

Analisis Fitokimia Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa*) Sebagai Produk Teh Celup Asal Keerom, Papua

SUPENI SUFAATI¹, SUHARNO¹, SEPTRIYANTO DIRGANTARA^{2*}, ROSYE H.R. TANJUNG¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih, Jayapura

²Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: 25 Agustus 2023 – Disetujui: 19 Februari 2024

© 2024 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

This study explores the phytochemical composition and antioxidant potential of Agarwood (*Aquilaria microcarpa*) leaves from Keerom, utilized in tea bags. Phytochemical analysis of ethanol extracts revealed flavonoids, alkaloids, steroids/triterpenoids, tannin gallate, and saponins. Total phenol content measured at 1.31 g GAE/100 grams, with total flavonoids at 210 mg QE/100 grams. The extract demonstrated robust antioxidant activity with an AAI value of 1.23, surpassing ascorbic acid (AAI value of 13.37). Mangiferin and quercetin were identified among the compounds in the leaves, highlighting their potential health benefits.

Key words: agarwood leaves; antioxidants; Papua; phytochemicals; tea bags

PENDAHULUAN

Ketersediaan bahan pangan dan obat-obatan menjadi masalah utama dan prioritas seluruh negara di dunia (Ali *et al.*, 2022). Seiring dengan tingginya harga obat kimia, sumber obat-obatan tradisional saat ini menjadi alternatif bagi masyarakat di dunia (James *et al.*, 2018). Tanaman obat biasanya dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, sebagai komplementer, dan alternatif perawatan dengan mengacu pada serangkaian praktik perawatan kesehatan yang diberikan di luar sistem perawatan kesehatan utama (James *et al.*, 2018; Yabalak *et al.*, 2020). Bahan kimia alami yang berasal dari tanaman berperan penting dalam pencegahan penyakit dan bermanfaat bagi kesehatan (Yabalak *et al.*, 2020). Di antaranya, yang utama termasuk makanan fungsional dan

senyawa nutraceutical (Narayananakutty, 2021).

Tanaman gaharu (*Aquilaria microcarpa*) merupakan salah satu tanaman khas dan endemik di hutan tropis, termasuk di Indonesia. Gaharu merupakan salah satu kelompok tanaman hasil hutan bukan kayu (HHBK) yang dihasilkan sebagai produk metabolit sekunder dari pertahanan tanaman sebagai bentuk respon terhadap gangguan fisik atau infeksi mikroorganisme (Yulizah *et al.*, 2022; Lukman *et al.*, 2022). Lebih lanjut, gaharu juga telah digunakan dalam berbagai acara keagamaan dan pengobatan penyakit, di antaranya adalah sebagai obat penenang, karminatif, pereda masalah lambung, batuk, rematik, dan demam tinggi (Liu *et al.* 2017; Lukman *et al.*, 2022), antibakteri dan penghambat asetilkolinesterase (Lukman *et al.*, 2022). Pada tahun 2007, Tanjung *et al.* (2008) melakukan penelitian terkait dengan tanaman gaharu. Pada kesempatan tersebut, peran fungi endofit yang membentuk gubal gaharu mulai dilakukan di Papua. Beberapa jenis fungi dapat diisolasi keragamannya. Penelitian lain dilakukan terhadap potensi dari tanaman gaharu, misalnya dari organ

*Alamat korespondensi:

Program Studi Farmasi, Jurusan Farmasi, FMIPA
Universitas Cenderawasih, Jayapura. Jl. Kamp Wolker,
Uncen Waena, Jayapura, Papua. 99331
E-mail: septridirga@gmail.com

daunnya yang dapat dimanfaatkan sebagai suplemen obat tradisional. Potensi senyawa metabolit sekunder daun *Aquilaria* sp asal Kalimantan Barat dikaji oleh beberapa peneliti (Harfinda *et al.*, 2017).

Tanaman gaharu jenis *A. malaccensis* mengandung senyawa golongan alkaloid, antrakuinon, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tannin (Harfinda *et al.*, 2017). Gunasekara *et al.* (1981) melaporkan bahwa ekstrak kloroform kulit batang *A. malaccensis* memiliki aktivitas antikanker terhadap sel *lymphocytic* dengan hasil ED₅₀ sebesar 0,35 µg/mL. Bahkan, Ibrahim *et al.* (2011) menyampaikan bahwa ekstrak *A. malaccensis* memiliki aktivitas antikanker usus besar manusia HCT-116 dengan nilai IC₅₀ sebesar 4 µg/mL. Menurut Wang *et al.* (2018), senyawa aquilanol B, dapnauranol D, camaejasmon E dan aquilacallane A serta 8 senyawa turunan kromon telah berhasil diisolasi dari tanaman *A. malaccensis*.

Kandungan fitokimia pada tanaman sangat beragam dan berbeda untuk setiap jenis tanaman. Demikian pula dengan kuantitas kandungan metabolit untuk habitat, iklim dan daerah sumber sampel akan memengaruhi jenis dan jumlah kadar metabolitnya (Supriatna *et al.*, 2019). Jenis *Aquilaria microcarpa*, merupakan salah satu jenis tanaman gaharu yang belum banyak dikaji. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian pada tanaman *Aquilaria microcarpa* asal Kabupaten Keerom sebagai dasar kajian ilmiah dalam pembuatan produk teh celup. Sejalan dengan pemanfaatan dan peningkatan kualitas produk obat tradisional, penelitian ini bertujuan mengkaji aspek fitokimia meliputi penapisan golongan senyawa, penentuan senyawa marker (identitas), penetapan kadar flavonoid dan fenol total.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga September 2023 di Laboratorium Biologi Dasar Jurusan Biologi, Laboratorium Dasar Farmasi di Jurusan Farmasi FMIPA Universitas

Cenderawasih (Uncen), dan Laboratorium Fitokimia Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung.

Bahan dan Alat Yang Digunakan

Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah: sampel daun gaharu (*A. microcarpa*), etanol 96% (teknis), metanol p.a (E. Merck), Vitamin C (E. Merck), DPPH (Sigma-Aldrich), asam galat (E. Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), mangiferin (Sigma-Aldrich), naringenin (Sigma-Aldrich) dan peralatan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (E.Merck), serta Silika GF254 dan pereaksi fitokimianya. Peralatan yang digunakan antara lain adalah: maserator, *rotary vaccum evaporator*, tabung reaksi, pipet, spektrofotometer Ultraviolet-Visible (HP 845) dan kuvet serta instrument KLT-Densitometri (Camaq).

Pengumpulan Bahan

Tanaman daun gaharu (*A. microcarpa*) diperoleh dari Kabupaten Keerom pada bulan Februari-Maret Tahun 2023. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi Fakultas MIPA Uncen, Jayapura.

Pembuatan Simplisia

Bagian tanaman gaharu yang digunakan adalah bagian organ daun, dibersihkan, kemudian dicuci, pencucian terakhir dilakukan pada air mengalir dan ditiriskan. Pengeringan dilakukan menggunakan lemari pengering pada suhu 50 °C selama 3 hari. Bahan yang sudah kering digiling sehingga diperoleh serbuk simplisia. Simplisia disimpan dalam kotak yang tertutup rapat. Wadah simplisia diletakkan di tempat yang terhindar dari cahaya langsung. Selanjutnya terhadap simplisia dilakukan karakterisasi, penapisan fitokimia dan ekstraksi.

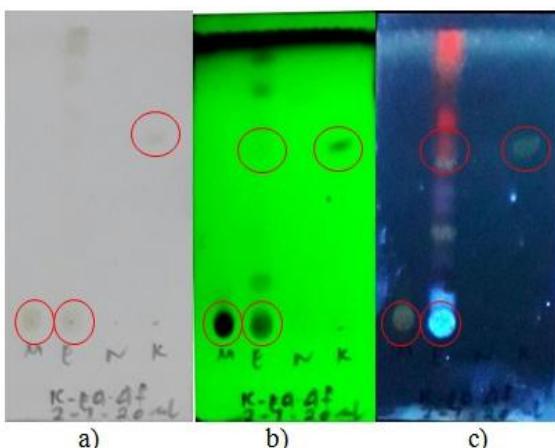
Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar air, abu total, sari larut air, sari larut etanol, dan susut pengeringan.

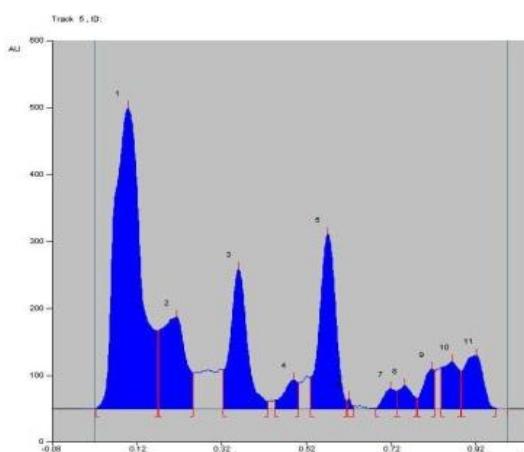
Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan untuk menarik senyawa dari tanaman daun gaharu (*A. microcarpa*) dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram simplisia daun gaharu dimasukkan ke dalam bejana maserasi selanjutnya ditambahkan pelarut 1,5 liter etanol 96% (rasio 1 : 3). Campuran

tersebut kemudian diaduk selama 5 menit kemudian ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam. Ekstrak cair yang dibiarkan selama 24 jam selanjutnya difiltrasi hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental daun gaharu dan ditimbang.



Gambar 1. Kromatogram lapis tipis ekstrak tanaman daun gaharu, fase diam silika gel GF254, fase gerak kloroform-etil asetat-asam format (2:1:20 μ L). (a) sinar tampak (b), di bawah sinar UV λ 254 nm, (c) di bawah sinar UV λ 366 nm; standar pembanding (M): mangiferin, (N): Naringenin dan (K): Kuersetin.



Gambar 2. Analisis densitogram ekstrak secara KLT - densitometri fase gerak: kloroform-etil asetat-asam format (2:1:20 μ L) di bawah sinar UV λ 366 nm.

Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak daun gaharu (*A. microcarpa*) dengan metode Harborne (1989) dan Farnsworth (1966).

Pemantauan dan Profil Fitokimia Ekstrak secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemantauan ekstrak dilakukan secara KLT, dengan fase diam silika gel GF254. Ekstrak dibuat dalam konsentrasi 10% b/v dengan jumlah penotolan masing-masing ekstrak 2 μ L dengan fase gerak kloroform-etil asetat - asam format (2 : 1 : 20 μ L).

Analisis ekstrak etanol daun gaharu (*A. microcarpa*) dengan metode KLT-densitometri dapat menjadi acuan “fingerprint” identifikasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak menggunakan KLT silika gel GF254 dengan fase gerak kloroform-etil asetat-asam format (2:1:20 μ L) (Gambar 1).

Penetapan Kadar Fenol dan Flavonoid Total

Ekstrak pekat etanol daun gaharu ditimbang seksama 10 mg kemudian ditambah 50 ml metanol p.a. Kemudian diaduk selama 24 jam menggunakan alat pengaduk pada kecepatan 200 rpm, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh ditambah metanol p.a. sampai 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 μ g/mL untuk pengujian penetapan kadar fenol dan flavonoid total.

Penepatan kadar fenol total. Asam galat ditimbang sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai 100 ml (larutan induk 500 μ g/ml). Kemudian dibuat serangkaian larutan standar 25 μ g/ml, 50 μ g/ml, 75 μ g/ml, 100 μ g/ml, 125

Tabel 1. Karakterisasi simplisia daun gaharu (*A. microcarpa*).

No.	Parameter uji	Hasil (% b/b)
1.	Kadar air**	5,27 ± 0,22
2.	Kadar sari larut etanol	15,54± 0,53
3.	Kadar sari larut air	17,05± 0,79
4.	Susut pengeringan	2,13 ± 0,11
5.	Kadar abu total	7,04 ± 0,68

Ket.: Data ditampilkan dalam kadar rata-rata ± SD (n=3), **%v/b.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak (*A. microcarpa*) (Harborne, 1989; Farnsworth, 1966).

No.	Kelompok senyawa	Simplisia	Ekstrak
1.	Alkaloid	+	+
2.	Flavonoid	+	+
3.	Steroid/triterpenoid	+	+
4.	Tanin galat	+	+
5.	Tanin katekat	-	-
6.	Kuinon	-	-
7.	Saponin	+	+

Ket.: (+) = terdeteksi; (-) = tidak terdeteksi

µg/ml dan 150 µg/ml. Dipipet masing-masing sejumlah 0,5 ml dari larutan standar ditambah dengan 5 ml reagen Folin-Ciolcalteu (1:10 dalam aquadest) dan ditambahkan 4 ml Natrium Karbonat 1 M. Setelah itu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 25°C. Serapannya diukur pada λ 765 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kurva kalibrasi Asam Galat dibuat berdasarkan variabel konsentrasi (X) dan variabel absorbansi (Y).

Penerapan kadar flavonoid total. Pengujian dilakukan dengan kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai 100 ml (larutan induk 100 µg/ml). Kemudian dibuat serangkaian larutan standar 10, 25, 50, 75 dan 100 µg/ml. Dipipet masing-masing sejumlah 0,5 ml dari larutan standar ditambah dengan 1,5 ml metanol p.a., 0,1 ml aluminium klorida (AlCl₃)

10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M dan ditambahkan aquades 2,8 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Serapannya diukur pada λ 415 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Kurva kalibrasi Kuersetin dibuat berdasarkan variabel konsentrasi (X) dan variabel absorbansi (Y). Perlakuan standar uji kuersetin dibuat sebanyak 3 pengulangan (triplo).

Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) (Molyneux, 2004).

Pembuatan Larutan Baku Induk DPPH (Ali et al., 2022). Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai 100 ml (larutan induk 50 µg/ml). Serapannya diukur pada λ= 517 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak. Ekstrak pekat etanol daun gaharu ditimbang seksama 10 mg kemudian ditambah 50 ml metanol p.a. Kemudian diaduk selama 24 jam menggunakan alat pengaduk pada kecepatan 200 rpm, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh ditambah metanol p.a. sampai 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 µg/ml. Pembuatan seri larutan uji dimulai dari konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 µg/ml. Perlakuan larutan uji dibuat sebanyak 3 pengulangan (triplo). Larutan blanko adalah pelarut metanol p.a. Serapan diukur pada λ 517 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Setiap pengukuran serapan dibandingkan terhadap blanko. Sejumlah 1,0 ml larutan ekstrak ditambah dengan 1,0 ml substrat DPPH (1:1). Waktu inkubasi selama 15 menit dalam ruang gelap. Serapannya diukur pada λ= 517 nm. Pengujian dilakukan secara triplo. Penetapan aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan hasil perhitungan dari persamaan regresi kurva persen penghambatan inhibisi dan dihitung sebagai IC₅₀ dan nilai AAI.

Nilai Inhibitory Concentration 50 (IC₅₀) adalah konsentrasi antioksidan (µg/ml) yang mampu meredam 50% aktivitas radikal bebas (Molyneux, 2004). Rumus perhitungan persen peredaman aktivitas radikal bebas sebagai berikut.

Peredaman aktivitas radikal bebas (%)

$$= (Ab - As) / Ab \times 100\%$$

Di mana:

Ab = serapan blanko DPPH dalam metanol

As = serapan DPPH setelah bereaksi dengan sampel

Parameter aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan nilai Indeks Aktivitas Antioksidan/Antioxidant Activity Index (AAI) dengan membandingkan antara ekstrak dan kontrol pembanding (Scherer & Godoy, 2009) dengan rumus:

$$\text{AAI} = \frac{\text{Kons. final DPPH } (\mu\text{g/mL})}{\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL})}$$

Berdasarkan Indeks Aktivitas Antioksidan (AAI), dapat dikelompokkan nilai aktivitas antioksidan, yakni: aktivitas antioksidan lemah (< 0,5), sedang (0,5-1,0), kuat (>1,0-2,0) dan sangat kuat (>2,0).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan Bahan dan Karakterisasi Simplisia

Tanaman gaharu (*A. microcarpa*) yang diperoleh dari Kabupaten Keerom dilakukan proses standardisasi untuk menetapkan beberapa parameter spesifik dan non spesifik sebagai acuan dalam penetapan kualitas bahan baku yang dimanfaatkan untuk obat tradisional (Utami *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil karakterisasi simplisia terhadap daun gaharu (Tabel 1), simplisia daun gaharu telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia dengan parameter kadar air 5,27% v/b (syarat FHI < 10,0 % v/b). Kadar air menunjukkan batas jumlah air yang dipersyaratkan dalam simplisia tanaman untuk obat, karena air merupakan faktor utama dalam stabilitas simplisa di mana air adalah media untuk pertumbuhan mikroba dan jamur. Penetapan kadar abu total dilakukan untuk menentukan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang terdapat dalam simplisia, yang

dihitung sebagai kadar oksida logam. Kadar abu total daun gaharu juga telah memenuhi standar FHI dengan nilai sebesar 7,04 % b/b (syarat FHI < 10,0 b/b). Penetapan kadar sari larut etanol dan air adalah parameter standardisasi dalam penentuan pelarut terbaik dalam proses penyarian, berdasarkan data karakterisasi simplisia kadar sari larut air daun gaharu sebesar 17,05% b/b lebih besar daripada kadar sari larut etanol sebesar 15,54% b/b. Susut pengeringan simplisia daun gaharu dengan nilai 2,13 % b/b menunjukkan senyawa yang hilang selama pemanasan dan atau pengeringan seperti hidrat air dan senyawa menguap (minyak atsiri) (Kemenkes, 2017).

Pembuatan dan Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan untuk menarik senyawa dari tanaman daun gaharu (*A. microcarpa*) dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi untuk menyari metabolit sekunder dalam temperatur suhu ruang berdasarkan kesetimbangan difusi pelarut. Keunggulan metode maserasi adalah metode yang praktis, sederhana dan cocok untuk senyawa metabolit yang belum diketahui karakteristik senyawanya terhadap faktor panas (termostabil/termolabil). Ekstrak yang diperoleh dari metode maserasi simplisia daun gaharu sebanyak 82,65 gram sehingga rendemen ekstrak daun gaharu sebesar 16,65% b/b. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak daun gaharu (*A. microcarpa*). Ekstrak yang diperoleh dengan pelarut yang berbeda akan menarik senyawa yang berbeda, bergantung kepada kepolaran pelarut dan senyawa. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etanol 96% dengan karakteristik salah satu dari pelarut golongan alkohol ini mampu menarik semua senyawa golongan polar, semipolar dan non polar berdasarkan kemampuan pelarut etanol ini melakukan difusi dalam menurunkan tegangan permukaan dinding sel simplisia dalam proses ekstraksinya (Harborne, 1989).

Hasil penapisan fitokimia tanaman daun gaharu (*A. microcarpa*) menunjukkan pada simplisia dan ekstrak terdeteksi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin galat, dan saponin namun tidak terdeteksi golongan tanin katekat dan kuinon (Tabel 2). Perbedaan kandungan golongan metabolit sekunder ini dipengaruhi oleh perbedaan spesies, umur, distribusi senyawa pada tiap bagian tanaman dan jenis seklektivitas pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Metabolit sekunder yang berasal dari tanaman khususnya golongan fenol, seperti flavonoid, fenol dan asam fenolat memiliki potensi sebagai sumber antioksidan (Petkova *et al.*, 2017; Ryu *et al.*, 2012).

Pemantauan Fitokimia Ekstrak secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

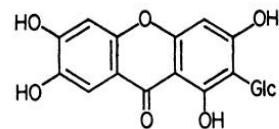
Pemantauan ekstrak dilakukan secara KLT, dengan fase diam silika gel GF254. Ekstrak dibuat dalam konsentrasi 10% b/v dengan jumlah penololan masing-masing ekstrak 2 μ L dengan fase gerak Kloroform-Etil asetat-Asam format (2:1:20 μ L).

Profil Fitokimia Ekstrak secara KLT-Densitometri

Analisis ekstrak etanol daun gaharu (*A. microcarpa*) dengan metode KLT-densitometri dapat menjadi acuan “fingerprint” identifikasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak

menggunakan KLT silika gel GF254 dengan fase gerak kloroform-ethyl asetat-asam format (2 : 1 : 20 μ L) (Gambar 1).

Berdasarkan pola pemisahan dan analisis dengan metode KLT-densitometri, ekstrak etanol daun gaharu sekurang-kurangnya mengandung 11 (sebelas) senyawa, yang berbeda nilai R_f dan kadarnya. Berdasarkan analisis KLT-Densitometri senyawa paling dominan terdapat pada puncak ke 1 dengan kadar sebesar 19,08% dan berdasarkan analisis nilai R_f serta warna fluorosensi memberi gambaran ekstrak daun gaharu secara kualitatif terdapat senyawa yang mirip dengan standar pembanding yaitu mangiferin (R_f 0,19) dan kuersetin (R_f 0,68) (Tabel 3). Berdasarkan KLT-Densitometri dibandingkan terhadap standar pembanding yang digunakan ekstrak etanol memiliki kandungan senyawa mangiferin dan kuersetin. Kajian penelitian lain mengenai aspek fitokimia tanaman genus Aquilaria yaitu *A. crassna* dari Thailand diketahui mengandung senyawa golongan glikosida xanton yaitu mangiferin dengan kadar 1,2992 % b/b (Thitikornpong *et al.*, 2018).



Xanthone: Mangiferin

Gambar 3. Struktur senyawa mangiferin.

Tabel 3. Analisis ekstrak etanol daun gaharu secara KLT-densitometri.

Peak	Nilai R _f	Karakteristik di bawah sinar UV λ 366 nm	Area	% Area	Senyawa Pembanding
1.	0,10	Biru terang	17165,4	19,08	-
2.	0,19	Cokelat gelap	10505,7	10,83	Mangiferin
3.	0,36	Cokelat muda	18546,8	10,23	-
4.	0,49	Cokelat terang	506,8	0,77	-
5.	0,58	Cokelat	26715,3	14,35	-
6.	0,62	Merah muda	3703,4	6,97	-
7.	0,68	Cokelat	7374,2	9,52	Kuersetin
8.	0,73	Merah terang	11380,8	11,65	-
9.	0,79	Merah terang	1344,4	5,15	-
10.	0,84	Merah	2965,9	6,26	-
11.	0,92	Merah terang	2652,6	5,19	-

Penetapan Kadar Fenol dan Flavonoid Total

Kadar fenol total dihitung sebagai asam galat melalui persamaan kurva kalibrasi asam galat pembanding $y = 0,0066x - 0,0309$, $R^2 = 0,9891$. Ekstrak etanol daun gaharu memiliki kadar fenol total dengan nilai 1,31 g GAE/100 gram. Kadar flavonoid total ekstrak dihitung sebagai kuersetin, menggunakan persamaan kurva kalibrasi kuersetin $y = 0,0108x - 0,0295$, $R^2 = 0,9909$. Ekstrak etanol daun gaharu memiliki kadar flavonoid total dengan nilai 0,21 g QE/100 gram.

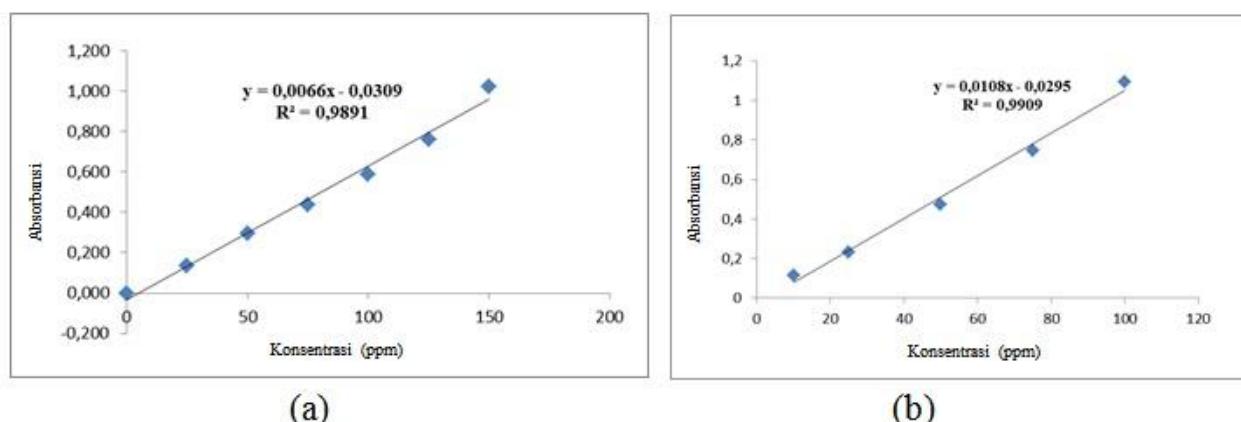
Berdasarkan penetapan kadar spesifik fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol daun gaharu (*A. microcarpa*) (Gambar 4) dapat diketahui secara kuantitatif kadar golongan senyawa fenol total lebih besar daripada flavonoid total. Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit

sekunder yang termasuk golongan fenol. Sehingga dapat disimpulkan senyawa flavonoid dan golongan fenolik lain seperti golongan fenol sederhana, asam fenolat dan golongan yang memiliki struktur mirip fenol merupakan senyawa dominan pada ekstrak etanol daun gaharu.

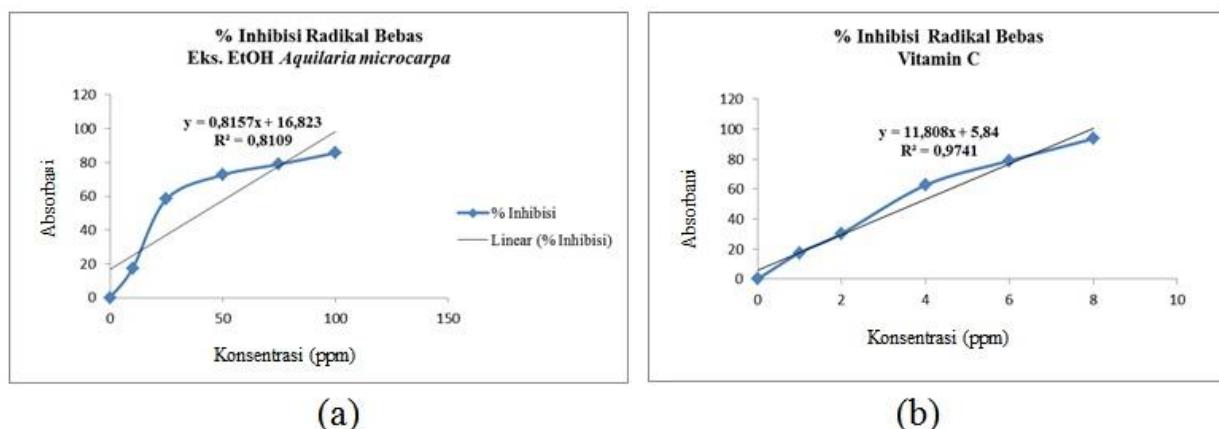
Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. DPPH larut dalam metanol atau etanol dan memiliki panjang gelombang maksimum pada 515-520 nm (Molyneux, 2004). Aktivitas kekuatan antioksidan dinyatakan dalam *Antioxidant Activity Index (AAI)*.

Berdasarkan persamaan regresi antara konsentrasi dan absorbansi peredaman radikal



Gambar 4. Kurva kalibrasi penetapan kadar (a) fenol total dan (b) flavonoid total.



Gambar 5. Kurva kalibrasi aktivitas antioksidan metode DPPH (a) ekstrak etanol daun gaharu (b) standar vitamin C.

bebas DPPH, maka dapat dihitung konsentrasi minimal penghambatan DPPH sebesar 50% radikal bebas (IC_{50}) yaitu nilai IC_{50} ekstrak etanol daun gaharu 40,67 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibandingkan dengan standar pembanding Vitamin C (asam askorbat) yang memiliki nilai IC_{50} 3,74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Gambar 5). Nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI) diperoleh dari konsentrasi akhir DPPH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)/ IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (Scherer & Godoy, 2009). Konsentrasi akhir DPPH yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, maka, nilai AAI untuk ekstrak etanol daun gaharu diperoleh nilai 1,23 sedangkan nilai AAI untuk vitamin C (asam askorbat) adalah 13,37. Ekstrak etanol *Aquilaria microcarpa* memiliki nilai AAI sebesar 1,23 dan masuk kategori antioksidan kuat bila dibandingkan dengan nilai standar AAI Vitamin C sebesar 13,37 yang termasuk kategori sangat kuat (Scherer & Godoy, 2009). Secara umum senyawa golongan fenol memiliki aktivitas antioksidan melalui kemampuan untuk mendonorkan elektron dan atau sebagai pengkhelat logam (Heim *et al.*, 2002).

Golongan flavonoid dan fenol dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan di mana aktivitas antioksidan golongan flavonoid dipengaruhi oleh faktor hidroksilasi dan jenis substitusi lain yang terdapat pada inti struktur flavonoid tersebut (Heim *et al.*, 2002). Flavonoid memiliki potensi aktivitas antioksidan tertinggi dengan mekanisme transfer hidrogen pada struktur inti flavonoid yang memiliki gugus orto di-OH pada C3' dan C4', ikatan rangkap pada C2-C3, -OH pada posisi C3 dan okso pada C4. Orto di-OH pada posisi C3' dan C4' merupakan faktor utama dalam mekanisme aktivitas antioksidan. Flavonoid dengan substitusi OH pada cincin A dan cincin B pada struktur flavonoid termasuk ke dalam golongan fenol (Fidrianny *et al.*, 2015). Berdasarkan kajian Kristanti (2018), genus *Aquilaria* memiliki beberapa senyawa golongan fenol dan turunannya seperti flavonoid yaitu luteolin, genkwanin dan beberapa glikosida flavonoid; golongan senyawa xanton yaitu mangiferin dan aquilarixanton; golongan benzofenon dan golongan kromon yang di dalam struktur senyawa tersebut memiliki minimal struktur inti fenol dan adanya subsituen orto di-

OH (ortho dihidroksi bebas) yang memiliki aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu (*A. microcarpa*) dari Kabupaten Keerom mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid/triterpenoid, tanin galat dan saponin. Ekstrak etanol daun gaharu (*A. microcarpa*) mengandung senyawa marker (identitas) mangiferin dan kuersetin. Ekstrak etanol daun gaharu memiliki kandungan golongan senyawa kadar fenol total sebesar 1,31 g GAE/100 gram dan flavonoid total sebesar 210 mg QE/100 gram. Aktivitas antioksidan termasuk kategori kuat dengan nilai AAI 1,23 dibandingkan dengan standar pembanding vitamin C sebesar 13,37.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Cenderawasih yang telah membiayai penelitian ini melalui hibah pendanaan Penelitian PNBP Tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, S.K., S.M. Mahmoud, S.S. El-Masry, D.H.M. Alkhalfah, W.N., Hozzein, and A.M. Aboel-Ainin. 2022. Phytochemical screening and characterization of the antioxidant, anti-proliferative and antibacterial effects of different extracts of *Opuntia ficus-indica* peel. *Journal of King Saud University-Science*. 34(7): 102216.
- Farnsworth, N.R. 1966. Biological and phytochemical screening of plant. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55: 874-875.
- Fidrianny, I., H. Nurfitri, and Sukrasno. 2015. In vitro antioxidant activities, phenolic, flavonoid and carotenoid content from different polarity extracts of five *Citrus* peels using DPPH and cuprac method. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7: 1525-1531.
- Gunasekara, S., A. Kinghorn, G. Cordell, and S. Farnsworth. 1981. Plant anti cancer agent xix. Constituent of

- Aquilaria malaccensis*. *Journal of Natural Product*. 44(5): 569-572.
- Harborne, J.B. 1989. *Methods in Plant Biochemistry*. In: Dey, P.M. and Harborne, J.B., Eds., *Plant Phenolics*, Academic Press, London.
- Harfinda, E.M., S. Normagiat, dan G. Hardiansyah. 2017. Potensi senyawa metabolit sekunder daun *Aquilaria* sp. asal Kalimantan Barat untuk pembuatan teh herbal. Seminar Nasional Ilmu Pengetahuan dan Penerapan Teknologi 2017. Pontianak, 23-24 Mei 2017. pp: 29-35.
- Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, and D.J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.
- Ibrahim, A. H., S. Al-Rawi, A.M.S. Majid, N.N.A. Rahman, K.M.A. Salah, and M.O.A. Kadir. 2011. Separation and fractionation of *Aquilaria malaccensis* oil using supercritical fluid extraction and the cytotoxic properties of the extracted oil. *Procedia Food Science*. 1(11): 1953-1959.
- James P.B., J. Wardle, A. Steel, and J. Adams. 2018. Traditional, complementary and alternative medicine use in Sub Saharan Africa: a systematic review. *BMJ Global Health*. 3: e000895.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi II. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Kristanti, A.N., M. Tanjung, dan N.S. Aminah. 2018. Review: Secondary metabolites of *Aquilaria*, a Thymelaeaceae Genus. *Mini-reviews in Organic Chemistry*. 15: 36-55.
- Liu, Y., H. Chen, Y. Yang, J. Wei, H. Meng, W. Chen, J. Feng, B. Gan, X. Chen, Z. Gao, J. Huang, and B. Chen. 2017. Whole-tree agarwood inducing technique: An efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees. *Molecules*. 18: 3086.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Narayananakutty, A., K. Kunmath, A. Alfarhan, R. Rajagopal and V. Ramesh. 2021. Chemical composition of *Cinnamomum verum* leaf and flower essential oils and analysis of their antibacterial, insecticidal, and larvicidal properties. *Molecules*. 26(20): 6303.
- Petkova, N., L. Ivanova, G. Filova, I. Ivanov, and P. Denev. 2017. Antioxidants and carbohydrate content in infusions and microwave extracts from eight medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7(10): 55-61.
- Ryu, H.W., J.H. Lee, J.E. Kang, Y.M. Jin, and K.H. Park. 2012. Inhibition of xanthine oxidase by phenolic phytochemicals from *Broussonetia papyrifera*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 55: 587-594.
- Scherer, R., and H.T. Godoy. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*. 112: 654-658.
- Supriatna, D., Y. Mulyani, I. Rostini, dan M.U.K. Agung. 2019. Aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan fenol ekstrak metanol kulit batang mangrove berdasarkan stadia pertumbuhannya. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10(2): 35-42.
- Tanjung, R.H.R., Suharno, dan M. Warpur. 2008. Isolation of fungi from *Aquilaria* sp (gaharu) infected tissue grow in Papua. *Paper Presented on the 9th New Guinea Biology Conference*. Jayapura, 24-26 Juli 2008.
- Thitikornpong, W., B. Ongpipattanakul, C. Palanuvej, and Ruangrungsi. 2018. Pharmacognostic spesification and mangiferin content of *Aquilaria crassna* leaves. *Pharmacognosy Journal*. 10(2): 293-298.
- Utami, Y.P., S. Sisang, dan A. Burhan. 2020. Pengukuran parameter simplisia dan ekstrak etanol daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 24(1): 5-10.
- Wang, S., Z. Yu, C. Wang, C. Wu, P. Guo, and J. Wei. 2018. Chemical constituents and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants. *Molecules*. 23(2): 342. DOI: 10.3390/molecules23020342.
- Yabalak E., F. Ibrahim, E.A.E. Eliuz, A. Everest, and A.M. Gizir. 2022. Evaluation of chemical composition, trace element content, antioxidant and antimicrobial activities of *Verbascum pseudoholotrichum*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 156(2): 313-332.
- Yulizah, R., J.S. Rahajoe, A.D. Fefirenta, dan A.D. Nugroho. 2022. The population and distribution of agarwood producing tree (*Aquilaria malaccensis*) in Riau Province. *Reinwardtia*. 21(1): 1-11.