

## **PENENTUAN KADAR TOTAL FENOL, KADAR TOTAL FLAVONOID DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*)**

**Ni Komang Ayu Septiani, I Made Oka Adi Parwata, dan Anak Agung Bawa Putra**

**Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali**

**Email : septiani299@gmail.com**

### **Abstrak**

Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) memiliki beberapa aktivitas farmakologi karena kandungan metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total fenol dan flavonoid dalam ekstrak etanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Serbuk daun gaharu diekstraksi dengan etanol lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstraksi 1000 gram serbuk daun gaharu menghasilkan ekstrak kental etanol yang berwarna coklat sebanyak 95,90 gram. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Kadar total fenol ekstrak etanol daun gaharu sebesar 14,81% GAE sedangkan kadar total flavonoid sebesar 8,34% QE.

**Kata-kata Kunci : *Gyrinops versteegii*, fenol, flavonoid**

### **Abstract**

*Gaharu leaves (*Gyrinops versteegii*) have several pharmacological activities because of secondary metabolite content. This study aimed to determine the total content of phenol and flavonoids in ethanol extract of gaharu leaf (*Gyrinops versteegii*). Gaharu leaf powder was extracted with ethanol and concentrated by rotary evaporator. The extraction of 1000 gram of gaharu leaf powder produced 95,90 grams concentrate brown ethanol extract. Phytochemical test indicated that ethanol extract contained phenol dan flavonoids compounds. Total phenol content of ethanol extract of gaharu leaf was 14.81% GAE while the total flavonoid content was 8.34% QE.*

*Keywords : *Gyrinops versteegii*, phenol, flavonoid*

### **PENDAHULUAN**

Penggunaan tanaman obat sebagai upaya dalam memelihara kesehatan dan mengobati penyakit sudah digunakan sejak zaman dahulu. Tanaman obat memiliki kelebihan dalam pengobatan penyakit karena memiliki fungsi

konstruktif yaitu dengan membangun kembali jaringan yang telah rusak serta menyembuhkan penyakit komplikasi lainnya (Hasdianah, 2012). Salah satu tanaman obat yang memiliki berbagai aktivitas farmakologi adalah Gaharu.

Gaharu (*Gyrinops versteegii*) merupakan salah satu produk hasil hutan bukan kayu yang memiliki nilai ekonomi karena mampu menghasilkan gubal (resin) berupa kayu yang mengalami pelapukan akibat serangan beberapa inokulan jamur (Zubaidi, 2008). Gaharu dapat digunakan sebagai obat penghilang stress, hepatitis, asma, pembengkakan hati dan ginjal, bahan antibiotik untuk TBC, reumatik, tumor stimulant kerja syaraf, sakit perut, aprodosiak, paru – paru, kanker, malaria dan tukak lambung (Sumarna, 2002).

Kandungan kimia pada tanaman Gaharu berpotensi sebagai senyawa antiradikal bebas karena mempunyai nilai  $IC_{50}$  = 3.44 mg/mL (5menit) dan 3,03 mg/mL (60 menit) untuk ekstrak air, ekstrak metanol dengan nilai  $IC_{50}$  = 16.55 mg/mL (5 menit) dan 24,04 mg/mL (60 menit), ekstrak etil asetat dengan nilai  $IC_{50}$  = 19,20 mg/mL (5 menit) dan 19,70 mg/mL (60 menit) dan ekstrak etanol dengan nilai  $IC_{50}$  = 23,45 mg/mL (5 menit) dan 24,04 mg/mL (60 menit). (Parwata *et al.*, 2016). Ekstrak air daun gaharu juga dapat menurunkan kadar MDA pada tikus wistar yang mengalami stress oksidatif (Parwata *et al.*, 2016). Skrining fitokimia dari ekstrak air daun gaharu mengandung metabolit sekunder yang berupa senyawa fenol, steroid dan flavonoid (Parwata *et al.*, 2016).

Fenol merupakan metabolit sekunder yang terbesar dalam tumbuhan. Senyawa fenol dalam tumbuhan dapat berupa fenol, asam fenolat, tannin, lignin dan flavonoid (Watson, 2014)). Flavonoid adalah salah satu golongan senyawa fenol yang tersebar luas di alam. Flavonoid dapat menyerap dan menetralkan radikal bebas karena kandungan gugus –OH dan ikatan rangkap (>C=C<) (Muray *et al.*, 2009). Flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan cara mencegah terbentuknya ROS atau menangkap ROS secara langsung Selain itu flavonoid merangsang terbentuknya antioksidan endogen seperti GPx, SOD dan katalase. (Akhlaghi, *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total fenol, kadar total flavonoid dan skrining fitokimia ekstrak etanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Metode penentuan kadar flavonoid yang digunakan yaitu metode Follin Ciocalteu sedangkan kadar total flavonoid menggunakan metode  $AlCl_3$ .

## **METODE**

### **Penyiapan Sampel**

Sampel daun dari tanaman gaharu yang telah diinokulasi dicuci bersih, dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan dalam satu wadah kemudian dikeringkan dengan cara diangin – anginkan di udara terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering, sampel diblender atau digerus sampai terbentuk serbuk. Serbuk diayak hingga didapatkan ukuran serbuk 300-400 mesh. Serbuk simplisia selanjutnya diuji kadar airnya. Kadar air simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Departemen Kesehatan RI, 1995)

### **Analisis Kadar Air Sampel**

Penentuan kadar air daun gaharu ditentukan dengan metode pemanasan menggunakan oven. Cawan kosong dikeringkan selama 60 menit lalu didinginkan dalam desikator. Cawan ditimbang dengan neraca analitik, selanjutnya simplisia dimasukkan ke dalam cawan tersebut sebanyak 1-3 gram. Cawan dan simplisia ditimbang, dimasukkan dalam oven dengan temperatur pemanasan  $105^{\circ}C$  selama 4 jam kemudian didinginkan, lalu sampel ditimbang. Setelah itu sampel dan cawan dipanaskan kembali dengan oven dan didinginkan. Perlakuan tersebut dilakukan hingga mencapai berat konstan (Apriyantono, 1989). Adapun perhitungan kadar air mempergunakan persamaan 1 .

$$Kadar\ Air = \frac{W_a - W_b}{W_a} \dots\dots\dots(1)$$

Dimana :  $W_a$  : Berat sampel awal(gram)

$W_b$ : Berat sampel akhir (gram)

### **Ekstraksi sampel**

Sebanyak 1000 gram serbuk yang telah halus diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dalam tabung maserasi sambil sesekali dilakukan pengadukan dengan harapan semua senyawa organik memungkinkan akan tertarik pada pelarut etanol 70%. Hasil maserasi disaring untuk mendapatkan filtrat dan residunya dimaserasi kembali dengan etanol, hal ini dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70<sup>0</sup> C dengan kecepatan 100 rpm sampai didapatkan ekstrak kental etanol daun gaharu (Hamdanah, 2015). Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung dengan menggunakan persamaan 2 :

$$\%rendemen = \frac{\text{massa ekstrak (g)}}{\text{massa serbuk (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

#### **Uji Fitokimia Fenol dan Flavonoid**

Uji fitokimia senyawa golongan fenol dan flavonoid dilakukan pada ekstrak etanol daun gaharu menggunakan pereaksi AlCl<sub>3</sub> untuk senyawa fenol sedangkan untuk senyawa flavonoid menggunakan pereaksi Wilstater, Bate Smite-Metcalf dan NaOH 10 %.

#### **Penentuan Kadar Total Fenol**

Analisis total fenol dilakukan dengan prosedur Almey (2010), sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diekstrak dengan 5 mL metanol 85%, divortex hingga homogen dan disentrifus 3000 rpm selama 15 menit kemudian supernatannya disaring. Filtrat diencerkan sampai volume 5 mL. Selanjutnya dipipet sebanyak 0,4 mL filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Clocaften, divortex hingga homogen dan dibiarkan selama 6 menit. Selanjutnya ditambahkan 4,2 mL 5% larutan sodium karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), divortex dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi larutan dibaca pada  $\lambda_{\text{max}}=760$  nm. Setelah pengukuran absorbansi sampel, dilakukan pembuatan kurva standar dengan melarutkan asam galat dalam metanol 85% dengan berbagai konsentrasi 0 - 100 mg/L. Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dari asam galat,  $y = ax + b$ .

### Penentuan Kadar Total Flavonoid

Pengukuran kadar total flavonoid dilakukan dengan prosedur Zou, *et al* (2004). Sejumlah sampel diekstrak dengan 5 mL etanol 50% lalu divortex hingga homogen dan disentrifus 3000 rpm selama 15 menit kemudian supernatan disaring. Filtra diencerkan sampai volume 5 mL. Selanjutnya dipipet 0,5 mL filtrat dan 0,5 mL etanol dan ditempatkan dalam tabung reaksi. Setelah itu larutan ditambah dengan 1,0 mL  $AlCl_3$  2% dan dibiarkan selama 30 menit. Pengukuran absorbansi larutan dibaca pada  $\lambda_{max} = 415$  nm. Kuarsetin dibuat dengan konsentrasi 0-50 mg/L sebagai kurva kalibrasi standar. Absorbansi sampel diinterpolasi ke dalam persamaan regresi linear pada kurva standar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting dalam analisis sampel bahan alam karena merupakan parameter fisikokimia yang berhubungan langsung dengan stabilitas dan kualitas senyawa aktif dalam bahan alam selama proses penyimpanan. Hasil penentuan kadar air serbuk daun gaharu terdapat dalam Tabel 1.

**Tabel 1. Kadar Air Serbuk Daun Gaharu**

Kode	Berat sampel awal (g)	Berat sampel akhir (g)	Kadar air (% b/b)
U1	1.1699	1.0694	8.5905
U2	1.4630	1.3374	8.5834
U3	1.1985	1.0958	8.5870
% Rerata Kadar Air			8.5870±0,004

Keterangan : U1:Ulangan 1; U2:Ulangan 2 ; U3: Ulangan 3

Serbuk kering daun gaharu memiliki persentase kadar air sebesar 8,5870 % hal ini menunjukkan bahwa persentase kadar air dalam serbuk daun etanol telah memenuhi standar simplisia, dimana kadar air minimal yang memenuhi standar

simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Departemen Kesehatan RI,1995). Kadar air yang berlebihan dapat menyebabkan mudahnya pertumbuhan mikroba dan hidrolisis senyawa aktif dalam simplisia.

### **Ekstraksi Daun Gaharu**

Serbuk kering daun gaharu dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali agar senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun gaharu dapat terekstrak secara maksimal. Filtrat yang diperoleh dipekatkan sehingga dihasilkan ekstrak kental etanol yang berwarna coklat tua sebanyak 95,90 gram dan hasil rendemen dari maserasi daun gaharu diperoleh 9,59% (b/b).

### **Uji Fitokimia Senyawa Fenol dan Flavonoid**

Uji Fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan metabolit sekunder. Hasil uji fitokimia flavonoid dan fenol ekstrak etanol daun gaharu terdapat dalam Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gaharu**

Pereaksi	Hasil	Keterangan
FeCl <sub>3</sub>	Hitam	+Fenol
Wilstater	Kuning	+ Flavonoid
Bate Smite-Metcalfe	Merah	+Flavonoid
NaOH 10%	Kuning orange	+Flavonoid

Hasil uji fitokimia pada Tabel 2 yang diuji dengan pereaksi Wilstater, Bate Smite-Metcalfe, dan NaOH 10%, menunjukkan ekstrak etanol daun gaharu positif mengandung flavonoid terhadap ketiga pereaksi tersebut karena menghasilkan perubahan warna yang khas untuk senyawa flavonoid. Selain itu ekstrak etanol daun gaharu menunjukkan hasil positif terhadap pereaksi FeCl<sub>3</sub> yang menandakan bahwa dalam ekstrak etanol daun gaharu mengandung senyawa fenol.

### **Penentuan Kadar Total Fenol dan Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Gaharu**

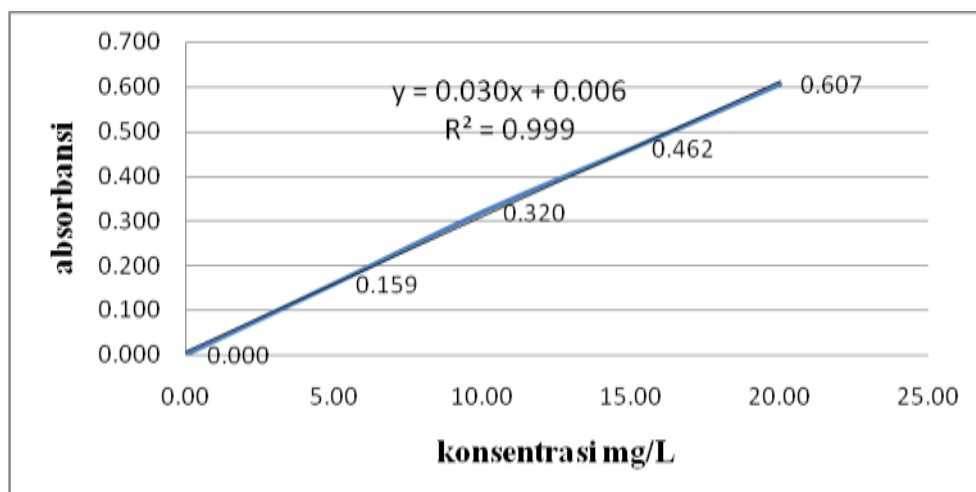
Pengukuran kadar total fenol dan flavonoid dilakukan terhadap ekstrak kental etanol daun gaharu. Prinsip pengukuran kadar total fenol dengan reagen Folin – Ciocalteu yaitu berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol

yang ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru (Pourmorad, dkk, 2006). Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran karena merupakan turunan dari asam hidrosibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil (Lee *et al*, 2003). Hasil pengukuran absorbansi standar asam galat dipaparkan dalam Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Pengukuran Absorbansi Standar Asam Galat**

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
1	0	0.000
2	5	0.159
3	10	0.32
4	15	0.462
5	20	0.607

Dari data di atas dapat dibuat kurva standar asam galat seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 1 di bawah ini.



**Gambar 1. Kurva Standar Asam Galat**

Kurva standar asam galat memiliki persamaan regresi linier  $y = 0,004x + 0,003$  dengan koefisien regresi sebesar 0,996. Dari persamaan tersebut dapat diperoleh kadar total fenol yang dihitung berdasarkan persamaan ini atau absorbansi sampel diplotkan dalam kurva standar seperti yang dipaparkan dalam Tabel 4.

**Tabel 4. Kadar Total Fenol Ekstrak Etanol Daun Gaharu**

Kode Sampel	Berat Ekstrak (mg)	Absorbansi	Kadar Fenol GAE	
			%	mg/ 100 g
A1	0.055	0.628	14.19	14195.45
A2	0.054	0.74	17.05	17050.92
A3	0.060	0.637	13.20	13200.00
Rerata Kadar Fenol			14.81	14815.46

Keterangan : GAE: Galic Acid Equivalent ;A1:Ulangan 1;A2:Ulangan 2; A3:Ulangan 3

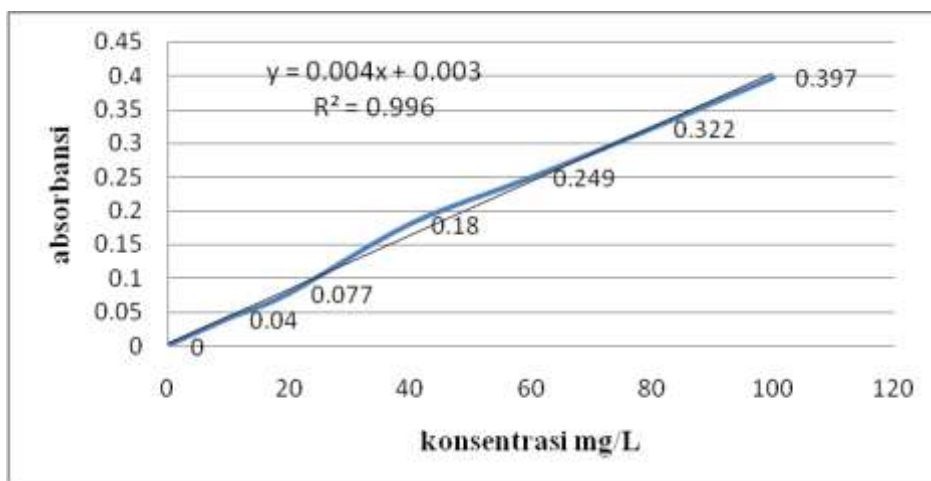
Prinsip penentuan kadar total flavonoid dengan metode aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) yaitu terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan senyawa kuersetin (Azizah, dkk.,2014). Hasil pengukuran absorbansi standar quersetin dipaparkan dalam Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Pengukuran Abosrbansi Standar Quersetin**

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
1	0	0.000
2	10	0.040
3	20	0.077
4	40	0.180
5	60	0.249
6	80	0.322
7	100	0.397

Dari data diatas dapat dibuat kurva standar asam galat seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 2 di bawah ini.





**Gambar 2. Kurva standar quersetin**

Kurva standar quersetin memiliki persamaan regresi linier  $y = 0,030x + 0,006$  dengan koefisien regresi liniernya sebesar 0,999. Dari persamaan tersebut dapat diperoleh kadar total fenol ekstrak etanol daun gaharu yang dipaparkan dalam Tabel 6.

**Tabel 6. Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Gaharu**

Kode Sampel	Berat Ekstrak Sampel (mg)	Absorbansi	Kadar Flavonoid QE	
			%	mg/100g
B1	44	2.518	9.42	9420.19
B2	49	2.265	7.61	7606.92
B3	59	2.867	8.00	8001.34
Rerata Kadar Flavonoid			8.34	8342.82

Keterangan : QE :Quersetin Ekiivalen ; B1:Ulangan 1; B2:Ulangan 2; B3 Ulangan 3

Berdasarkan Tabel 4 diketahui hasil total senyawa fenol pada ekstrak etanol daun gaharu menunjukkan 14,81% fenol pada ekstrak etanol identik dengan senyawa asam galat. Pada Tabel 6 diketahui ekstrak etanol daun gaharu mengandung senyawa flavonoid yang identik dengan quersetin sebesar 8,34%.

Nilai kadar total fenol lebih tinggi dibandingkan dengan total flavonoid karena besarnya kadar fenol dalam ekstrak tidak semuanya merupakan senyawa

flavonoid. Senyawa polifenol merupakan metabolit terbesar dalam tumbuhan yang dapat berupa asam fenolat, melanin, kumarin, flavonoid, lignin dan tanin (Harborne,1987).

## **PENUTUP**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu mengandung senyawa fenol dan flavonoid dengan kadar total fenol sebesar 14,81% GAE sedangkan kadar total flavonoid sebesar 8,34% QE. Saran yang diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi dan identifikasi senyawa aktif serta uji bioaktivitas ekstrak etanol daun gaharu

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Almey, A., Khan, A.J., Zahir S., Suleiman M., and Aisyah Rahim K., 2010, Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extract of aromatic plants'leaves, *International Food Research*, 17 :1077-1088.
- Akhlaghi, M. and Brian, B., 2009, Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46 : 309 -17.
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N.L., Sedarwati, dan Budiyanto,S., 1989, *Analisis Pangan (Petunjuk Laboratorium)* , PAU Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Azizah,D.,N., Kumolowati,E., dan Faramayuda, F., Penetapan Kadar Flavonoid Metode  $AlCl_3$  Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.), *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2):45-49.
- Departemen Kesehatan RI,1995, *Materia Medika Indonesia Jilid VI Cetakan I*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Hamdanah, S., Anam, S., dan Jamaluddin, 2015, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa*

- bilimbiL.*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *GALENTIKA Journal of Pharmacy*, 1(1):22-34
- Hasdianah, 2012, *Mengenal Diabetes Mellitus Pada Orang Dewasa dan Anak – Anak Dengan Solusi Herbal*, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan ke II, a.b. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.
- Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY, 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and A Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine, *J. Agric. Food Chem*, 51 (25): 7292-7295.
- Murray, R.K., Granner D.K., and Rodwell V.W., 2009, *Biokimia Harper*, Edisi 27, a.b. Andri Hartono, EGC, Jakarta.
- Parwata, I.M.O.A, Manuaba, I.B.P, Suintayasa, I.W.P., dan Wita, I.W., 2016, Gaharu leaf water extract reduce MDA and 8-OHdG levels and increase activities SOD and catalase in wistar rats provided maximum physical activity, *Bali Medical Journal (Bali Med J)*, 5(3):79-83.
- Parwata, A., Manuaba, P., Yasa, S., and Bidura, I.G.N.H., 2016, Characteristics and Antioxidant Activities of Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Leaves, *Journal of Biological and Chemical Research*, 33(1):294-301.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., dan Shahabimad, N., Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology*, 5(1):1142-1145.
- Sumarna, Y., 2002, *Budi Daya & Bisnis Gaharu*, Penebar Swadaya, Depok.
- Watson, R., R., 2014, *Polyphenols in Plants : Isolation, Purification and Extract Preparation*, Academic Press, USA.
- Zubaidi, A. dan Farida, N., 2008, Pertumbuhan Bibit Gaharu Pada Beberapa Jenis Naungan, *Crop Agro*, 1(2): 92-96.
- Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D., 2004, Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 5032-505

