

ARTIKEL

KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI METANOL EKSTRAK ETANOL DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb)

TOTAL FLAVONOID CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF METHANOL FRACTION OF GAMBIR LEAF ETHANOL EXTRACT (*Uncaria gambir* Roxb)

Rahayu Mayaringtyas¹, 1Hari Susanti¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Gambir is a plant that contains antioxidant compounds called flavonoids. Several studies have shown that flavonoids are compounds that have the ability to defend against free radicals. Therefore, this study is expected to determine the antioxidant activity and total flavonoid content of the methanol fraction of gambir leaves. Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol as solvent, followed by fractionation with methanol. Phytochemical screening test using ammonia test and thin layer chromatography showed that the ethyl acetate fraction contained flavonoids in the ethanolic extract. Testing of antioxidant activity was carried out using the DPPH method. Antioxidant activity can be expressed as ES_{50} value and then statistically analyzed using SPSS with 95% confidence level. The results showed that the ES_{50} value of the routine standard was $11.92 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, the and the methanol fraction was $15.25 \pm 0.25 \mu\text{g / mL}$. The total flavonoid content in the methanol fraction was $11.51 \pm 0.05 \% \text{ b/b RE}$. Data analysis using the Mann Whitney nonparametric test showed that the ES_{50} results of the methanol fraction were significantly different with rutin. Both of the sample has strong antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, *Uncaria Gambir* Roxb, DPPH, Gambir

ABSTRAK

Gambir merupakan tanaman yang mengandung senyawa antioksidan yang disebut flavonoid. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk melawan radikal bebas. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total fraksi metanol dari ekstrak etanol daun gambir. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dilanjutkan dengan fraksinasi dengan metanol. Uji penapisan fitokimia menggunakan uji amoniak dan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung flavonoid dalam ekstrak etanolik. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan sebagai nilai ES_{50} (*Effective Scavenging 50*) kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan nilai ES_{50} standar rutin sebesar $11,92 \pm 0,46 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi metanol sebesar $15,25 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$. Kandungan flavonoid total dalam fraksi metanol ekstrak etanol adalah sebesar $11,52 \pm 0,05 \% \text{ b/b RE}$. Analisis data menggunakan uji nonparametrik Mann Whitney menunjukkan bahwa hasil ES_{50} ekstrak etanol dan fraksi metanol berbeda nyata, menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada fraksi metanol.

Kata Kunci: Antioksidan, *Uncaria Gambir* Roxb, DPPH, Gambir

PENDAHULUAN

Beberapa penyakit dalam tubuh disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai atom atau gugus dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas juga ada di lingkungan, beberapa logam (misalnya, besi dan tembaga), asap rokok, obat-obatan, makanan kemasan, aditif, dll (Droge, 2002). Untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, zat antioksidan bertindak dengan menstabilkan radikal bebas dengan mengisi kekurangan elektronnya, sehingga mengganggu reaksi berantai (Haliwell and Gutteridge, 1999).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat digunakan untuk melindungi makanan dengan memperlambat kerusakan akibat oksidasi, ketengikan, atau perubahan warna. Antioksidan sering bertindak sebagai donor radikal hidrogen atau dapat bertindak sebagai akseptor radikal, sehingga dapat menunda timbulnya pembentukan radikal bebas. Molyneux, 2004) Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan berlebih, sehingga jika paparan radikal bebas terlalu banyak, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Clarkson dan Thompson, 2000). Antioksidan eksogen dapat bersumber dari bahan sintetik maupun bahan alami. (Winarsi, 2007)

Salah satu tanaman yang memiliki sifat antioksidan adalah tanaman gambir dengan nama latin *Uncaria gambir* Roxb, tanaman dari famili Rubiaceae. (Anonim, 2019) merupakan tumbuhan perdu yang berasal dari Sumatera dan Kalimantan. Tumbuhan ini tumbuh liar di hutan dan tempat lain pada ketinggian 200-900 meter di atas permukaan laut, yang tanahnya relatif landai, dan mendapat sinar matahari yang cukup. Di Sumatera dan Kalimantan, tanaman gambir umumnya ditanam oleh masyarakat di pekarangan (Mardisiwodjo,

2003). Sebagian besar gambir dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, antara lain penyakit alergi, penyakit metabolik, kanker, dan penyakit degeneratif yang berhubungan dengan penuaan (Djauhariya dan Hernani, 2014), juga bisa dimanfaatkan sebagai pelindung terhadap UV (Setyowati., 2017), Bahan aktif sediaan antiseptic mulut(Lucida dkk, 2007). Gambir secara tradisional digunakan sebagai suplemen dan obat untuk makan buah pinang, seperti obat maag, obat luka bakar, selain rebusan daun dan pucuknya yang empuk, juga digunakan untuk mengobati diare dan disentri dan sebagai obat kumur. Gambir lebih dikenal di seluruh dunia dengan menggunakan nama gambir, cutch, catechu atau pale catechu. Senyawa utama yang terkandung dalam gambir dapat dijelaskan sebagai 7%-30% pseudomonoamine catechin dan 22%-55% lutein catechin (Utami, 2008). Gambir telah lama digunakan sebagai suplemen mengunyah buah pinang untuk memperkuat gigi. Ekstrak gambir sedikit banyak mengandung katekin yang merupakan penyusun utama suatu senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri (Lucida., 2007).

Untuk mendapatkan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi maka perlu dilakukan ekstraksi terhadap daun gambir. Kebanyakan senyawa dalam tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan bersifat semi polar. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun gambir memiliki nilai ES_{50} pada ekstrak etanol sebesar $73,5282 \pm 2,0307 \mu\text{g/mL}$, dan fraksi etil asetat sebesar $80,4442 \pm 0,6649 \mu\text{g/mL}$. Kadar senyawa flavonoid total ekstrak etanol sebesar $8,5354 \pm 0,1574 \%$ b/b EK dan fraksi etil asetat sebesar $2,8901 \pm 0,1272 \%$ b/b EAG. (Putri, 20220). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid total dan aktivitas

antioksidan ekstrak etanol dan fraksi methanol daun gambir.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pioneer Analytical Balance (OHAUS), stirrer, *rotary evaporator* (Heidoph), waterbath (Memmert) mikropipet, yellow tip, blue tip, glassware, electric stirrer, Spektrofotometer UV-Vis (Pharmaspec Shimadzu UV-1800). Bahan uji dalam penelitian ini adalah daun gambir yang diperoleh pada bulan Maret, 2021 dari petani di Kebuntinggi, Pekanbaru, Provinsi Riau.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich), kertas saring, n-heksana (Brataco), metanol, etanol industri 96% (Brataco), aquades, etanol p.a. (E Merck), methanol p.a. (E. Merck), rutin p.a. (E. Merck) amonia p.a. (E. Merck).

Determinasi dan Identifikasi Tanaman Gambir

Tanaman Gambir yang digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi dan dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan.

Penyiapan ekstrak dan fraksi

Sebelum dilakukan ekstraksi terlebih dahulu dilakukan pengawaleman dengan cara merendam serbuk daun gambir dengan heksan. Selama 24 jam. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. (Anonym 2017) Ekstrak yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*, dilanjutkan dengan bantuan penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan metanol dengan cara menambahkan methanol kedalam ekstrak kental

dan diaduk, disonikasi, dan disaring. Bagian yang larut metanol (filtrat) selanjutnya diuapkan pelarutnya hingga diperoleh fraksi kental.

Uji pendahuluan adanya flavonoid

Uji dilakukan dengan meneteskan larutan sampel pada kertas saring. Setelah kering dikenakan uap ammonia. Hasil uji dinyatakan positif jika bercak pada kertas saring berubah menjadi lebih kuning. (Markham, 1999).

Penentuan kandungan Flavonoid total dalam sampel

Uji dilakukan sesuai dengan Sembiring dkk, (2018) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 25 mg fraksi metanol daun gambir dilarutkan dalam etanol p.a. hingga 25 mL. Larutan fraksi yang diperoleh dipipet 2 ml dan ditambah 2 ml $AlCl_3$ 2% kemudian dikocok secara homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 406 nm. Dilakukan 5 kali pengulangan. Sebagai pembanding digunakan larutan rutin. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai mg/g rutin ekivalen (RE) (Selawa, 2013).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Masing-masing 1,0 ml, fraksi metanol dan larutan pembanding rutin dengan berbagai konsentrasi dikocok kuat dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM. Campuran larutan tersebut disimpan ditempat gelap selama 40 menit. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang 516 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai ES_{50} (*effective scavenging*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas DPPH sebanyak 50% (Nurviana, 2015)

Analisis Data

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diperoleh data berupa absorbansi sisa DPPH pada berbagai konsentrasi sampel. Selanjutnya dihitung nilai % penangkapan radikal bebas dengan rumus:

$$\% \text{ Penangkapan DPPH} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya ditentukan regresi linear antara konsentrasi sampel dengan nilai % penangkapan sehingga di peroleh persamaan

$$Y = bx + a$$

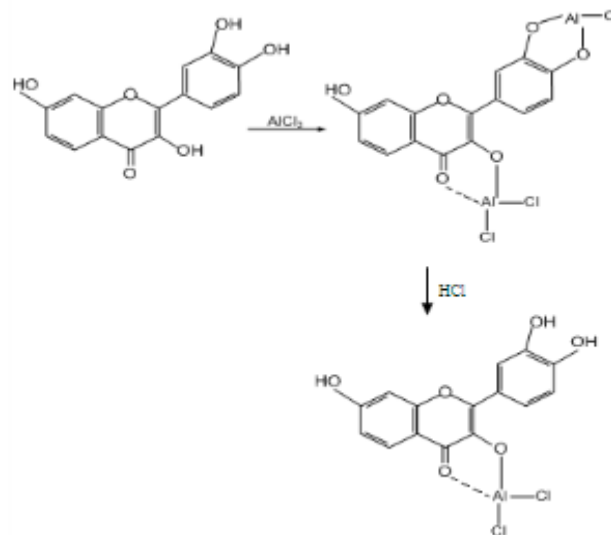
Dimana y adalah % penangkapan, X adalah konsentrasi sampel. Nilai ES_{50} dihitung dengan mensubstitusikan nilai 50 pada y

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa bahan yang digunakan merupakan daun

dari tanaman *Uncaria gambir* Roxb. Hal ini penting untuk menghindari kesalahan dalam mengambil sampel. Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa didalam fraksi metanol mengandung senyawa flavonoid terlihat dari terbentuknya warna kuning intensif setelah perlakuan dengan uap ammonia terhadap kertas saring yang sudah ditetesi sampel.

Penentuan kadar flavonoid total fraksi metanol daun gambir secara spektrofotometri visible berdasarkan adanya pembentukan kompleks antara flavonoid dalam sampel dengan $AlCl_3$ akan mengakibatkan pergeseran gelombang batokromik yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning Ahmad et al., 2015). Fraksi metanol daun gambir mengandung flavonoid total sebesar $11,52 \pm 0,05$ % b/b RE. Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dengan $AlCl_3$ dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dengan $AlCl_3$ (Markham, 1988).

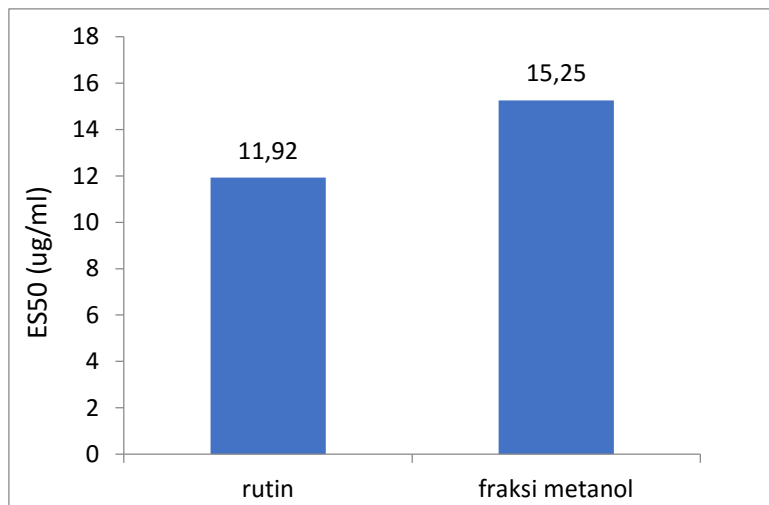
Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa fraksi methanol ekstrak etanol daun gambir memiliki potensi yang lebih rendah dibandingkan

rutin (gambar 2) Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah dan sangat lemah (Blois, 1985 dalam

Molyneux, 2004). Antioksidan dikatakan sangat kuat jika nilai ES_{50} nya kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat memiliki nilai ES_{50} antara 50 ppm dan 100 ppm, antioksidan sedang memiliki nilai ES_{50} antara 100 ppm dan 150 ppm, dan antioksidan lemah. Kisarannya adalah 150 ppm hingga 200 ppm, dan nilai IC_{50} di atas 200 ppm merupakan antioksidan yang sangat lemah. Oleh karena itu, dapat disimpulkan dari data di atas bahwa fraksi metanol dan rutin merupakan antioksidan yang sangat kuat dengan nilai ES_{50} rata-rata masing-masing sebesar $15,25 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$ dan $11,92 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$. Potensi antioksidan fraksi metanol lebih besar daripada ekstrak metanol dengan ES_{50} sebesar $73,52 \pm 2,03 \mu\text{g/mL}$ (Putri, 2020). Hal ini sejalan juga dengan kandungan flavonoid total pada fraksi metanol

yang lebih besar dibanding ekstrak etanol yakni sebesar $8,5354 \pm 0,1574 \% \text{ b/b EK}$. Hanya saja ada perbedaan dalam hal pembandingan yang digunakan.

Aktivitas antioksidan fraksi metanol daun gambir dan rutin dikategorikan sebagai antioksidan kuat sedangkan standar rutin dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan rutin jauh lebih besar dari pada fraksi metanol ekstra daun gambir dikarenakan rutin merupakan senyawa murni sedangkan fraksi metanol merupakan campuran dari beberapa senyawa (Pratiwi, 2013). Antioksidan fraksi metanol lebih kuat dari pada ekstrak etanol (ES_{50} sebesar $73,53 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi etil asetat ES_{50} sebesar $80,44 \mu\text{g/ml}$) (Putri, 2020).



Gambar 2. Histogram nilai ES_{50} Rutin dan fraksi methanol (n=5)

KESIMPULAN

Fraksi metanol ekstrak etanol daun gambir mengandung senyawa flavonoid. Kadar flavonoid total sebesar $11,52 \pm 0,24\% \text{ b/b}$ ekuivalen rutin. Fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai ES_{50} sebesar $15,72 \pm 0,25\% \mu\text{g/ml}$ dan standar rutin adalah $11,92 \pm 0,47\% \mu\text{g/ml}$. Potensi antioksidan Fraksi metanol dan rutin tergolong sangat kuat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Biologi FAST UAD atas bantuan determinasi

DAFTAR PUSTAKA

Anggraini, T., Tai, A., Yoshino T., and Itani, T.. 2011, Antioxidative activity and catechin content of four kinds of Uncaria gambir extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of*

- Biochemistry Research* Vol. 5 (1), pp. 33-38.
- Anonim, 2017, Farmakope Herbal Indonesia edisi II, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Anonim, 2019, classification for kingdom plantae down to species *Uncaria gambir* Roxb, [USDA https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=UNCAR](https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=UNCAR), diakses 05 Januari 2019
- Djauhariyah dan Hernani. 2014. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Clarkson, P.M., and Thompson, H.S. 2000. Antioxidant : What Role DO They Play in Pysical Activity and Healt. *Am J Clin Nutr.* 72 : 637-646.
- Droge,W. 2002 .Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 82: 47-95
- Eva, Marliana., 2007, Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang (*Spatholobus ferrugineus*) (Zoll & Moritzi) Benth yang berfungsi sebagai antioksidan, FMIPA Universitas Mulawarman, *Jurnal Penelitian MIPA*, 1(1).
- Farisyah, N., Trilestari, Subagus, W., dan Abdul, R., 2014, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Totalnya, *Media Farmasi*, 11(2).
- Halliwell B and Gutteridge JMC., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd edn. Oxford : Clarendo Press.
- Li, P., Huo, L., W., Lu, R., Deng, C., Liu, L., Deng, Y., Guo, N., Lu, C., and He, C., 2011, Free Radical Scavenging Capacity, Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Pouzolzia zeylanica*, *College of Pharmacy, J. Serb. Chem. Soc.*, 76(5): 709-717.
- Lucida, H.,A. Bakhtiar dan Wina A.P. 2007. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi* 12 (1).
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB Press, Bandung.
- Mardiswojo, S dan H. Rajakman gunsurdarso. 1968. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang Cetakanke 2*. Jakarta : Depkes RI.
- Molyneux, P, 2004, The use of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26(2): 211-219
- Nurviana, Vera., 2015, Isolasi, identifikasi, dan analisis struktur senyawa antioksidan pada akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), *Tesis*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Pokorny, J., Nedyalka, Y., and Michael G., 2001, *Antioxidant in food: Partical Application*. CRC Press, New York, 5-33.
- Putri, M.R, 2020, Penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir*, Roxb), *Skripsi*, Fakultas farmasi Universitas ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Rauf, Rusdin., *et al.* 2010. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah. *Agritech*, Vol 30, N0. 1.
- Salamah, Nina., dan Widayarsi, Erlinda., 2015, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dain Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, *Jurnal Pharmacia*, 5(1): 25-34.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G., 2013, Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anreindra cordifolia* (Ten.) Steenis.), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1).
- Sembiring E.N., Elya, B., and Sauriasari, R., 2018, Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb, *Pharmacogn J.*; 10(1): 123-127
- Setyowati, H., 2017, Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) as Natural Cosmeceutical Agent, *Cermin Dunia Kedokteran*, Vol 44 No 3., p 222-224
- Sultan, Sameena, 2014, Reviewing the Protective Role of Antioxidants in Oxidative Stress Caused by Free Radical, *Asian Pacific Journal Of Health Sciences*, 1(4): 401-406.
- Utami, P., Novi. W., Nina W., Dewi. D., Agung. S., Tinton D. P., Hadi. I., Lukito. A.M., Ug't dan Iwan'S. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.