



Research Articles

## Perbandingan antioksidan ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) dan ketiga fraksi berbagai pelarut (heksan, etil asetat, dan air)

Mauizatul Hasanah\*, Deby Apriyanti, Dewi Patmayuni

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFI) Bhakti Pertiwi, Jl. Ariodillah III No. 22A Palembang, Sumatera Selatan

Received 6 Desember 2019; Accepted 5 Januari 2020; Published 20 Januari 2020

**Keyword:**

Antioxidant;  
*Aquilaria malaccensis* L.;  
DPPH (2,2-diphenyl  
picrylhydrazyl)

**ABSTRACT:**

The research comparison of antioxidant activity extracts and various fractions of *Aquilaria malaccensis* L. leaves had been done. Extraction had been done by maceration method of 350 grams of leaf powder used ethanol 70% solvent for 3 days to 5 repetitions, then fractionation used hexane, ethyl acetate and akuades solvents. The extraction yield obtained 3.57 (%w/w) viscous extract yield, while the fractionation results obtained hexane, ethyl acetate and water fractions were 43.14, 32.67, and 22.20 (%w/w). Antioxidant test was carried out used DPPH (diphenyl-picrylhydrazyl) method, where the inhibitory value of DPPH (% inhibition) was tested at various concentrations of sample test solutions, for thick extracts at concentrations of 80; 60; 40; 20; and 10 ppm, and fraction samples at concentrations 200; 160; 120; 80; and 40 ppm. IC50 calculation results showed that antioxidant activity was classified as very strong in thick extracts and ethyl acetate fraction, were 16.45 and 47.69 ppm, and strong antioxidants were found in n-hexane fraction and water fraction were 57.24 and 76.95 ppm. @2020 Published by UP2M, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

**Kata Kunci:**

Antioksidan;  
*Aquilaria malaccensis* L.;  
DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil)

**ABSTRAK:**

Telah dilakukan penelitian perbandingan antioksidan ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) dan ketiga fraksi-nya dari berbagai pelarut (heksan, etil asetat dan air). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi terhadap 350 gram serbuk daun gaharu menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kental menggunakan pelarut heksan, etil asetat dan akuades. Hasil ekstraksi diperoleh rendemen ekstrak kental 3,57 (%b/b), sedangkan hasil fraksinasi diperoleh fraksi heksan, etil asetat dan air berturut-turut adalah 43,14; 32,67; 22,20 (%b/b). Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (Difenilpikril hidrazil), dimana nilai penghambatan DPPH (% inhibisi) di uji pada berbagai konsentrasi larutan uji sampel, untuk ekstrak kental dilakukan pada konsentrasi 80; 60; 40; 20; 10 ppm, dan sampel fraksi pada konsentrasi 200; 160; 120; 80; 40 ppm. Intensitas aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari nilai IC50, yang diperoleh dari persamaan garis lurus antara konsentrasi sampel uji dan % inhibisi. Hasil perhitungan IC50 menunjukkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat pada ekstrak kental dan fraksi etil asetat yaitu 16,45 dan 47,69 ppm, dan antioksidan kuat terdapat pada fraksi N-heksan dan fraksi air yaitu 57,24 dan 76,95 ppm. @2020 Published by UP2M, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

\* Corresponding author.

E-mail address: [mauiza\\_hasanah@yahoo.com](mailto:mauiza_hasanah@yahoo.com)

## 1. PENDAHULUAN

Tumbuhan gaharu (*Aquilaria malaccensis* L) merupakan salah satu tumbuhan hutan yang juga dikenal memiliki beberapa khasiat pengobatan. Daun gaharu memiliki aktivitas sebagai antibakteri pada Gram positif dan Gram negatif [1], selain itu ekstrak daun gaharu dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, ekstrak daun gaharu dari daerah Langkat, Sumatera Utara yang berumur 4 dan 7 tahun memiliki kekuatan antioksidan (IC<sub>50</sub>) yang sangat kuat, yaitu 27,83 ppm dan 27,76 ppm [2], serbuk daun gaharu asal Kajang, Selangor, Malaysia, yang dimaserasi menggunakan berbagai pelarut yaitu heksan, diklorometan, etil asetat dan metanol memiliki kekuatan antioksidan (IC<sub>50</sub>) yang juga sangat kuat pada ekstrak metanol, yaitu sebesar 30 µg/ml [3].

Aktivitas antioksidan daun gaharu, dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Daun gaharu dari Malaysia mengandung steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, [3]. Daun gaharu dari Berau, Kalimantan Timur, Indonesia diketahui mengandung alkaloid, dan karbohidrat [5]. Daun gaharu dari daerah Tabanan, Bali mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin, polifenol, glikosida dan triterpenoid [5], simplisia daun gaharu dari Kalimantan Barat mengandung alkaloid, antrakuinon, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan tannin, [6]. Semua senyawa metabolit sekunder mempengaruhi efek antioksidan daun gaharu.

Penelitian ini melakukan ekstraksi daun gaharu asal Belitang, Sumatera Selatan, Indonesia, untuk diketahui aktivitas antioksidan serta menghubungkannya dengan kandungan fitokimia di dalamnya. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan tiga pelarut dengan sifat kepolaran yang berbeda, untuk dibandingkan aktivitas antioksidannya dari ekstrak dan ketiga fraksi yang diperoleh.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang.

### 2.2 Alat dan Bahan

Maserator, alat destilasi, satu set alat *rotary evaporator*, corong pisah, pipet mikron 0,2 ml (Socorex), alat – alat gelas, Spektrofotometer Uv-VIS (Shimidzu UV-1700).

Daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.), pereaksi 2,2-Diphenil-1-Picrylhydrazyl; DPPH (Sygma Aldrich), Etanol *absolute* 99,9% (Merck), Etil Asetat p.a 99,5% (Merck), N-Heksan p.a 90% (Merck), Metanol p.a (Merck), akuades, Vitamin C, Kloroform, Kloroform Amoniak, Asam Sulfat 2N, Pereaksi Mayer, Logam Mg, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, norit, Asam Asetat Anhidrat 10%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, dan pasir bersih.

Sampel penelitian daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.), diperoleh dari daerah Belitang Oku Timur, Sumatera Selatan dan identifikasi tumbuhan uji dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat. Sampel yang digunakan adalah daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) berwarna hijau tua.

### 2.3 Prosedur Penelitian

#### 2.3.1 Preparasi Sampel

Daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.), disortir, dibersihkan terlebih dahulu kemudian dirajang, dan dikeringkan, dihaluskan sampel kering hingga menjadi sampel serbuk dan ditimbang sebanyak 350 gram.

#### 2.3.2 Ekstraksi Metode Maserasi

Sebanyak 350 gram serbuk daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.), diekstraksi dengan maserasi, menggunakan pelarut etanol 70% (dibuat dari etanol *absolute*) selama 5 hari, maseratnya diambil dan ampasnya dimaserasi lagi sebanyak 3 kali dengan cara yang sama sampai diperoleh maserat yang bening. Maserat yang dihasilkan dikumpulkan dalam satu wadah, kemudian pelarut diuapkan, ekstrak dipekatkan sampai terbentuk ekstrak kental.

#### 2.3.3 Fraksinasi

Ekstrak kental dilarutkan di dalam gelas beaker dengan akuades sebanyak 200 ml, dimasukkan ke dalam corong pisah bervolume 500 ml, difraksinasi dengan menggunakan n-heksan p.a sebanyak 200 ml, kemudian dengan etil asetat p.a, kemudian dipekatkan menjadi tiga

fraksi, yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air (akuades).

### 2.3.4 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak dan Fraksi

Senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi adalah Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid, Steroid, Saponin, dan Senyawa Fenol.

### 2.3.5 Uji Antioksidan

#### a. Persiapan Larutan Uji Sampel dan Pembanding

Pemeriksaan antioksidan dilakukan dengan membuat larutan uji sampel pada berbagai variasi konsentrasi, yaitu konsentrasi 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm (ekstrak kental) dan 200 ppm, 160 ppm, 120 ppm, 80 ppm, 40 ppm (berbagai fraksi). Sedangkan konsentrasi untuk larutan pembanding, yaitu larutan vitamin C pada konsentrasi 25 ppm, 20 ppm, 15 ppm, 10 ppm, dan 5 ppm.

Dipipet masing-masing 0,2 ml larutan uji sampel berbagai konsentrasi (sampel uji ekstrak kental, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi air) dan larutan pembanding berbagai konsentrasi dimasukkan ke dalam vial.

#### b. Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas dikocok homogen, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,05 mM, ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

#### c. Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

Ditentukan absorbansi DPPH murni, sebelum direaksikan dengan masing-masing sampel uji dan pembanding, dengan dipipet 0,2 ml metanol p.a dan ditambahkan DPPH 0,05 mM sebanyak 3,8 ml dibiarkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya.

Pengukuran absorbansi DPPH pada larutan uji sampel dan pembanding dilakukan dengan dipipet 0,2 ml larutan uji (sampel uji ekstrak kental, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi air) dan larutan pembanding yang telah disiapkan, secara berurutan masing-masing ditambahkan dengan 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap yang terlindung dari cahaya.

Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukans sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dan larutan pembanding secara berurutan.

#### d. Penentuan Daya Hambat DPPH (% Inhibisi)

Besarnya hambatan serapan radikal DPPH diketahui dari perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_1} \times 100\%$$

Keterangan:

A1 = Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan larutan sampel dan pembanding

A2 = Absorbansi DPPH pada  $\lambda$  maksimum setelah direaksikan dengan larutan sampel dan pembanding.

#### e. Penentuan Daya Antioksidan (IC50)

Nilai IC50 diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % Inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji masing-masing sampel dan pembanding.

IC50 diperoleh dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linear menggunakan rumus :

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = Persen Inhibisi (50)

x = Konsentrasi (K)

### 2.4 Analisa Data

Data yang diperoleh dari alat Spektrofotometri UV-Vis berupa absorbansi DPPH kontrol dan DPPH setelah direaksikan dengan larutan uji sampel dan pembanding pada berbagai konsentrasi, digunakan untuk menghitung % Inhibisi. % Inhibisi digunakan untuk memperoleh IC50. Penyajian data dalam bentuk tabulasi, hasil dianalisis dengan membandingkan nilai IC50 yang didapatkan dari pengujian antioksidan terhadap ekstrak kental, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi air.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, sampel serbuk kering sebanyak 350 gram seperti pada Gambar 1 di bawah ini,



Gambar 1. Sampel serbuk daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.)

menghasilkan ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) 12, 51 g dengan rendemen sebesar

3,57% b/b. Persen rendemennya ditentukan dengan cara perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{ekstrak kental}}{\text{ekstrak awal}} \times 100\%$$

Setelah dilakukan proses ekstraksi dan fraksinasi pada daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.), kemudian dilakukan uji pendahuluan atau yang sering disebut dengan uji fitokimia. Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam tumbuhan tersebut. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kental dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) menunjukkan bahwa daun gaharu mengandung flavonoid, fenolik, dan steroid seperti ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

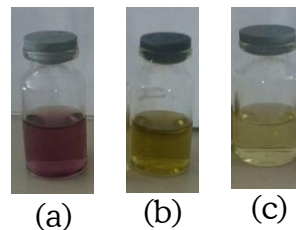
Kandungan Kimia	Ekstrak Kental	Fraksi Air	Fraksi Etil	Fraksi N-heksan
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	-
Fenolik	+	+	+	-
Saponin	-	-	-	+
Terpenoid	+	+	+	+
Steroid	+	-	+	-

Antioksidan ekstrak dan fraksi diperiksa dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas difenilpikrilhidrazil (DPPH) yang diperiksa pada panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh, yaitu 516,2 nm dengan pada Spektrofotometer UV – Vis.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH ini, reaksi DPPH dan sampel dilakukan di tempat gelap terlindung cahaya, karena larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) sangat mudah teroksidasi dan peka jika terpapar cahaya sangat peka terhadap cahaya dan sangat mudah teroksidasi. Proses tersebut dilakukan selama 30 menit di saat perubahan absorbansi DPPH yang diredam telah cukup (Molyneux, 2003).

Senyawa antioksidan pada sampel akan bereaksi meredam radikal bebas DPPH, yang secara kualitatif ditunjukkan dengan terjadinya

perubahan warna DPPH, dari berwarna ungu sebelum bereaksi dengan sampel dan perbandingan lalu berubah menjadi kuning pucat setelah bereaksi, Pereaksi DPPH berwarna ungu pekat, apabila terjadi proses reduksi antara DPPH dan sampel uji maka akan terjadi perubahan warna pereaksi DPPH menjadi warna ungu pudar sampai kuning, hal ini berarti sampel uji memiliki aktivitas penangkal radikal bebas (Molyneux, 2003), seperti pada penelitian ini, ditunjukkan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Perubahan warna Larutan DPPH sebelum direaksikan (a) dan setelah

direaksikan dengan sampel (b) dan dengan pembanding (c)

Hasil pengukuran % inhibisi DPPH dari pemeriksaan absorpsi DPPH sebelum dan setelah direaksikan dengan ekstrak kental ditunjukkan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Peresentasi (%) Inhibisi sampel ekstrak kental pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)
-------------------	--------------

80	90,36
60	75,48
40	65,65
20	53,21
10	45,07

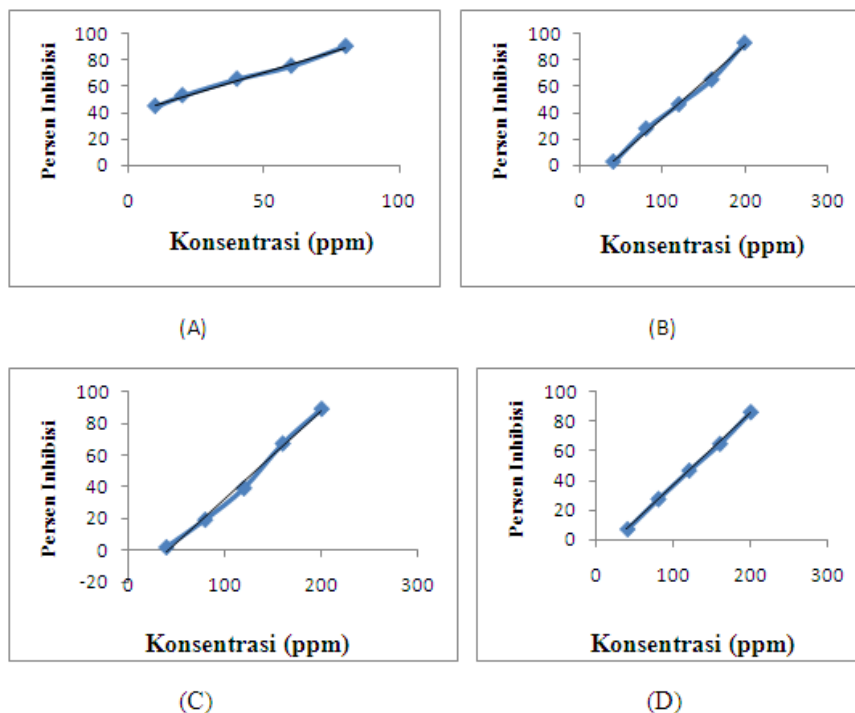
Hasil pengukuran % inhibisi DPPH dari pemeriksaan absorpsi DPPH sebelum dan setelah direaksikan dengan fraksi kental n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air pada berbagai variasi konsentrasi ditunjukkan pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. % Inhibisi sampel fraksi kental pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)		
	Fraksi n- heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
200	93,76	89,06	86,18
160	65,58	67,24	64,73
120	46,64	39,11	46,67
80	28,03	19,16	27,37
40	2,68	1,19	6,94

Nilai % inhibisi pada berbagai konsentrasi di buat kurva liniernya, lalu diperoleh grafik untuk ekstrak total pada persamaan  $Y = 0,624 X + 39,73$  ( $R^2 = 0,995$ ), untuk fraksi n-heksan diperoleh persamaan  $Y = 0,549 X + 18,57$  ( $R^2 = 0,994$ ), untuk fraksi etil asetat diperoleh persamaan  $Y =$

$0,556X + 23,48$  ( $R^2 = 0,993$ ), untuk fraksi air diperoleh persamaan  $Y = 0,489x + 12,37$  ( $R^2 = 0,999$ ). Adapun grafik perbandingan % inhibisi berbagai sampel ditunjukkan pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi % Inhibisi terhadap Sampel, A) ekstrak kental; B) fraksi n-heksan; C) fraksi etil asetat; D) fraksi air

Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> dari ekstrak kental, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan, fraksi air dan pembanding Vitamin C terdapat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil perhitungan tingkat kekuatan antioksidan (IC<sub>50</sub>)

Sampel Uji	Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak Total	16,45
Fraksi Etil Asetat	47,69
Fraksi N-heksan	57,24
Fraksi Air	76,95
Vitamin C	26,94

Aktivitas antioksidan yang diduga dimiliki daun gaharu disebabkan kandungan flavanoid dan fenolik, seperti yang diketahui bahwa senyawa flavanoid dan fenolik yang termasuk dalam golongan polifenol dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat berfungsi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada strukturnya. Aktivitas antioksidan itu sendiri tergantung pada sifat biologis dan farmakologis (Majewska dkk, 2011).

Semakin besar kemampuan menghambat radikal bebas, maka semakin besar aktivitas antioksidannya, sehingga aktivitas antioksidan tersebut dapat diketahui melalui persen inhibisi. Nilai ini ditentukan dengan menggunakan nilai absorbansi DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel ekstrak dan berbagai fraksi yang mana nilai absorbansi DPPH dikurangi nilai absorbansi sesudah penambahan sampel ekstrak dan berbagai fraksi dibagi nilai absorbansi DPPH tersebut dikali 100%. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing konsentrasi sampel.

Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak total dan ketiga fraksi pada Tabel 4, menunjukkan hasil bahwa ekstrak kental daun gaharu mempunyai IC<sub>50</sub> yang paling kuat dibandingkan dengan etil asetat, sedangkan pada fraksi n-heksan dan fraksi air mempunyai IC<sub>50</sub> terendah dibanding dengan ekstrak kental dan fraksi etil asetat tetapi fraksi n-heksan dan fraksi air masih tergolong antioksidan kuat. Hal ini dikarenakan ekstrak kental dan fraksi etil asetat diduga memiliki senyawa flavonoid dan fenolik yang memiliki sifat antioksidan. Senyawa flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi etil asetat daun gaharu dengan gugus hidroksil bebas baru mempunyai aktivitas penangkap radikal dan berperan untuk pencegahan radikal bebas baru dengan cara

memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

#### 4. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian potensi antioksidan dari ekstrak dan berbagai fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) terhadap pereaksi DPPH yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Aktivitas antioksidan dari ekstrak kental, fraksi n-heksan fraksi etil asetat dan fraksi air daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) diperoleh nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut adalah 16,45 ppm, 57,24 ppm, 47,69 ppm, dan 76,95 ppm.
2. Ekstrak kental daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) memiliki aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) yang tertinggi dengan intensitas yang tergolong sangat kuat

#### REFERENSI

- [1] Muhani, M., Sari, R. dan Fajriaty, I. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol. *Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 4, No.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*.
- [2] Nugraha, R., Batubara, R. dan Ginting, H. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis*, LAMK) berdasarkan umur pohon. *Peronema Forestry Science*. Vol. 4 No. 1
- [3] Huda, A.W.N., Munira, M.A.S., Fitriya, SD. And Salmah, M. 2009. Anitoxidant activity of *Aquilaria malaccensis* (thymelaeaceae) leaves. *Pharmacognosy Research*. Vol. 1. Issue 5, hal. 270 – 273.
- [4] Maharani, R., Fernandes, A., Turjaman, M., Lukmandaru, G. and Kuspradini, H. 2016. "The Characterization of Phytochemical and GC-MS Analysis on Borneo Agarwood *Aquilaria Malaccensis*, Lamk Leaves and Its Utilization as an Anti-Browning in Apple Juice (*International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8 (10). 1576 – 1582

- [5] Yanti, I.G.A.A.D., Swastini, D.A., dan Kardena, I.M. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke). *Jurnal Farmasi Udayana*. Vol. 2. No.4
- [6] Harfinda, E. M., Normagiat, S., dan Hardiansyah, G. 2017. Potensi Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Aquilaria* sp Asal Kalimantan Barat untuk Pembuatan Teh Herbal. Seminar Nasional Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Pontianak, 23 – 24 Mei 2017
- [7] Molyneux, P. 2004. The use of stable free radikal Diphenyl-Picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidan activity. *J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.