

KANDUNGAN FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN GAMBIR KERING (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb)

Noveri Rahmawati^{1*}, Armon Fernando, Wachyuni

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau
Jalan Kamboja Simpang Baru Panam Pekanbaru
Ira11001@gmail.com

Abstract

A research has been conducted to determinate phenolic contents and antioxidant activity of dried gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) leaves extract with 40, 60 and 80°C temperature variations. Extract was made by using maceration method with ethyl acetate solvent. Extract rendement result of each temperature were 1,615, 1,663, and 1,768%, respectively. Moisture content examination at each temperature were 28,69, 25,43, and 16,48%, respectively, and ash content of each temperature were 0,438, 0,419, and 0,364%, respectively. The results of TLC Rf values at each temperature were 0,825; 0,85 and 0,85, respectively. Determination of phenolic contents was performed by using Folin-Ciocalteu method and the result for each temperature were 132,82 mg, 157,13 mg and 172,62 mg GAE/mL, respectively. Antioxidant activity tests were performed by using DPPH and vitamin C as reference standard with results at each temperature were 32,026; 22, 788, and 28,343 ppm, respectively. Antioxidant activity on gambir leaves increased from temperature 40°C to 60°C and decreased at temperature 80°C, this result because antioxidant increased by rising temperature then constant and down again with extreme temperature.

Keyword: Antioxidant, determination of phenolic, gambir

Abstrak

Telah dilakukan penetapan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak daun gambir kering (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) dengan variasi suhu 40, 60, dan 80°C. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat perbedaan kandungan fenolik dan nilai IC₅₀ dari ekstrak daun gambir kering. Ekstrak dibuat dengan metoda maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Pemeriksaan kandungan fenolik menggunakan metoda Folin-Ciocalteu, didapatkan hasil yaitu pengeringan pada suhu 40°C sebesar 132,82 mg GAE/mL, suhu 60°C 157,13 mg GAE/mL sedangkan suhu 80°C 172,62 mg GAE/mL. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metoda DPPH dan pembandingan vitamin C. Hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh dari suhu 40°C adalah 32,026 ppm, suhu 60°C 22, 788 ppm dan suhu 80°C 28,343 ppm.

Kata kunci : Antioksidan, gambir, total fenol

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara peng-ekspor utama gambir dunia (80%) yang sebagian besar berasal dari Kabupaten Lima Puluh Kota dan Pesisir Selatan. Negara tujuan utama ekspor gambir Indonesia adalah India dan Singapura. Pemasaran gambir produksi Indonesia masih mengalami kendala kuantitas dan kualitas walaupun berpotensi untuk dikembangkan sebagai komoditas yang cukup potensial (Susanti, 2008).

Salah satu penyebab rendahnya kualitas gambir produksi Indonesia adalah

pada teknik pengolahan. Teknik pengolahan daun gambir cara tradisional yang selama ini dilakukan terdiri dari beberapa tahap yaitu perebusan daun segar, ekstraksi getah gambir, pengendapan, penirisan air, pen-cetakan, dan pengeringan (Gumbira dkk, 2009). Komposisi senyawa pada gambir tergantung pada cara pengolahan yang dilakukan pada daun gambir. Dikaji ber-dasarkan tahap proses pembuatan gambir, dapat diketahui terdapat beberapa titik kritis sepanjang proses pengolahan gambir yang berpotensi menurunkan mutu gambir. Titik kritis tersebut terdiri dari tahap pertama pada saat pemetikan daun. Daun yang rusak

akibat penyakit atau serangan hama serta daun yang terlalu tua menghasilkan kadar katekin yang lebih rendah. Pada tahap kedua yaitu perebusan, masuknya bahan pengotor dapat menurunkan mutu gambir. Tahap ketiga pengendapan ekstrak daun dan ranting pada saat pengolahan gambir sering dimasukkan bahan pemberat bobot seperti pasir dan tanah, tahap keempat yaitu tahap pengeringan yang tidak sempurna mengakibatkan warna dan bau gambir serta kadar air tidak sesuai dengan standar mutu, dan kelima tahap pengemasan dan penyimpanan yang buruk berdampak pada berubahnya kondisi fisik gambir maupun kerusakan gambir akibat ditumbuhi kapang (Gumbira dkk, 2009).

Nilai ekspor gambir yang cenderung terus menurun tidak terlepas dari rendahnya mutu gambir serta harga gambir yang melemah di pasar Internasional yang menyebabkan permintaan pasar berkurang, sehingga menurunkan pendapatan petani (Kanwil Departemen Perdagangan, 1997). Berdasarkan survei yang telah dilakukan terhadap petani gambir pada daerah Kampar, saat ini produksi gambir telah berkurang dan petani beralih dengan menjual daun kering. Banyak faktor yang harus diperhatikan agar kualitas daun kering gambir tetap terjaga, diantaranya adalah total fenol dan aktivitas antioksidan dari komponen utama penyusun gambir yaitu katekin.

Apabila proses oksidasi enzimatis oleh enzim polifenol oksidase bisa dihindari maka penurunan kandungan katekin tidak akan terjadi. Berdasarkan paparan di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk menentukan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dari daun gambir yang dikeringkan pada suhu pengeringan pada variasi suhu yaitu suhu 40, 60 dan 80°C.

BAHAN DAN METODA

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gambir, DPPH, vitamin C, asam gallat, etil asetat, metanol, reagen Folin-Ciocalteu 50%, air, natrium karbonat 7%, metanol, akuades.

Peralatan yang digunakan adalah pengering kabinet, blender, pengayak, erlenmeyer, botol berwarna gelap, destilasi vakum, *Rotary Evaporator* (Cylla®), Spektrofotometer UV Vis 1800 (Shimadzu®), HPLC (Shimadzu® RID 10A), mikroplate, waterbath, timbangan analitik, plat KLT, krus silikat, tabung reaksi, dan peralatan gelas lainnya

Sampel yang digunakan adalah daun dari tanaman gambir *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. yang diambil di Desa Tanjung, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. Sampel dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dan setelah bersih sampel ditimbang. Kemudian sampel dibagi tiga untuk tiga variasi suhu pengeringan yaitu suhu 40, 60, dan 80°C. Proses pengeringan menggunakan oven lebih kurang 1,5 jam, kemudian diblender, lalu sampel siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi Sampel

Sampel dimaserasi dengan pelarut etil asetat selama ± 3 hari dan diletakkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya. Dilakukan pengadukan secara berkala selama maserasi kemudian disaring dan sisa ampasnya direndam lagi dan dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian maserat dari masing-masing pelarut diuapkan dengan alat destilasi vakum dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental etil asetat. Kemudian timbang berat masing-masing ekstrak kental yang didapat dari masing-masing suhu.

Pemeriksaan Ekstrak Etil Asetat Daun Gambir

a. Kadar Air

Pada uji ini digunakan alat *Moisture Balance*. Pada alat tersebut dimasukkan 2 g sampel pada aluminium foil yang sudah ditara dan selanjutnya diukur kadar airnya dengan menekan tombol start maka didapatkan persen kadar air. (Voight, 1994).

b. Kadar Abu

Krus silikat pijarkan pada suhu 105°C kemudian ditara. Ambil sebanyak 2 g ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Kemudian krus yang telah berisi ekstrak dipijarkan pada suhu 600°C perlahan dengan alat *Furnace* hingga arang habis, lalu dinginkan, kemudian ditimbang sampai berat konstan. Hitung kadar abu dalam persen terhadap berat sampel awal (Anonim, 2000).

Pemeriksaan Total Fenol

Total fenolik diukur dengan metoda Folin-Ciocalteu dari Xu and Chang (2007). yaitu:

1. Penentuan panjang gelombang optimum.

Larutan standar asam galat 200 ppm 0,1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ambil sebanyak 0,9 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 0,25 N lalu di-

tambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi asam galat. Kemudian divortex dan diinkubasi selama 5 menit lalu ambil sebanyak 2,5 mL Na_2CO_3 7% ditambahkan ke dalam campuran dan divortex. Campuran diinkubasi terlebih dahulu selama 20 menit di tempat gelap pada suhu ruang, kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan ditentukan serapan maksimum pada panjang gelombang 700 nm hingga 800 nm dengan selang panjang gelombang 5 nm.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

Pembuatan asam galat dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200, 250, 300, dan 350 ppm) lalu diambil dari masing-masing konsentrasi sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi. Sebanyak 0,9 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 0,25 N ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi asam galat dengan berbagai konsentrasi kemudian divortex dan diinkubasi selama 5 menit. Diambil sebanyak 2,5 mL Na_2CO_3 7% ditambahkan ke dalam campuran dan divortex kemudian diinkubasi selama 20 menit, kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 755 nm dan dibuat kurva kalibrasi serta persamaan regresi linear dari data yang didapat.

3. Pengukuran sampel

Sebanyak 0,005 gram ekstrak daun gambir diencerkan dengan etil asetat sebanyak 5 mL kemudian diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipipet 0,9 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 0,25 N ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi sampel lalu divortex dan diinkubasi selama 5 menit. Ditambahkan 2,5 mL Na_2CO_3 7% ke dalam campuran dan divortex. Campuran diinkubasi terlebih dahulu selama 20 menit di tempat gelap pada suhu ruangan, kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 755 nm. Hasil dihitung dengan menggunakan asam galat ekivalen (AGE mg/g) menggunakan kurva standar asam galat.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Gambir

1. Penyiapan larutan DPPH

5 mg DPPH dilarutkan dalam metanol 5 mL dan dibuat larutan induk 1000 ppm. Lalu dari 1000 ppm dilakukan pengenceran sebesar 40 ppm dengan cara pipet 0,2 mL DPPH lalu ditambahkan 4,8 mL metanol.

2. Penyiapan Sediaan Uji Antioksidan

1 mg ekstrak daun gambir dilarutkan dalam metanol p.a 1 mL. Pengujian dilakukan pada ekstrak yang dibuat dalam 6 seri konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90625 ppm dalam larutan metanol dengan masing-masing tiga kali pengulangan.

3. Uji Penangkapan Radikal DPPH

Uji DPPH yang digunakan untuk pengukuran total aktivitas antioksidan ini mula-mula ekstrak etil asetat diambil 100 μL dimasukkan ke dalam plat A, plat B sampai ke plat H dimasukkan MeOH 50 μL . Kemudian diambil 50 μL ekstrak dari plat A masukkan ke plat B, dan seterusnya pengenceran dilakukan sampai plat F. Sisa dari plat F 50 μL dibuang. Plat A sampai plat G dimasukkan DPPH 40 ppm sebanyak 80 μL . Untuk blanko, campuran berisi 50 μL metanol (plat H). Tutup plat dengan *aluminium foil*. Campuran diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap pada temperatur ruang. Absorbansi sampel diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun tanaman gambir diperoleh dari Desa Tanjung Kabupaten Kampar Provinsi Riau (Gambar 1.) Setelah dilakukan sortasi basah maka daun dibagi menjadi tiga bagian masing-masing sebanyak 1,5 kg dan dilakukan pengeringan dengan variasi suhu 40, 60 dan 80°C. Setelah kering maka dilanjutkan dengan maserasi menggunakan etil asetat. Penggunaan etil asetat berdasarkan penelitian dari Kasim dkk (2011) bahwa katekin lebih tinggi tingkat kelarutan menggunakan etil asetat dibandingkan dengan pelarut lainnya.



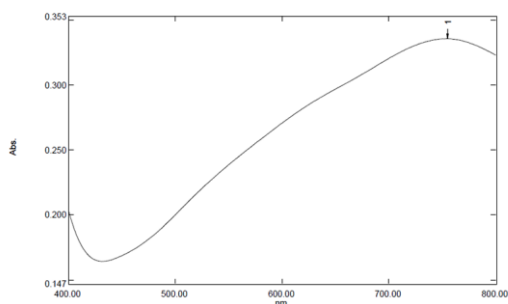
Gambar 1. Daun gambir

Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan penetapan beberapa standar mutu ekstrak yaitu kadar air dan kadar abu. Kadar air dalam ekstrak pada suhu 40, 60 dan 80°C diperoleh sebesar 28,593, 25,436 dan 16,486%. Kadar air dalam ekstrak memenuhi standar untuk kadar air yaitu antara 30-40%. Kadar air ditetapkan untuk menjaga kualitas ekstrak dan memberikan rentang besarnya

kandungan air di dalam ekstrak. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Soetarno dan Soediro, 1997). Semakin tingginya suhu, maka persen kadar air pada masing-masing suhu menurun disebabkan suhu pengeringannya semakin tinggi jadi kadar airnya rendah.

Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal, disini ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja. Kadar abu ekstrak suhu 40°C diperoleh sebesar 0,4386%, suhu 60°C sebesar 0,4196% dan suhu 80°C sebesar 0,3643% telah memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia (maks 4-5%). Uji kadar abu dengan berbagai suhu menunjukkan senyawa organik yang ada pada ekstrak kental daun kering gambir memiliki kadar impuritis yang lebih rendah dari pada standar mutu gambir nomor satu dalam SNI 01-3391-2000. Hal ini disebabkan karena terjadinya peningkatan suhu maka kadar abu yang diperoleh semakin rendah.

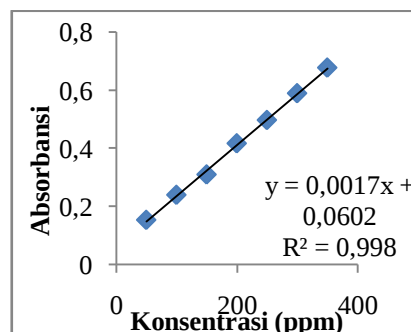
Setelah dilakukan pemeriksaan kadar air, kadar abu dan uji KLT dari ekstrak maka selanjutnya dilakukan penentuan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan daun gambir. Kandungan senyawa fenol dalam daun gambir ditentukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu. Metoda Folin Ciocalteu merupakan salah satu metode termudah untuk mengukur penentuan kadar fenol dari produk alami. Pada penentuan kadar fenol ini digunakan standar asam galat dan diperoleh panjang gelombang maksimum 755 nm (Gambar 2). Untuk menentukan kadar fenol maka diperlukan kurva kalibrasi standar asam galat (Gambar 3).



Gambar 2. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Kadar total fenol ekstrak daun gambir dari setiap perlakuan yaitu suhu 40°C didapat data 132,82 ppm, suhu 60°C didapat rata-rata 157,13 ppm dan suhu 80°C sebesar 172,62 ppm. Terlihat terdapat interaksi antara suhu pengeringan dan kadar total fenol. Dimana kadar total fenol tertinggi terdapat pada suhu 80°C yaitu 172,62 ppm.

Pada variasi suhu, kadar total fenol yang diperoleh meningkat seiring dengan meningkatnya suhu pengeringan kemudian stabil dan cenderung menurun kembali. Dari penelitian sebelumnya, kadar total fenol dengan empat variasi suhu yaitu 40, 60, 80 dan 90°C mengalami peningkatan seiring dengan naiknya suhu. Akan tetapi pada suhu tinggi (90°C) melebihi suhu optimumnya, kadar fenol justru menurun kembali. Hal ini disebabkan kadar fenol didalamnya terganggu karena tingginya suhu pengeringan (Susanti, 2008). Dengan semakin tingginya suhu, maka akan semakin memudahkan keluarnya fenol dari sel daun sebagian besar komponen daun adalah karbohidrat termasuk serat selulosa dan protein. Semua komponen ini tidak terlarut. Hanya komponen dengan berat molekul kecil yang terdifusi dalam air panas yaitu polifenol (Chu dan Juneja, 1997). Pemanasan pada saat pengeringan juga berfungsi untuk inaktivasi enzim polifenol oksidase (Tuminah, 2004). Semakin tinggi suhu pengeringan yang digunakan juga akan menyebabkan semakin tingginya inaktivasi enzim polifenol oksidase sehingga aktivitas enzim akan semakin rendah, dan kerusakan fenol akan semakin kecil. Akan tetapi kandungan fenol juga akan terganggu oleh semakin meningkatnya suhu pengeringan sehingga jumlah total fenol terdeteksi akan mencapai puncak maksimum kemudian konstan dan cenderung menurun.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan metoda DPPH. Pada metoda ini, radikal menjadi stabil karena sampel uji mendonorkan atom hidrogen, sehingga warna ungu pada DPPH berubah menjadi warna kuning. Pada uji radikal DPPH ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dengan panjang gelombang 517 nm. Gulcin (2006) mengatakan bahwa terjadi absorbansi yang rendah ketika radikal DPPH dihambat oleh senyawa antioksidan melalui proses donor hidrogen, untuk membentuk radikal yang stabil, sehingga terjadilah perubahan warna kuning yang sebelumnya berwarna ungu.

Pada pengujian aktivitas antioksidan dengan suhu pengeringan diperoleh nilai IC_{50} suhu $40^{\circ}C$ sebesar 32,0262 ppm, pada suhu $60^{\circ}C$ sebesar 22,7889 ppm dan pada suhu $80^{\circ}C$ sebesar 28,3434 ppm dengan perlakuan kontrol dinyatakan dengan IC_{50} sebesar 5,0424 ppm. IC_{50} adalah besarnya konsentrasi suatu sampel untuk menghambat 50% radikal bebas. Berdasarkan hasil nilai IC_{50} suhu $60^{\circ}C$ memiliki aktivitas inhibisi paling tinggi dalam menghambat radikal DPPH (Gambar 4).

Nilai IC_{50} turun pada suhu $80^{\circ}C$. Terdapat perbedaan antara hasil kandungan fenolik dengan kandungan antioksidan. Dengan pengaruh suhu kandungan fenolik meningkat namun kandungan antioksidan terjadi penurunan dengan kenaikan suhu. Penurunan IC_{50} dapat terjadi karena ketidakstabilan senyawa katekin yang terdapat pada

daun gambir. Senyawa katekin merupakan komponen dari daun gambir yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.

Konsentrasi (ppm)	ci		
	Suhu $40^{\circ}C$	Suhu $60^{\circ}C$	Suhu $80^{\circ}C$
250	91,090 $\pm 2,197$	91,305 $\pm 1,271$	90,806 $\pm 1,464$
125	91,625 $\pm 1,291$	95,226 $\pm 1,735$	93,775 $\pm 0,873$
62,5	72,649 $\pm 2,420$	86,326 $\pm 2,899$	77,460 $\pm 1,022$
31,25	45,321 $\pm 3,434$	58,656 $\pm 3,177$	50,426 $\pm 1,293$
15,625	25,998 $\pm 2,359$	35,014 $\pm 2,208$	27,625 $\pm 3,566$
7,8125	14,629 $\pm 2,195$	21,544 $\pm 3,977$	16,810 $\pm 2,116$
3,90625	4,424 $\pm 2,445$	11,735 $\pm 2,648$	8,846 $\pm 2,172$

Gambar 4. Tabel persentase inhibisi ekstrak gambir

KESIMPULAN

1. Total fenol daun gambir yang tertinggi diperoleh pada suhu pengeringan $80^{\circ}C$ yaitu 172,62 ppm. Sedangkan pengujian aktivitas antioksidan daun gambir yang tertinggi diperoleh nilai IC_{50} adalah 22,788 ppm pada suhu $60^{\circ}C$.
2. Semakin tinggi suhu pengeringan, semakin tinggi rendemen, kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak yang didapat hingga mencapai titik puncak tertentu selanjutnya akan konstan dan cenderung menurun kembali.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan 1, Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Chu, D. C., and Juneja, L. R., 1997, *General Chemical Composition of Green tea and Its Infusion. Chemistry and Applications of Green Tea*. CRC Press LLC. USA.
- Gulcin, I., 2006, Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine, *Life Sciences*, 78: 803-811
- Gumbira, S. E., Syamsu, K., Mardiyati, E., Herryandie, A., Evalia, NA., Rahayu, DL., Puspitarini, R., Ahyatudin, A., dan Hadiwijoyo, A. 2009, *Agroindustri dan bisnis gambir Indonesia*. IPB Press, Bogor.
- Kassim, M. J., Hussin, M. H., Achmad, A., Dahon, N. H., Suan, T. K., dan Hamdan, H. S., 2011, Penentuan kandungan fenol total, tanin terkondensasi dan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Uncaria gambir*, *Majalah Farmasi Indonesia*.
- Susanti, D. Y., 2008, Efek suhu pengeringan terhadap kandungan fenolik dan kandungan katekin ekstrak daun kering gambir. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Pertanian*. Yogyakarta.

- Soetarno, S., dan Soedero, 1997, *Standardisasi obat tradisional*, Presidium Tema Ilmiah Nasional Bidang Farmasi.
- Tuminah, S., 2004, Teh (*Camelia Sinensis O.K var Assamica Mast*) sebagai Salah Satu Sumber Antioksidan. *Cermin Dunia Kedokteran* 144: 52-54
- Voight, R., 1994, *Buku Ajar Teknologi Farmasi* Ed V, Diterjemahkan oleh Soendani Noerno Soewandi, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Xu, B. J., and Chang, K. C., 2007, A Comporative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by extraction Solvent, *J. Food Sci.* 72(2) : S159 - S166.S