAMBIR (Uncaria gambir (Hunter) Roxb) SERTA PROFIL KLT-DENSITOMETERNYA

Jaya, I. G. N. I. P., Leliqia, N. P. E., Widjaja, I. N. K.

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

ABSTRACT

The purpose of this research was to compare the DPPH scavenging activity of black tea (Camellia sinensis (L.) OK) and gambier (Uncaria gambir (Hunter) Roxb) product extract and to determine their TLC-densitometer profile.

This research was conducted in two stages, first stage was to examine the DPPH scavenging activity of black tea and gambier product extract. This assay used some concentrations of black tea product extract, gambier product extract, and standard vitamin C (10, 20, 40, 80, 160, 200, and 320 µg/mL). The second stage was to determine the extracts profile by TLC-densitometer.

The result of this research showed that the DPPH scavenging activity of gambier product extract was greater ( $IC_{50} = 88,57 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$ ) than black tea product extract ( $IC_{50} = 311,54 \pm 2,79 \mu\text{g/mL}$ ). The result of profile determination of black tea product extract at a mobile phase of MeOH:toluene (50:50) showed that no spot was supposed a volatile oil group; at mobile phase of ethyl acetate:formic acid:acetic acid:H<sub>2</sub>O (100:11:11:26) showed two spots that was supposed a flavonoid group, spot with Rf 0,41 (  $\lambda_{\text{max}}$  365 nm) and spot with Rf 0,97 (  $\lambda_{\text{max}}$  280 nm); at mobile phase of CHCl<sub>3</sub>:MeOH (90:10) showed that spot with Rf 0,87 (  $\lambda_{\text{max}}$  275 nm) was supposed an alkaloid group; at mobile phase of acetic acid:diethyl ether:n-hexane:ethyl acetate (20:20:20:40) showed that spot with Rf 0,62 (  $\lambda_{\text{max}}$  290 nm) was supposed a tannin group. While the result of profile determination of gambier product extract at mobile phase of ethyl acetate:formic acid:acetic acid:H<sub>2</sub>O (100:11:11:26) showed two spots that was supposed a flavonoid group, spot with Rf 0,81 (  $\lambda_{\text{max}}$  280 nm) and spot with Rf 0,92 (  $\lambda_{\text{max}}$  280 nm); at mobile phase of acetic acid:diethyl ether:n-hexane:ethyl acetate (20:20:20:40) showed that spot with Rf 0,42 (  $\lambda_{\text{max}}$  285 nm) was supposed a tannin group.

Key words: Antioxidant, DPPH, black tea product, gambier product, TLC-densitometer profile.

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas melalui penghambatan mekanisme oksidatif. Antioksidan dapat mencegah penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti kanker, kardiovaskuler, dan penuaan dini (Prakash et al., 2007; Rohman dan Riyanto, 2005). Jenis-jenis senyawa antioksidan yang terdapat dalam tanaman meliputi vitamin C, vitamin E, karotenoid, asam fenolat, dan polifenol (Prakash et al., 2007). Jenis tanaman yang mengandung zat antioksidan diantaranya adalah teh dan gambir (Apea-Bah et al., 2009; Gramza et al., 2005).

Teh merupakan minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh dunia termasuk di Indonesia. Teh dibuat dari pucuk daun muda tanaman teh yaitu Camellia sinensis (L.) O.K. Berdasarkan proses pengolahannya, secara tradisional produk teh dibagi menjadi 3 jenis yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam (Tuminah, 2004). Dari jumlah konsumsi teh dunia pada tahun 2007 sebesar 3,4 juta ton, ternyata konsumsi teh hitam mencapai 69% dari total konsumsi teh di dunia (Arnas, 2009). Teh bermanfaat sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas karena mengandung senyawa polifenol yaitu katekin (Gramza et al., 2005). Jenis-jenis katekin teh sangat bervariasi, dimana

kandungan utamanya adalah (-)-epigallocatekin galat yang memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas paling baik dibandingkan jenis katekin lainnya (Nanjo et al., 1999).

Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) adalah jenis tumbuhan merambat, termasuk familia Rubiaceae, genus *Uncaria*, dan merupakan tanaman endemik Indonesia. Gambir dimanfaatkan secara luas di Indonesia sebagai sumber tanin yang komersial, dan katekin merupakan senyawa polifenol terbanyak yang terdapat pada tanaman ini. Kandungan katekin yang utama pada gambir adalah (+)-katekin. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak gambir memiliki kemampuan menghambat radikal bebas (Apea-Bah et al., 2009).

Telah dijelaskan sebelumnya bahwa teh terutama teh hitam dan gambir memiliki aktivitas antioksidan. Namun belum diketahui bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan dari kedua tanaman ini. Di samping itu, diperlukan suatu proses identifikasi terhadap golongan kandungan kimia ekstrak sebagai identitas ekstrak yang memiliki bioaktivitas tertentu. Untuk itu, diperlukan proses penentuan profil ekstrak menggunakan KLT-densitometer (Reich et al., 2008).

Untuk menguji aktivitas antioksidan digunakan metode radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), karena metode ini cukup sederhana, mudah dikerjakan, dan tidak membutuhkan banyak waktu. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan untuk menangkap radikal DPPH. Keberadaan antioksidan akan menetralkan radikal DPPH dengan menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri (Prakash et al., 2007).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak produk teh hitam dan gambir serta menentukan profil KLT-densitometer dari ekstrak produk teh hitam dan gambir.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi produk teh hitam, produk gambir, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pereaksi Folin-Ciocalteu, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, DPPH, standar asam galat, standar vitamin C, dan plat KLT silika gel GF<sub>254</sub>. Pelarut dengan derajat kemurnian teknis meliputi de-ionized water, aquadest, metanol, kloroform, aseton, dan eter. Pelarut dengan derajat kemurnian pro analisis meliputi n-butanol, asam asetat, asam asetat anhidrat, metanol, benzena, etil asetat, asam formiat, toluen, amonia, kloroform, n-heksana, dan dietil eter.

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi neraca analitik, mortir, stamper, sendok tanduk, spatula, cawan porselin, hot plate, seperangkat alat-alat gelas, seperangkat alat destilasi, ultrasonic bath, vacuum rotary evaporator, oven, alat penyemprot, pH-meter, shaker, seperangkat alat KLT-spektrodensitometer, dan spektrofotometer UV-visibel.

### Preparasi Sampel

Produk teh hitam dan gambir yang akan digunakan digerus terlebih dahulu hingga menjadi serbuk. Kemudian serbuk sampel ini digunakan untuk proses analisis selanjutnya.

### Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode destilasi. Ditimbang dengan seksama sejumlah serbuk sampel, dimasukkan ke dalam labu yang kering. Labu dihubungkan dengan tabung penerima dan pendingin, kemudian lebih kurang 200 mL toluen p.a dimasukkan ke dalam labu. Labu dipanaskan perlahan-lahan selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, dilakukan penyulingan dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes per detik hingga sebagian besar air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes per detik. Setelah penyulingan, tabung penerima dibiarkan mendingin hingga suhu kamar dan diusahakan seluruh tetesan air turun. Volume air dibaca

setelah toluen dan air terpisah sempurna. Kadar air dinyatakan dalam persen (Depkes RI, 1995).

#### Ekstraksi

Serbuk sampel ditimbang sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam gelas beaker, dimaserasi dengan 200 mL pelarut de-ionized water (pH 2,8) disertai dengan pengadukan dalam ultrasonic bath selama 90 menit pada suhu 65°C dan disaring. Ampas yang diperoleh diremaserasi dengan 200 mL pelarut de-ionized water (pH 2,8) disertai dengan pengadukan dalam ultrasonic bath selama 90 menit pada suhu 65°C, kemudian disaring. Ampas diremaserasi sekali lagi dengan cara yang sama seperti sebelumnya, kemudian seluruh larutan ekstrak yang diperoleh ditampung dan diuapkan dengan vacum rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kering.

#### Uji Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol pada sampel diuji menggunakan prosedur Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak (1 mg/mL) atau seri standar asam galat ditambahkan dengan 0,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu 50% dan 7,5 mL de-ionized water, kemudian dikocok selama 5 menit. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1,5 mL natrium karbonat 2%. Campuran selanjutnya dipanaskan pada suhu 40°C di atas penangas air selama 20 menit, dan secepatnya didinginkan. Kemudian diukur absorbansinya pada 755 nm. Larutan standar asam galat digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Blanko yang digunakan adalah campuran aquadest dan pereaksi Folin-Ciocalteu. Hasilnya dinyatakan sebagai persen fenol per berat sampel (Rauf dkk., 2010).

#### Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak uji DPPH ditambahkan kedalam 2,9 mL larutan DPPH 0,025 mg/mL. Campuran dibiarkan di tempat gelap pada suhu kamar selama 25 menit. Penurunan absorbansi DPPH diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang

gelombang 515 nm. Larutan kontrol dibuat dari campuran 0,1 mL metanol dan 2,9 mL larutan DPPH 0,025 mg/mL. Larutan vitamin C dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi larutan ekstrak uji digunakan sebagai standar. Pekerjaan ini dilakukan sebanyak 3 kali (Artanti dan Hanafi, 2006; Molyneux, 2004; Rauf dkk., 2010;).

#### Uji Fitokimia Ekstrak

Uji fitokimia terhadap ekstrak produk teh hitam dan gambir meliputi pemeriksaan minyak atsiri, alkaloid, steroid/triterpenoid, saponin, tanin, dan flavonoid.

#### Penentuan Profil Ekstrak dengan KLT-Densitometer

Tabel 1. Fase Gerak untuk Penentuan Profil Ekstrak dengan KLT-Densitometer

| <u>Golongan senyawa</u> | <u>Fase Gerak</u>   |
|-------------------------|---|
| <u>Minyak atsiri</u>    | <u>Metanol : toluen (1:1)</u>   |
| <u>Flavonoid</u>        | <u>Etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26)</u>    |
| <u>Alkaloid</u>         | <u>Kloroform : metanol (90:10)</u>                                      |
| <u>Saponin</u>          | <u>Kloroform : metanol : air (70:30:4)</u>                              |
| <u>Tanin</u>            | <u>Asam asetat : dietil eter : n-heksan : etil asetat (20:20:20:40)</u> |
| <u>Triterpen</u>        | <u>n-heksan : etil asetat (1:1)</u>                                     |
| <u>Sterol</u>           | <u>n-heksan : eter (97:3)</u>   |

Chamber dijenuhkan dengan fase gerak yang sesuai dengan tabel 1 selama 30 menit. Dua puluh mg ekstrak kering produk teh hitam dilarutkan dalam 5 mL metanol. Sebanyak 10 µL larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> yang telah dicuci dan diaktifkan. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber yang telah jenuh dengan fase gerak dan dielusi sampai tanda batas. Setelah dielusi, plat KLT dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 10 menit. Plat yang telah dikeringkan selanjutnya diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian dipayar dengan spektrodensitometer CAMAG TLC Scanner 3

panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Diamati nilai Rf dari bercak, bentuk kromatogram, dan spektrumnya. Untuk identifikasi spektrum, dua senyawa dapat dikatakan sama jika spektrumnya memiliki koefisien korelasi (r) >0,95. Selanjutnya plat dideteksi dengan pereaksi pendeteksi yang sesuai dan kembali diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Prosedur di atas juga dilakukan pada ekstrak kering produk gambir.

#### Analisis Data

Persentase penangkapan radikal DPPH dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\%P = [(C - S)/C] \times 100\%$$

Keterangan:

%P = Persentase penangkapan radikal DPPH

C = Absorbansi larutan kontrol

S = Absorbansi larutan uji/standar

Semua data kuantitatif dianalisis secara statistik menggunakan analisis variansi (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Data IC<sub>50</sub> dihitung menggunakan analisis probit. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS.

Pada penentuan profil ekstrak dengan KLT-densitometer, diperoleh data kualitatif dari fluoresensi bercak-bercak di bawah lampu UV, warna bercak setelah disemprot dengan pereaksi pendeteksi, nilai Rf, bentuk kromatogram dan spektrum golongan kandungan kimia yang terpisahkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penetapan Kadar Air

Metode yang digunakan untuk penetapan kadar air adalah metode destilasi. Hasil dari penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Produk Teh Hitam dan Gambir

| No. | Serbuk Sampel    | Kadar Air (%) |
|-----|------------------|---------------|
| 1   | Produk teh hitam | 6,24          |
| 2   | Produk gambir    | 14,47         |

Dari tabel 2 terlihat bahwa kadar air serbuk produk gambir lebih tinggi dari syarat

kadar air maksimal secara umum untuk serbuk simplisia yaitu 10%. Kadar air yang tinggi dapat memicu reaksi enzimatik maupun pertumbuhan mikroba pada serbuk sampel sehingga dapat terjadi pembusukan atau degradasi kandungan kimia yang terdapat di dalamnya (Depkes RI, 1994).

### Uji Kandungan Total Fenol

Uji kandungan total fenol pada ekstrak produk teh hitam dan gambir dilakukan untuk mengetahui kandungan total senyawa fenolik yang terdapat dalam masing-masing ekstrak tersebut. Metode yang digunakan adalah metode Folin-Ciocalteu, dengan menggunakan asam galat sebagai standar. Persentase total fenol pada ekstrak produk teh hitam dan gambir dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Persentase Total Fenol pada Ekstrak Produk Teh Hitam dan Gambir

| No. | Ekstrak          | Total Fenol (%) |
|-----|------------------|-----------------|
| 1   | Produk teh hitam | 13,10           |
| 2   | Produk gambir    | 43,13           |

Menurut Prakash et al (2007), kandungan senyawa fenolik akan mempengaruhi aktivitas penangkapan radikal bebas suatu bahan. Oleh karena itu, dapat diduga bahwa aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak produk gambir akan lebih besar dibandingkan dengan ekstrak produk teh hitam karena memiliki kandungan total fenol yang lebih banyak.

### Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH

Uji aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak produk teh hitam dan gambir dilakukan untuk mencari persentase penangkapan radikal DPPH (%P) ekstrak produk teh hitam dan gambir. Pada uji ini, vitamin C digunakan sebagai standar. Untuk memperoleh %P, dibuat beberapa variasi konsentrasi dari masing-masing ekstrak dan standar. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas penangkapan radikal DPPH, sehingga diperoleh absorbansi dari masing-masing konsentrasi ekstrak dan standar. Data

absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung %P. Dari %P masing-masing ekstrak dan standar, dicari konsentrasi penghambatan tengah ( $IC_{50}$ ) dengan menggunakan analisis probit.

Berdasarkan uji ANOVA, dapat diketahui bahwa variasi konsentrasi berpengaruh secara signifikan terhadap %P masing-masing ekstrak dan standar ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti dengan peningkatan konsentrasi maka persentase penangkapan radikal DPPH juga akan meningkat.

Tabel 4. Konsentrasi, Persentase Penangkapan Radikal DPPH, dan  $IC_{50}$  dari Ekstrak Produk Teh Hitam, Gambir, dan Standar Vitamin C

| No.                                   | Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Teh Hitam         |                  |                  | Gambir           |                  |                  | Vitamin C        |                  |                  |
|---------------------------------------|----------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                       |                                  | % P <sub>1</sub>  | % P <sub>2</sub> | % P <sub>3</sub> | % P <sub>1</sub> | % P <sub>2</sub> | % P <sub>3</sub> | % P <sub>1</sub> | % P <sub>2</sub> | % P <sub>3</sub> |
| 1                                     | 10                               | 4,38              | 3,98             | 4,98             | 9,56             | 9,36             | 10,16            | 12,15            | 11,35            | 10,96            |
| 2                                     | 20                               | 6,97              | 6,37             | 6,57             | 17,53            | 18,13            | 17,93            | 20,92            | 20,12            | 19,92            |
| 3                                     | 40                               | 10,96             | 10,96            | 11,55            | 25,30            | 26,29            | 25,10            | 36,06            | 35,86            | 36,65            |
| 4                                     | 80                               | 22,51             | 22,11            | 23,51            | 38,45            | 38,25            | 39,24            | 58,76            | 59,16            | 58,76            |
| 5                                     | 160                              | 34,06             | 33,47            | 34,86            | 55,78            | 55,18            | 55,98            | 84,46            | 84,46            | 85,26            |
| 6                                     | 200                              | 43,63             | 44,02            | 43,03            | 78,49            | 77,89            | 77,69            | 89,24            | 89,04            | 88,45            |
| 7                                     | 320                              | 51,00             | 50,80            | 50,40            | 88,84            | 88,65            | 89,44            | 92,43            | 91,43            | 92,03            |
| $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )        |                                  | 310,78            | 309,20           | 314,62           | 88,80            | 89,06            | 87,84            | 52,75            | 53,82            | 53,70            |
| $IC_{50} \pm SD$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) |                                  | 311,54 $\pm$ 2,79 |                  |                  | 88,57 $\pm$ 0,64 |                  |                  | 53,42 $\pm$ 0,59 |                  |                  |

Keterangan:

%P<sub>1</sub> = Persentase penangkapan radikal DPPH pengujian 1; %P<sub>2</sub> = Persentase penangkapan radikal DPPH pengujian 2; %P<sub>3</sub> = Persentase penangkapan radikal DPPH pengujian 3; SD = Standar deviasi.

Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa  $IC_{50}$  vitamin C adalah yang terkecil, dilanjutkan dengan  $IC_{50}$  ekstrak produk gambir, dan yang terbesar adalah  $IC_{50}$  ekstrak produk teh hitam. Hal ini berarti aktivitas antioksidan standar vitamin C adalah yang terbesar dilanjutkan dengan ekstrak produk gambir dan kemudian ekstrak produk teh hitam.

Berdasarkan uji ANOVA, dapat diketahui bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak produk teh hitam, gambir, dan standar vitamin C berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Untuk mengetahui perbedaan antara dua kelompok data, maka dilakukan uji Tukey. Nilai signifikansi dari uji Tukey dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai Signifikansi antara  $IC_{50}$  Ekstrak Produk Teh Hitam, Gambir, dan Standar Vitamin C dari Uji Tukey

| Ekstrak   | Ekstrak   | Signifikansi (p) |
|-----------|-----------|------------------|
| Teh Hitam | Gambir    | 0,000000249      |
| Teh hitam | Vitamin C | 0,000000249      |
| Gambir    | Vitamin C | 0,000000748      |

Berdasarkan uji Tukey, dapat diketahui bahwa nilai  $IC_{50}$  antara ekstrak produk teh hitam dengan gambir, ekstrak produk teh hitam dengan standar vitamin C, dan ekstrak produk gambir dengan standar vitamin C berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Namun jika dilihat nilai signifikansi dari  $IC_{50}$  ekstrak dan standar seperti pada tabel 5, ekstrak produk gambir memiliki aktivitas antioksidan yang lebih mendekati standar vitamin C dibandingkan ekstrak produk teh hitam.

Dari data tersebut dapat ditentukan bahwa ekstrak produk gambir memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lebih besar dan lebih berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan ekstrak produk teh hitam. Hasil ini sesuai dengan hasil uji kandungan total fenol dimana ekstrak produk gambir memiliki kandungan senyawa fenolik yang lebih banyak dibandingkan ekstrak produk teh hitam. Jadi, semakin banyak kandungan senyawa fenolik pada suatu bahan maka aktivitas penangkapan

radikal bebasnya akan semakin meningkat dan semakin berpotensi sebagai antioksidan.

Uji Fitokimia Ekstrak

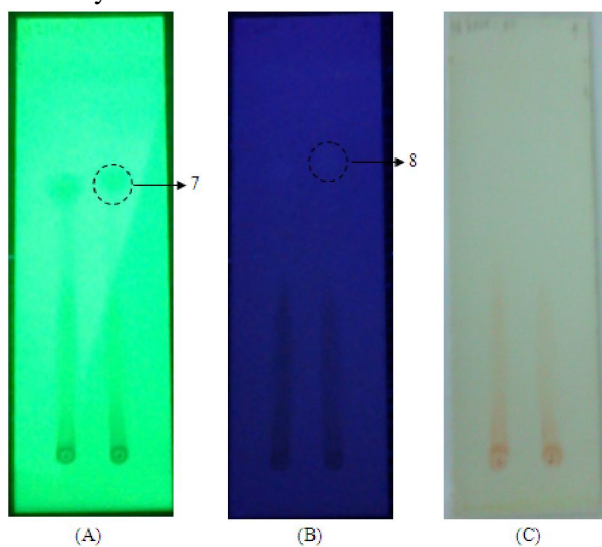
Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia pada Ekstrak Produk Teh Hitam dan Gambir

| No | Uji Fitokimia | Pustaka   | Hasil Uji  |            |   |            |
|----|---------------|---|--|------------|---|------------|
|    |               |   | Teh Hitam  |            | Gambir  |            |
|    |               |   | Pengamatan   | Kesimpulan | Pengamatan                                      | Kesimpulan |
| 1  | Minyak Atsiri | <sup>1</sup> Berbau khas aromatik   | Terdapat bau khas aromatik                                 | (+)        | Tidak terdapat bau khas aromatik                | (-)        |
| 2  | Alkaloid      | <sup>2</sup> Terbentuk endapan jingga (Dragendorff)                         | Terbentuk endapan kemerahan                                | (+)        | Tidak terbentuk endapan                         | (-)        |
|    |               | <sup>2</sup> Terbentuk endapan kuning (Mayer)                               | Terbentuk endapan kuning kecoklatan                        |            | Tidak terbentuk endapan                         |            |
|    |               | <sup>1</sup> Cincin hijau kebiruan (Steroid)                                | Tidak terbentuk cincin                                     |            | Tidak terbentuk cincin                          |            |
| 3  | Tanin         | <sup>4</sup> Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman                  | Terbentuk warna hijau kehitaman                            | (+)        | Terbentuk warna hijau kehitaman                 | (+)        |
| 4  | Flavonoid     | <sup>3</sup> Fluorosensi kuning intensif                                    | Fluoresensi kuning intensif                                | (+)        | Fluoresensi kuning                              | (+)        |
|    |               | <sup>5</sup> Fluorosensi pada UV 366 nm saat sebelum/ sesudah diuapi amonia | Fluoresensi kuning dan biru sebelum/ sesudah diuapi amonia |            | Warna coklat tua sebelum/ sesudah diuapi amonia |            |

(<sup>1</sup>Ciulei, 1984; <sup>2</sup>Fransworth, 1966; <sup>3</sup>Depkes RI, 1989; <sup>4</sup>Robinson, 1991; <sup>5</sup>Markham, 1988)

Penentuan Profil Ekstrak Produk Teh Hitam dengan KLT-Densitometer

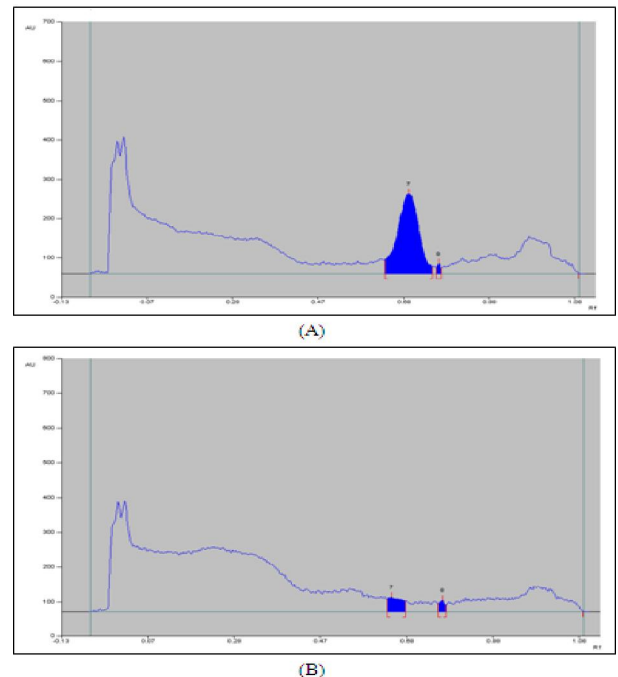
A. Minyak atsiri



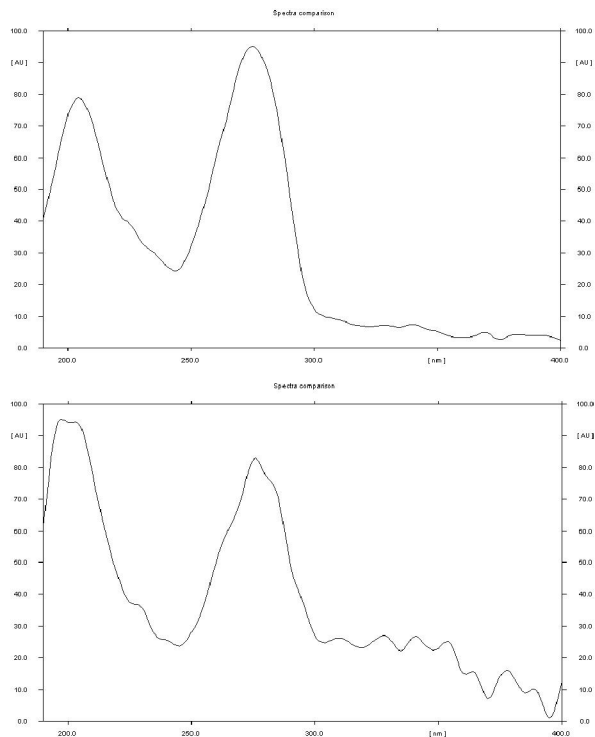
Gambar 1. Gambar profil ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa minyak atsiri

Keterangan:

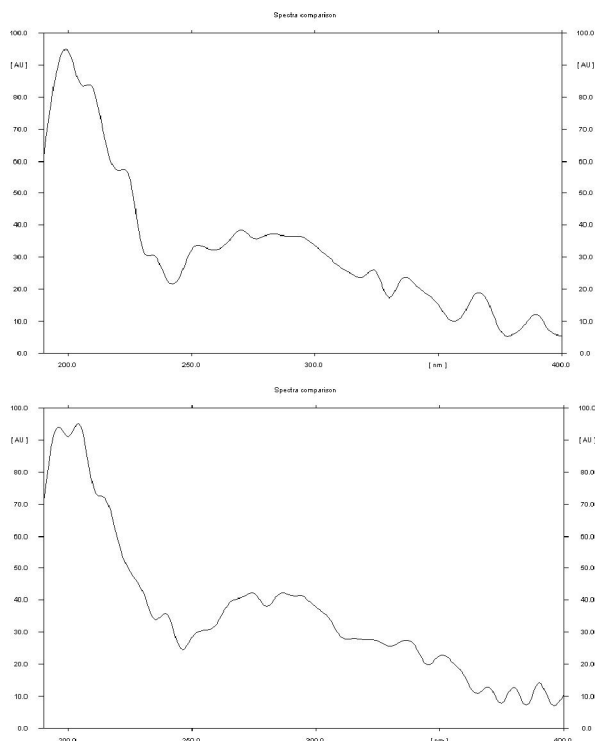
Plat dielusi dengan fase gerak metanol : toluen (50:50).



Gambar 2. Kromatogram ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa minyak atsiri



Gambar 3. Spektrum bercak ke-7



Gambar 4. Spektrum bercak ke-8

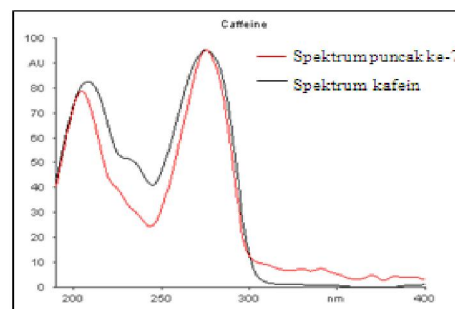
Spektrum dari bercak ke-7 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 275 nm. Jika

dibandingkan secara overlay terhadap spektrum yang ada pada spectrum library seperti pada gambar 5, spektrum tersebut baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm menyerupai spektrum kafein dengan koefisien korelasi ( $r$ ) masing-masing sebesar 0,97362 dan 0,86316. Untuk identifikasi spektrum dari bercak ke-7, digunakan spektrum yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm karena mendekati panjang gelombang maksimum spektrum tersebut. Karena nilai  $r > 0,95$  maka kemungkinan senyawa pada bercak ke-7 adalah kafein.

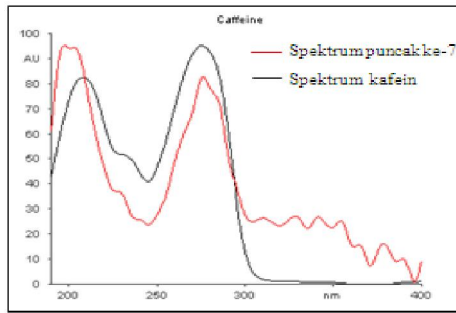
Sedangkan spektrum dari bercak ke-8 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm juga memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki panjang gelombang maksimum 280 nm. Namun belum dapat diidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada bercak tersebut.

Selain itu, tidak ada spektrum yang menyerupai spektrum golongan senyawa minyak atsiri, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak teh hitam kemungkinan tidak mengandung golongan senyawa minyak atsiri.

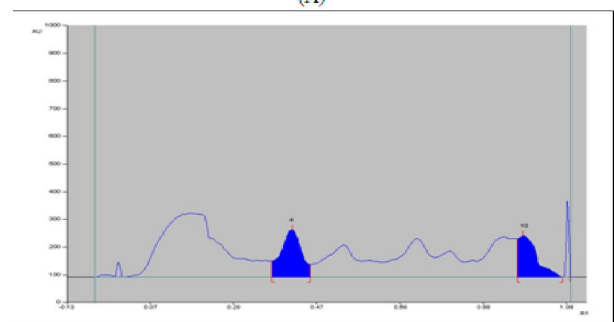
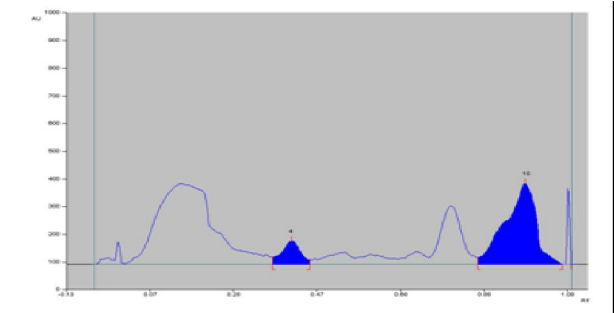
Hal ini mungkin disebabkan karena minyak atsiri menguap saat dipisahkan menggunakan metode KLT atau bau khas dari ekstrak bukan berasal dari minyak atsiri, melainkan dari kandungan theina dan asam amino yang terdapat dalam ekstrak produk teh hitam (Adisewojo, 1982; Arifin, 1994).





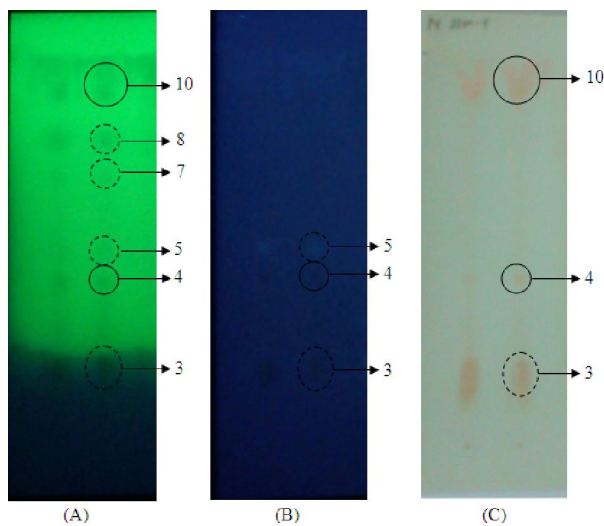


Gambar 5. Spektrum bercak ke-7 jika dibandingkan secara overlay dengan spectrum library



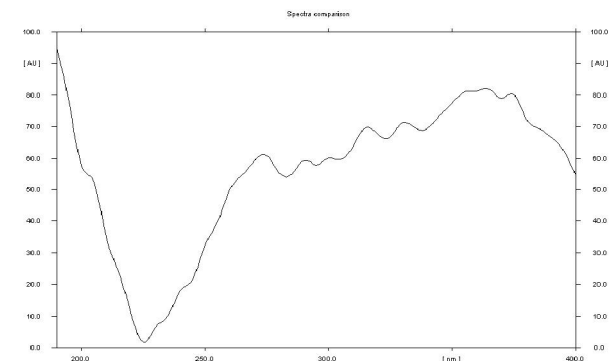
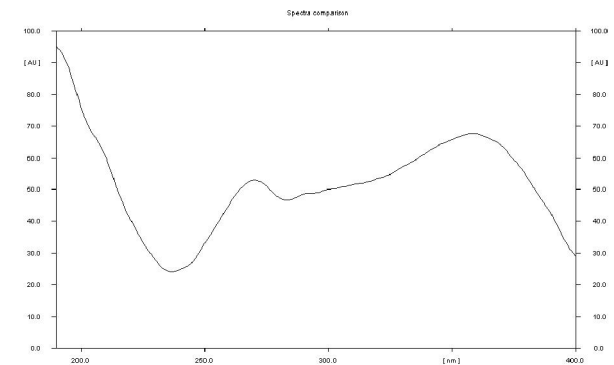
Gambar 7. Kromatogram ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa flavonoid

B. Flavonoid



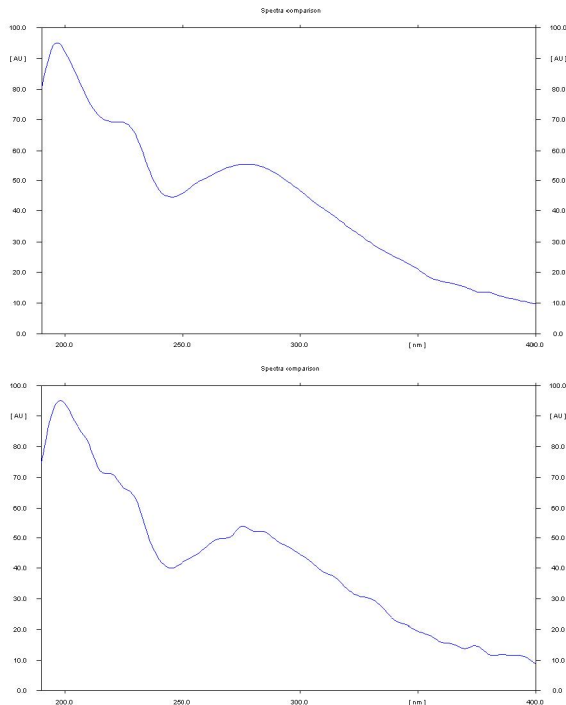
Gambar 6. Gambar profil ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa flavonoid

Keterangan:  
 Plat dielusi dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26).  
 — Diduga mengandung flavonoid



Gambar 8. Spektrum bercak ke-4





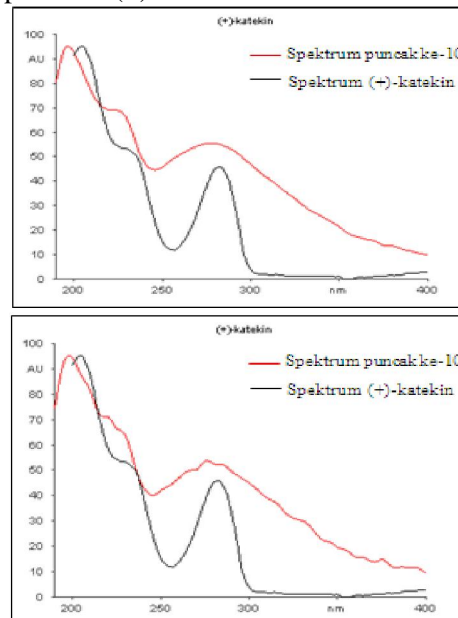
Gambar 9. Spektrum bercak ke-10

Spektrum dari bercak ke-4 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki dua pita serapan maksimum yaitu antara 265-280 nm (pita II) dan 355-375 nm (pita I).

Menurut Markham (1988), spektrum khas dari flavonoid terdiri atas dua maksima pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Perbedaan rentang serapan flavonoid terhadap sinar UV-visibel dapat digunakan untuk memperkirakan sifat, struktur dan pola oksigenasinya. Berdasarkan rentang spektrum tersebut, kemungkinan jenis flavonoid yang ada pada bercak ke-4 adalah flavonol (3-OH bebas).

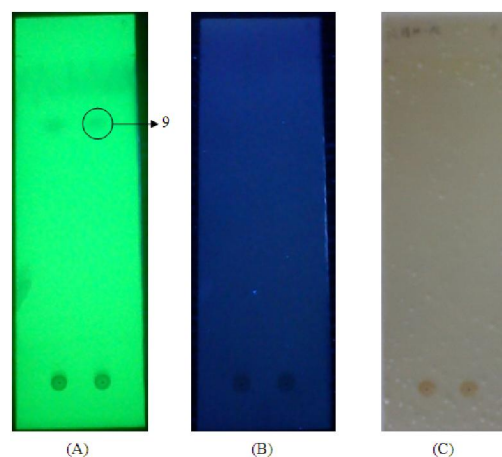
Sedangkan spektrum dari bercak ke-10 pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm juga memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki dua pita serapan maksimum yaitu antara 220-230 nm (pita II) dan 270-290 nm (pita I). Jika dibandingkan secara overlay terhadap spektrum yang ada pada spectrum library seperti pada gambar 10, pola puncak-puncak spektrum tersebut baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm menyerupai pola puncak spektrum (+)-katekin (flavonoid golongan flavan-3-ol) dengan

koefisien korelasi ( $r$ ) masing-masing sebesar 0,87707 dan 0,90008. Untuk identifikasi spektrum dari bercak ke-10, digunakan spektrum baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm karena pada kedua panjang gelombang tersebut, senyawa pada bercak masih memberikan absorbansi yang tinggi. Karena nilai  $r < 0,95$  maka kemungkinan jenis flavonoid pada bercak ke-10 adalah golongan flavan-3-ol tetapi bukan (+)-katekin.



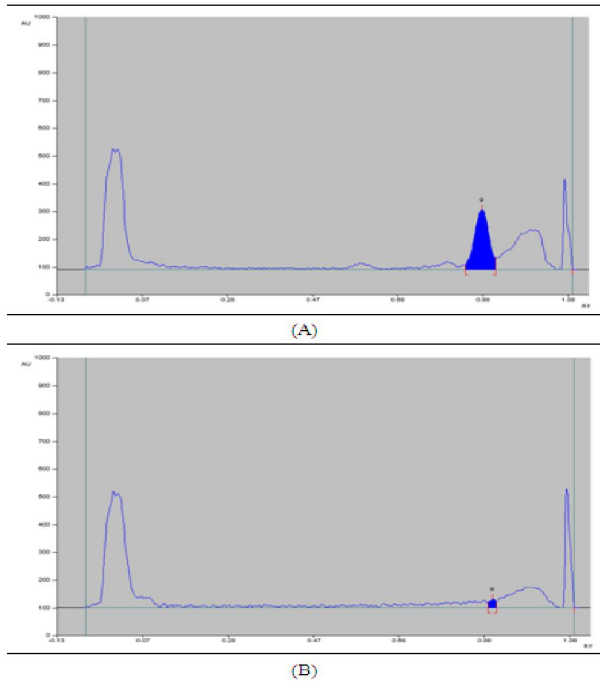
Gambar 10. Spektrum bercak ke-10 jika dibandingkan secara overlay dengan spectrum library

### C. Alkaloid

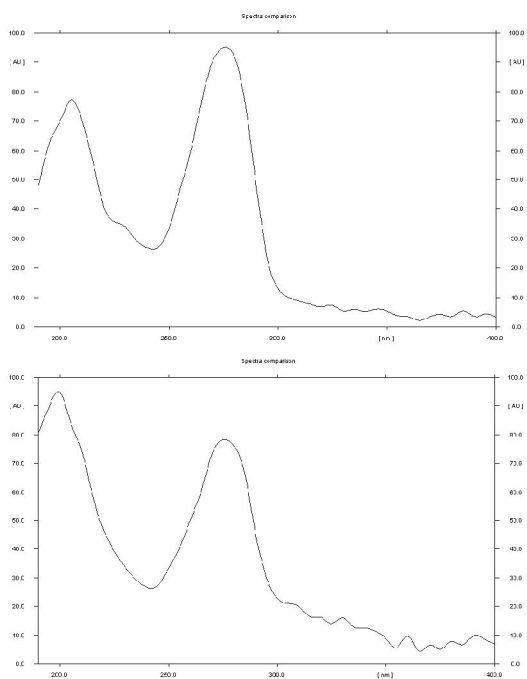


Gambar 11. Gambar profil ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa alkaloid

Keterangan:  
 Plat dielus dengan fase gerak kloroform : metanol (90:10).  
 — Diduga mengandung alkaloid



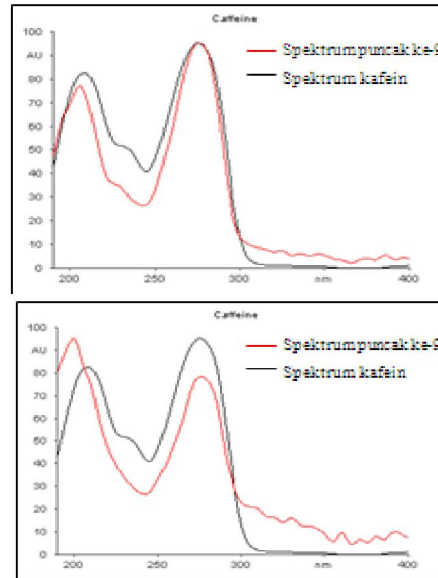
Gambar 12. Kromatogram ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa alkaloid



Gambar 13. Spektrum bercak ke-9

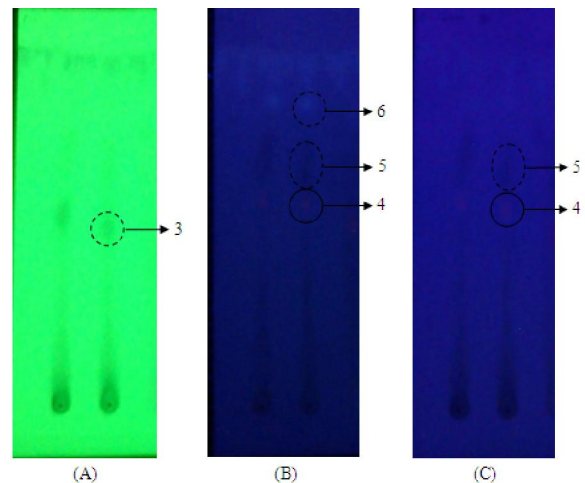
Spektrum dari bercak ke-9 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 275 nm. Jika dibandingkan secara overlay terhadap spektrum yang ada pada spectrum library seperti pada gambar 14, spektrum tersebut baik yang dipayar pada panjang gelombang

254 nm maupun 366 nm menyerupai spektrum kafein dengan koefisien korelasi ( $r$ ) masing-masing sebesar 0,97218 dan 0,90874. Untuk identifikasi spektrum dari bercak ke-9, digunakan spektrum yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm karena mendekati panjang gelombang maksimum spektrum tersebut. Karena nilai  $r > 0,95$  maka kemungkinan senyawa pada bercak ke-9 adalah kafein.



Gambar 14. Spektrum bercak ke-9 jika dibandingkan secara overlay dengan spectrum library

#### D. Tanin

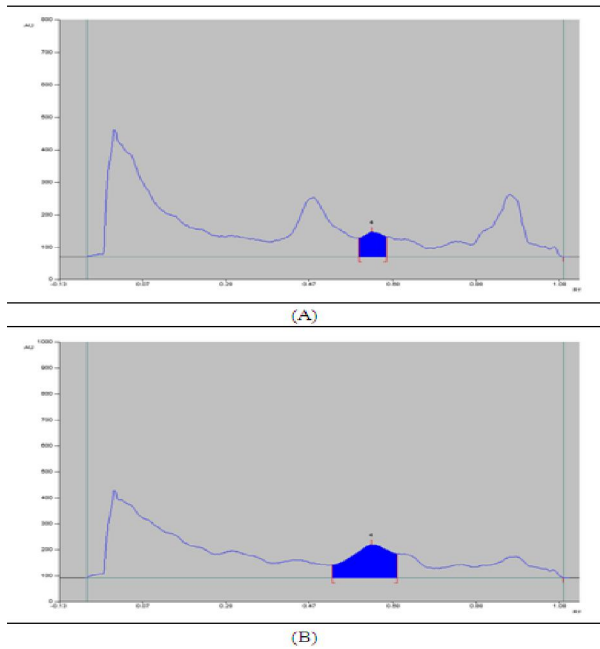


Gambar 15. Gambar profil ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa tanin

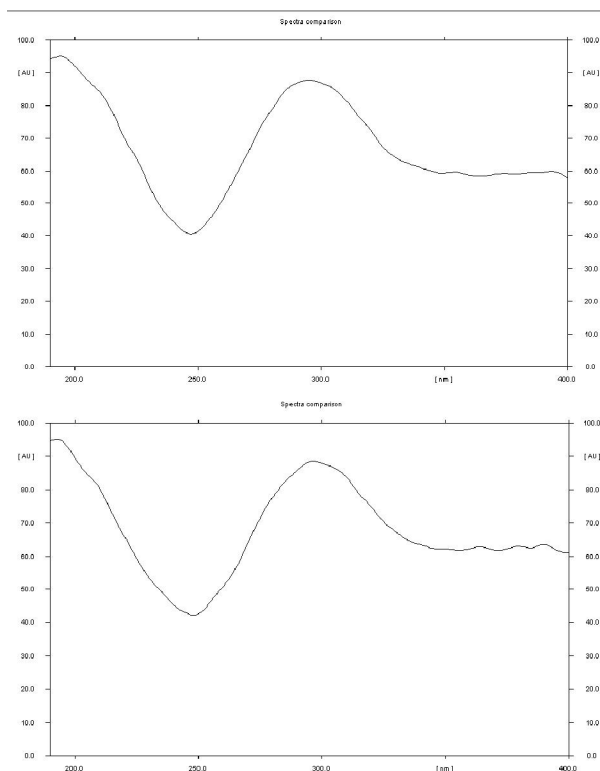
Keterangan:

Plat dielusi dengan fase gerak asam asetat : dietil eter : n-heksan : etil asetat (20:20:20:40).

— Diduga mengandung tanin



Gambar 16. Kromatogram ekstrak produk teh hitam untuk golongan senyawa tanin



Gambar 17. Spektrum bercak ke-4

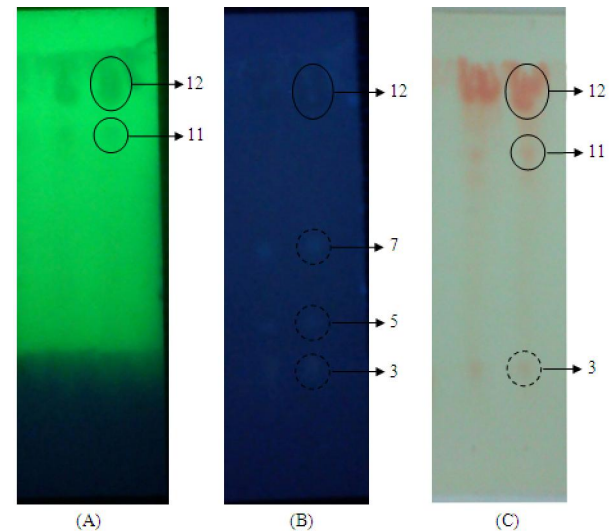
Spektrum dari bercak ke-4 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 290 nm.

Kemungkinan golongan senyawa yang terdapat pada bercak ke-4 adalah golongan senyawa tanin.

Menurut penelitian Hagerman (2011), panjang gelombang maksimum dari golongan senyawa tanin adalah pada 280 nm. Perbedaan nilai panjang gelombang maksimum kemungkinan disebabkan karena sampel yang dipisahkan masih berupa ekstrak sehingga masih mengandung banyak senyawa pengotor yang mengganggu selama proses penentuan profil ekstrak.

#### Penentuan Profil Ekstrak Produk Gambir dengan KLT-Densitometer

##### A. Flavonoid

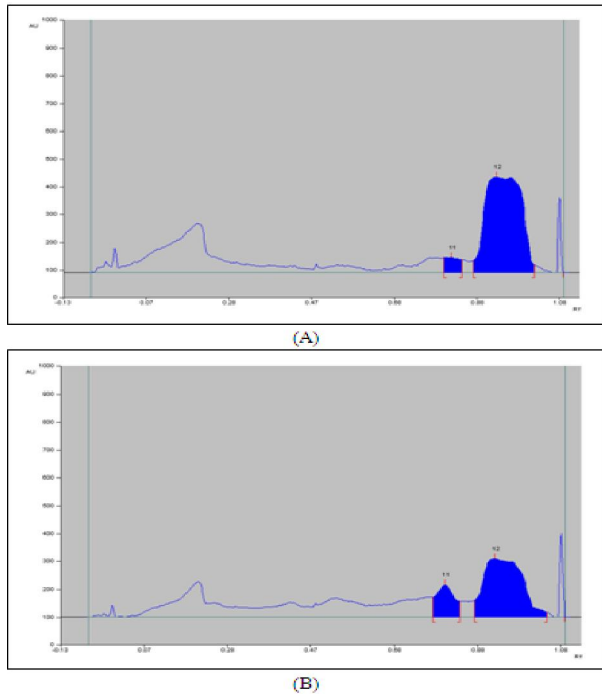


Gambar 18. Gambar profil ekstrak produk gambir untuk golongan senyawa flavonoid

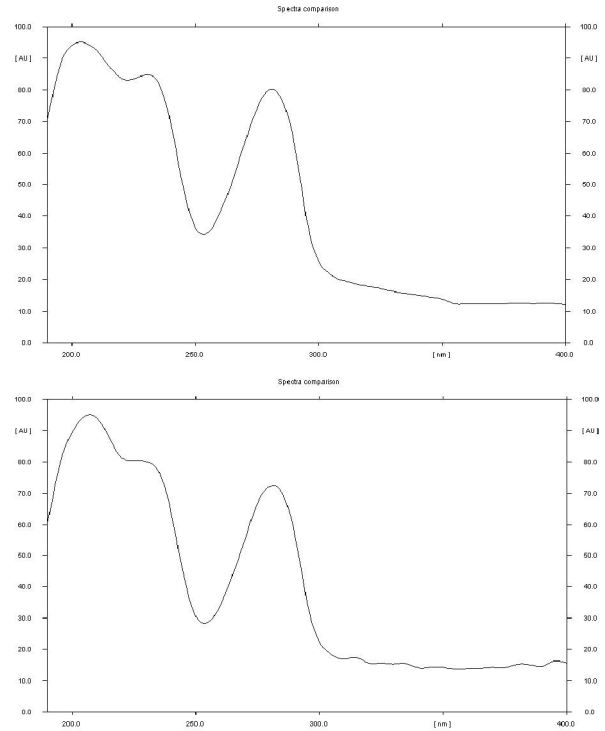
##### Keterangan:

Plat dielusi dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26).

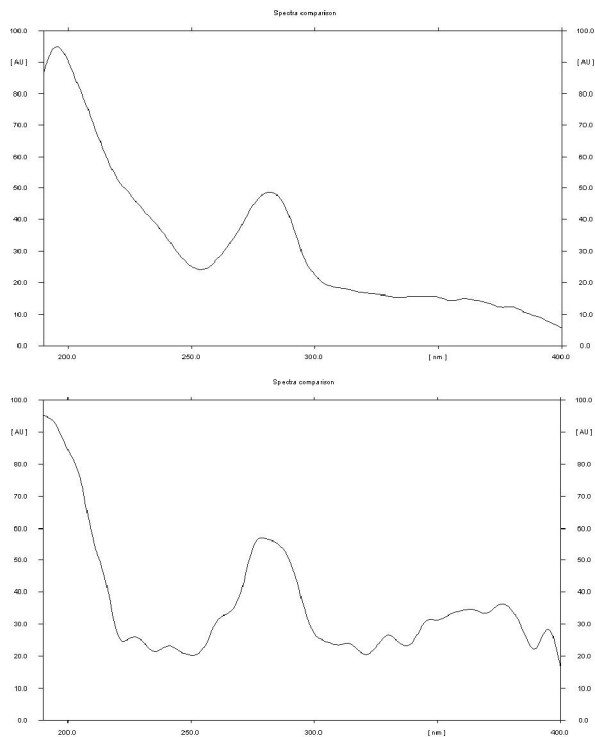
— Diduga mengandung flavonoid



Gambar 19. Kromatogram ekstrak produk gambir untuk golongan senyawa flavonoid



Gambar 21. Spektrum bercak ke-12

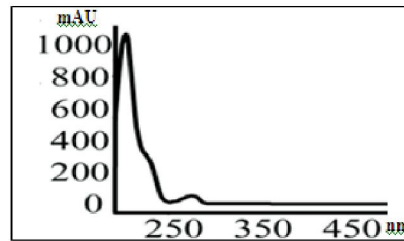


Gambar 20. Spektrum bercak ke-11

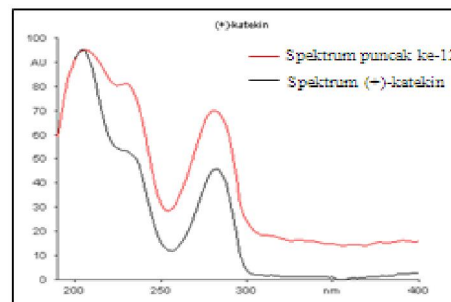
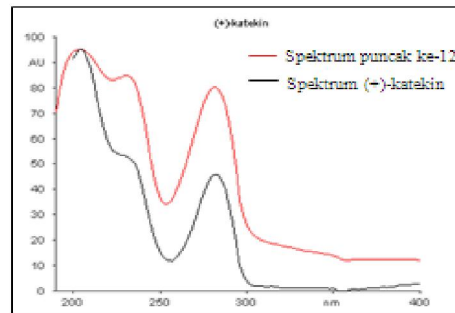
Spektrum dari bercak ke-11 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki dua pita serapan maksimum yaitu antara 195-200 nm (pita II) dan 275-290 nm (pita I). Jika dibandingkan secara overlay terhadap spektrum yang ada pada spectrum library seperti pada gambar 22, pola puncak-puncak spektrum tersebut baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm menyerupai pola puncak spektrum (+)-katekin (flavonoid golongan flavan-3-ol) dengan koefisien korelasi ( $r$ ) masing-masing sebesar 0,97445 dan 0,65837. Untuk identifikasi spektrum dari bercak ke-11, digunakan spektrum baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm karena pada kedua panjang gelombang tersebut, senyawa pada bercak masih memberikan absorbansi yang tinggi. Karena terdapat nilai  $r < 0,95$  maka kemungkinan jenis flavonoid pada bercak ke-11 adalah golongan flavan-3-ol tetapi bukan (+)-katekin. Jika spektrum dari bercak ke-11 baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm dibandingkan dengan bentuk spektrum (+)-epikatekin seperti pada gambar 23, ternyata memiliki bentuk yang relatif sama sehingga

diduga jenis flavonoid pada bercak tersebut adalah (+)-epikatekin.

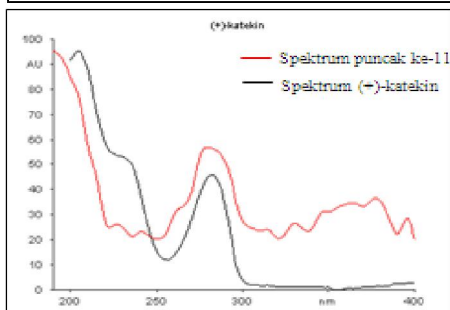
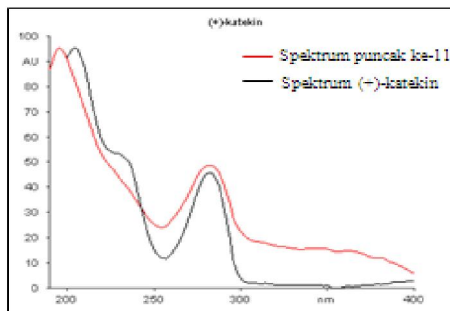
Sedangkan spektrum bercak ke-12 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm juga memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki dua pita serapan maksimum yaitu antara 225-235 nm (pita II) dan 275-285 nm (pita I). Jika dibandingkan secara overlay terhadap spektrum yang ada pada spectrum library seperti pada gambar 24, spektrum tersebut baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm menyerupai spektrum (+)-katekin (flavonoid golongan flavan-3-ol) dengan koefisien korelasi (r) masing-masing sebesar 0,95019 dan 0,97575. Untuk identifikasi spektrum dari bercak ke-12, digunakan spektrum baik yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm karena pada kedua panjang gelombang tersebut, senyawa pada bercak masih memberikan absorbansi yang tinggi. Karena nilai  $r > 0,95$  maka kemungkinan jenis flavonoid pada bercak ke-12 adalah (+)-katekin.



Gambar 23. Spektrum (+)-epikatekin

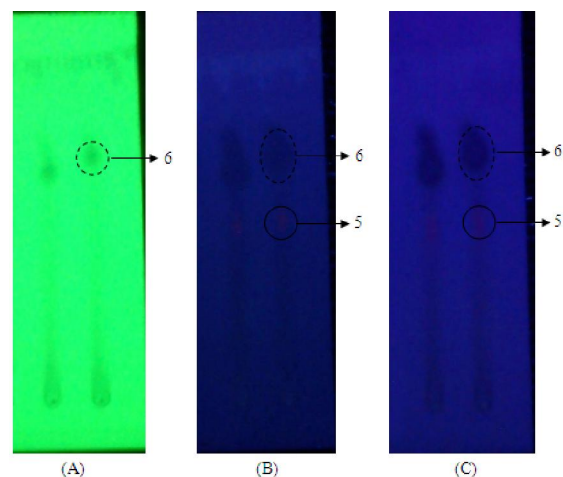


Gambar 24. Spektrum bercak ke-11 jika dibandingkan secara overlay dengan spectrum library



Gambar 22. Spektrum bercak ke-11 jika dibandingkan secara overlay dengan spectrum library

## B. Tanin



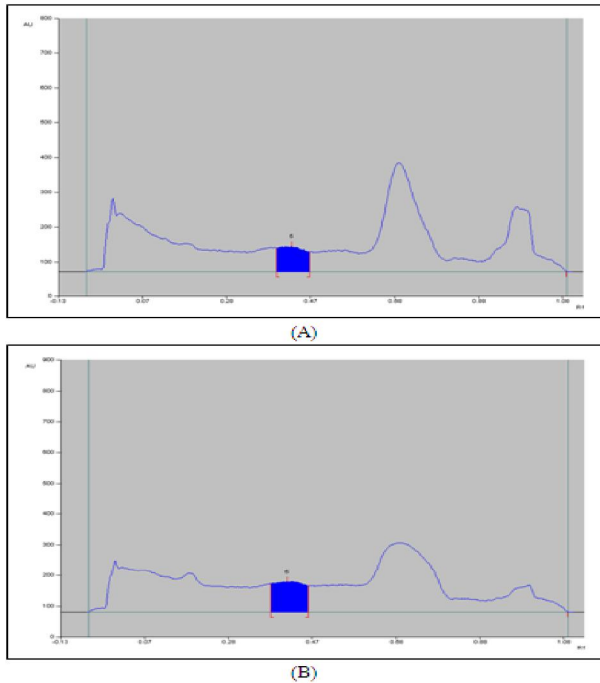
Gambar 25. Gambar profil ekstrak produk gambir untuk golongan senyawa tanin

Keterangan:

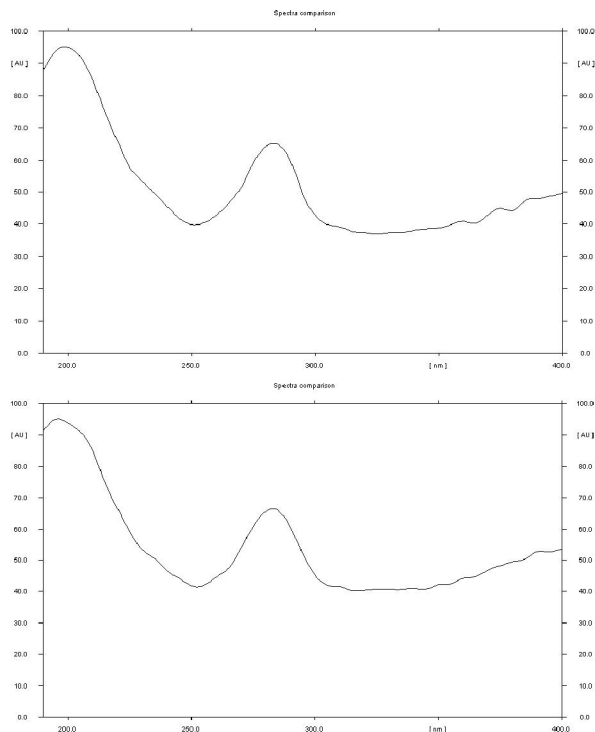
Plat dielusi dengan fase gerak asam asetat : dietil eter : n-heksan : etil asetat (20:20:20:40).

— Diduga mengandung tanin





Gambar 26. Kromatogram ekstrak produk gambir untuk golongan senyawa tanin



Gambar 27. Spektrum bercak ke-5

Spektrum dari bercak ke-5 yang dipayar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm memiliki bentuk yang relatif sama, dimana kedua spektrum tersebut memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 285 nm.

Kemungkinan golongan senyawa yang terdapat pada bercak ke-5 adalah golongan senyawa tanin.

Menurut penelitian Hagerman (2011), panjang gelombang maksimum dari golongan senyawa tanin adalah pada 280 nm. Perbedaan nilai panjang gelombang maksimum kemungkinan disebabkan karena sampel yang dipisahkan masih berupa ekstrak sehingga masih mengandung banyak senyawa pengotor yang mengganggu selama proses penentuan profil ekstrak.

### KESIMPULAN

1. Ekstrak produk gambir memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH lebih besar ( $IC_{50} = 88,57 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$ ) dibandingkan dengan ekstrak produk teh hitam ( $IC_{50} = 311,54 \pm 2,79 \mu\text{g/mL}$ ).
2. Hasil pengamatan profil KLT-densitometer ekstrak adalah sebagai berikut:
  - a. Profil ekstrak produk teh hitam pada fase gerak MeOH:toluen (50:50) menunjukkan bahwa tidak ada bercak yang diduga golongan minyak atsiri; pada fase gerak etil asetat:asam formiat:asam asetat:H<sub>2</sub>O (100:11:11:26) menunjukkan bahwa terdapat dua bercak yang diduga golongan flavonoid, yaitu bercak ke-4 (Rf 0,41; maks 365 nm) dan bercak-10 (Rf 0,97; maks 280 nm); pada fase gerak CHCl<sub>3</sub>:MeOH (90:10) menunjukkan bahwa bercak ke-9 (Rf 0,87; maks 275 nm) diduga golongan alkaloid; pada fase gerak asamasetat:dietil eter:n-heksan:etil asetat (20:20:20:40) menunjukkan bahwa bercak ke-4 (Rf 0,62; maks 290 nm) diduga golongan tanin.
  - b. Profil ekstrak produk gambir pada fase gerak etil asetat:asam formiat:asam asetat:H<sub>2</sub>O (100:11:11:26) menunjukkan bahwa terdapat dua bercak yang diduga golongan flavonoid, yaitu bercak ke-11 (Rf 0,81; maks 280 nm) dan bercak ke-12 (Rf 0,92; maks 280 nm); pada fase gerak asam asetat:dietil eter:n-

heksan:etil asetat (20:20:20:40) menunjukkan bahwa bercak ke-5 (Rf 0,42; maks 285 nm) diduga golongan tanin.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adisewojo, S. 1982. *Bercocok Tanam Teh*. Bandung: Sumur. Hlm. 16.
- Apea-Bah, F. B. et al. 2009. Assessment of the DPPH and -glucosidase Inhibitory Potential of Gambier and Qualitative Identification of Major Bioactive Compound. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 3(10): 736-757.
- Arifin, M. S. 1994. *Petunjuk Teknik Pengolahan Teh*. Bandung: BPTK Gambung. Hlm. 27.
- Arnas, Y. 2009. Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) dengan Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Mencit BALB/c yang Diinokulasi *Salmonella typhimurium* (skripsi). Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Artanti, N. dan M. Hanafi. 2006. Aktivitas Antioksidan Sejumlah Teh yang Ada di Pasaran. *Prosiding Seminar Tantangan Penelitian Kimia*: 75-81.
- Ciulei, J. 1984. *Methodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Bucharest Rumania: Faculty of Pharmacy.
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*, Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm. 486-553.
- Depkes RI. 1994. *Persyaratan Obat Tradisional; Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661-MENKES/SK/VII-1994*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm. 1-19.
- Farnsworth, N. R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J. Pharm. Sci.* 55.
- Gramza, A., K. Pawlak-Lemańska, J. Korczak, E. Wsowicz, and M. Rudzinska. 2005. Tea Extracts as Free Radical Scavengers. *Polish Journal of Environmental Studies* Vol. 14 No. 6: 861-867.
- Hagerman, A. E. 2011. Tannin Chemistry. (serial online), (cited 2011, Apr, 20). Available from: <http://www.users.muohio.edu/Hagermae/tannin.pdf>
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB. Hlm. 102-245.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB. Hlm. 18-19.
- Moffat, A. C., M. D. Osselton, and B. Widdop. 2005. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical Press.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26 (2): 211-219.
- Nanjo, N., M. Nori, K. Goto, and Y. Hara. 1999. Radical Scavenging Activity of Tea Catechins and Their Related Compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63(9): 1621-1623.
- Pang, Y., G. J. Peel, S. B. Sharma, Y. Tang, and R. A. Dixon. 2008. A Transcript Profiling Approach Reveals an Epicatechin-specific Glucosyltransferase Expressed in The Seed Coat of *Medicago truncatula*. *PNAS* Vol. 105, No. 37: 14210-14215.
- Prakash, A., F. Rigelhof, and E. Miller. 2007. Antioxidant Activity. (serial online), (cited 2010, Sep, 6). Available from: [http://www.medallionlabs.com/Downloads/Antiox\\_acti\\_.pdf](http://www.medallionlabs.com/Downloads/Antiox_acti_.pdf)
- Rauf, R., U. Santoso, dan Suparmo. 2010. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Agritech* Vol. 30, No. 1: 1-11.



- Reich, E. and A. Blatter. 2003. Modern TLC: A Key Technique of Identification and Quality Control of Botanical and Dietary Supplements. *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC* (18): 34-37.
- Reich, E., A. Schibli, and A. Debatt. 2008. Validation of High-Performance Thin-Layer Chromatographic Methods for the Identification of Botanicals in a cGMP Environment. *Journal of AOAC International* Vol. 91, No. 1: 13-19.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB. Hlm. 284-285.
- Rohman, A. dan S. Riyanto. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara *in vitro*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (3): 136-140.
- Tuminah, S. 2004. Teh [*Camellia sinensis* O.K. var. *Assamica* (Mast)] sebagai Salah Satu Sumber Antioksidan. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 144: 52-54.