

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KANDUNGAN FITOKIMIA JUS BUAH GANDARIA (*Bouea macrophylla* Griffith)

Landy A. Ch Lolaen, Fatimawali, Gayatri Citraningtyas.

Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

The accomplishment of this research was to knowing the fito-chemical composition of Gandaria fruit's juice and its potential as anti-oxidant. The Gandaria fruit's juice were made using the blender device then filtered by filtration paper for extraction of the juice. Determination of fito-chemical is done with color reaction test for identification of alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid and terpenoid. The anti-oxidant test were using free-radical scavengers DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) and recorded with Spectrophotometer at 515nm wave length. Result of the research indicates that in Gandaria fruit's juice has been detected with saponin and fenolik fito-chemicals. The Gandaria fruit's juice has the anti-oxidant activity in IC₅₀ of 36,4 mg/ml. The verdict and conclusion for the research is, Gandaria fruit's juice has the composition of fito-chemical (saponin and fenolik) which is very potential as anti-oxidant.

Keywords : Gandaria fruit's juice, anti-oxidant, DPPH, fito-chemical composition.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia Jus Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) dan potensinya sebagai antioksidan. Pembuatan jus buah gandaria dengan cara diblender kemudian disaring dengan kertas saring dan diambil sarinya. Penentuan kandungan fitokimia dilakukan dengan pengujian reaksi warna untuk identifikasi alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Pengujian antioksidan menggunakan penangkal radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jus buah gandaria terdeteksi senyawa saponin dan fenolik. Jus buah gandaria memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ 36,4 mg/ml. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian yaitu, jus buah gandaria memiliki kandungan fitokimia (saponin dan fenolik) yang sangat berpotensi sebagai antioksidan.

Kata kunci : jus buah gandaria, antioksidan, DPPH, kandungan fitokimia.

PENDAHULUAN

Sejak dulu pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat telah banyak digunakan. Namun hingga sekarang belum semua tumbuhan telah diketahui memiliki potensi sebagai tanaman obat. Salah satu tanaman yang sampai saat ini belum diketahui manfaatnya sebagai tanaman obat ialah tanaman Gandaria. Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) adalah satu spesies dari suku *Anacardiaceae*, yang di beberapa daerah di Indonesia disebut dengan berbagai nama yang berbeda, berasal dari kepulauan Indonesia dan Malaysia.

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang sangat berguna bagi kesehatan manusia. Senyawa antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi sehingga sering digunakan sebagai penangkal radikal bebas. Radikal bebas berasal dari molekul oksigen yang secara kimia strukturnya berubah akibat dari aktifitas lingkungan. Aktifitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, merokok dan lain sebagainya. Secara alami, Antioksidan sangat besar peranannya pada manusia untuk mencegah terjadinya penyakit. Antioksidan melakukan semua itu dengan cara menekan kerusakan sel yang terjadi akibat proses oksidasi radikal bebas (Winarsi, 2007).

Senyawa kimia yang berkaitan dengan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, golongan fenol, flavonoid, kuinon, tanin, saponin banyak terdapat di dalam tumbuhan dan sangat potensial untuk diteliti dan dikembangkan oleh para peneliti Indonesia dalam rangka pencarian obat atau bahan baku obat. Tumbuhan Gandaria masih sangat terbatas pemanfaatannya. Kayu dari tumbuhan Gandaria ini banyak digunakan untuk membuat alat-alat pertanian, daunnya yang muda digunakan sebagai lalap, buahnya dapat langsung dimakan, dibuat rujak, asinan, dan sari buah-buahan, serta dipakai

sebagai pengganti jeruk nipis atau asam jawa (Isnawati, 2012).

Kurangnya pemanfaatan tanaman Gandaria sebagai bahan obat disebabkan oleh kurangnya penelitian terhadap tanaman tersebut. Selama ini belum ada informasi tentang kandungan senyawa metabolit dalam jus buah gandaria sehingga tidak dimanfaatkan oleh masyarakat. Berdasarkan dasar ini penelitian tentang aktifitas antioksidan dan aktifitas penangkap radikal bebas jus buah gandaria dilakukan sehingga akhirnya diharapkan nilai ekonominya akan meningkat, disamping itu perlu juga dilakukan skrining fitokimia awal untuk mengetahui gambaran kandungan kimia dalam jus buah gandaria yang mendukung aktifitasnya sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat : Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas, blender, sentrifuge, *waterbath*, *vortex*, saringan, spektrofotometer UV-Vis dan timbangan analitik.

Bahan : Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah Gandaria dalam keadaan kering yang berasal dari propinsi Maluku. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol (96%), aquades, asam klorida 2 N, asam klorida pekat, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi besi (III) klorida, pereaksi Liebermann-Bourchard, kertas perkamen, natrium hidroksida, serbuk seng, 1,1- difenil-2pikrilhidrazil (DPPH) 93 µM, aluminium klorida 2%.

Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Buah Gandaria dicuci, disortir, dipotong-potong menjadi kecil lalu dihaluskan dengan cara diblender. Dikurangi kadar air dengan menggunakan *waterbath*. Kemudian Jus tersebut disaring dengan menggunakan pompa vakum, disentrifuse lalu diambil lapisan atasnya.

2. Skrining Fitokimia

Uji Fenolik

Diambil beberapa ml dari jus buah gandaria ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Harborne, 1987).

Uji Flavonoid

Diambil beberapa ml dari jus buah gandaria ditambahkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

Uji Saponin

Diambil beberapa ml dari jus buah gandaria ditambahkan 10 ml air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harborne 1987).

Uji steroid dan triterpenoid

Diambil beberapa ml dari jus buah gandaria ditambahkan CH_3COOH glacial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

Uji Alkaloid

Diambil beberapa ml dari jus buah gandaria ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam yang tak berwarna diuji dengan menambahkan reagen Mayer dan Dragendroff masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendroff memberikan endapan berwarna merah jingga (Harborne, 1987).

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Pembuatan Seri Konsentrasi Jus Gandaria

Jus yang telah disentrifuse dan diambil lapisan atasnya dipipet 0,4 ml. Dilarutkan dalam etanol 70% sebanyak 1ml. Lakukan pengulangan prosedur dengan etanol 70% sebanyak 1,5 ml; 2 ml; 2,5 ml; 5 ml.

Penentuan Penangkal Radikal Bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH yaitu sebanyak 0,5 ml jus buah gandaria yang telah ditentukan konsentrasinya ditambahkan dengan 1,5 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 93 μM dalam etanol dan *divortex* selama 3 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Skrining Fitokimia

Hasil Skrining fitokimia terhadap jus buah gandaria meliputi pengujian antara lain : alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, dan fenolik. Dari pengujian skrining fitokimia yang dilakukan terdapat beberapa uji yang menunjukkan hasil positif dan ada pula yang menunjukkan hasil negatif. Hasil Skrining Fitokimia dari jus Buah gandaria tersebut dapat dilihat pada Lampiran 1.

Aktivitas Antioksidan Jus Buah Gandaria

Pada pengujian aktivitas antioksidan jus buah gandaria digunakan metode pengujian dengan menggunakan

DPPH. Pengujian dilakukan pada 0,4 ml ekstrak dari jus buah yang diencerkan dengan pelarut etanol 70% untuk mendapatkan konsentrasi yang berbeda-beda pula. Pengenceran 0,4 ml ekstrak dilarutkan dalam 1ml; 1,5ml; 2ml; 2,5ml; 5ml pelarut etanol 70% sehingga didapat hasil pengujian antioksidan seperti dapat dilihat pada Lampiran 2.

PEMBAHASAN

Beberapa komponen senyawa yang terdapat dalam sari jus buah gandaria dianalisis dengan uji warna untuk golongan senyawa alkaloid, polifenol, saponin, steroid dan terpenoid, dan flavonoid. Pereaksi-pereaksi spesifik yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip '*like dissolve like*'.

Pada alkaloid dalam sari jus gandaria digunakan dengan menambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml amonia yang kemudian disaring. Kemudian ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 agar terbentuk 2 lapisan. Karena alkaloid bersifat basa maka akan terlarut pada lapisan asam pada larutan. Lapisan asam tersebut diambil dan kemudian diuji dengan pereaksi meyer namun tidak membentuk endapan merah atau jingga, karena itu dilanjutkan dengan pereaksi dragendorff namun juga tidak terbentuk endapan putih sehingga diketahui bahwa dalam sari Jus Gandaria tidak terdapat senyawa alkaloid. Sejumlah pereaksi digunakan untuk mendeteksi alkaloid secara kromatografi. Pereaksi yang sangat umum adalah pereaksi Dragendorff, yang akan memberikan noda berwarna jingga untuk senyawa alkaloid. Beberapa sistem tak jenuh, terutama kumarin dan α -piron dapat juga memberikan noda yang berwarna jingga dengan pereaksi tersebut (Robinson 1991).

Pada pengujian flavonoid sebelumnya beberapa ml dari sari jus gandaria dipanaskan dengan 100ml aquadest. Pengujian flavonoid

menggunakan serbuk Mg dan HCl Pekat yang kemudian akan dikocok kuat-kuat. Dalam pengujian yang dilakukan menunjukkan hasil yang negatif karena terjadi perubahan warna dari kuning ke putih bening sedangkan untuk menunjukkan bukti positif seharusnya terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga.

Dalam pengujian steroid dan terpenoid digunakan 10 tetes asam asetat glasial dan beberapa tetes H_2SO_4 yang dicampurkan dengan beberapa ml sari jus buah gandaria kemudian dikocok perlahan-lahan. Dari perubahan warna yang terjadi menunjukkan hasil yang negatif karena tidak membentuk warna biru atau ungu sebagai bukti adanya steroid dan warna merah atau ungu sebagai bukti adanya terpenoid. Diperkirakan steroid dan terpenoid yang terdapat dalam buah gandaria telah rusak karena proses pemanasan. Hal ini dimungkinkan dapat terjadi karena pada tahap preparasi sebelumnya sari jus buah gandaria sebelumnya telah dipanaskan dengan *waterbath* untuk mengurangi kadar airnya.

Pengujian saponin dalam sari jus buah gandaria menunjukkan hasil positif setelah dilakukan perlakuan penambahan 10ml air kedalam beberapa ml sari jus buah gandaria dan dikocok kuat-kuat dan ditambahkan beberapa tetes HCl. Hasil tersebut menunjukkan bukti positif karena terdapat busa yang bertahan selama 7 menit.

Komponen fenolat merupakan struktur aromatik yang berikatan dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Komponen fenolat bersifat larut air (polar) selama komponen tersebut berikatan dengan gula membentuk glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne 1987). Pengujian fenolik dalam sari jus buah gandaria menunjukkan hasil yang positif karena setelah dilakukan prosedur pengujian dengan beberapa ml jus buah gandaria ditambahkan 10 tetes $FeCl_3$ 1% menimbulkan perubahan warna menjadi hijau pada lapisan atas setelah terbentuk

endapan di lapisan bawah. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas antioksidan didapat dari senyawa fenolik sekalipun dalam buah gandaria tidak terdapat senyawa flavonoid yang sebenarnya lebih dominan sebagai antioksidan. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Escudero *et al.* (2008) bahwa komponen polifenol yang diisolasi dari daun *Piper aduncum* L. memiliki aktivitas antioksidan.

Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH yang merupakan salah satu dari sekian banyak metode pengujian aktivitas antioksidan. DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 517 nm (Rohman dan Sugeng, 2005).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Semakin pudar warna dan semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan bahwa semakin banyak radikal bebas yang bereaksi dengan antioksidan yang terdapat dalam sampel. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai % aktivitas antioksidan (Damayanthi *et al.*, 2010).

Pada pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH paling cocok untuk dapat menarik komponen bioaktif dari senyawa yang bersifat polar. Kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut metanol maupun etanol (Molyneux, 2004).

Konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas maka

semakin besar pula atau dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan bahan tersebut semakin besar yang ditandai dengan persen inhibisinya yang semakin besar. Persen inhibisi pada peredaman radikal bebas merupakan kemampuan suatu bahan dalam menghambat radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan yang diuji, sedangkan IC_{50} merupakan parameter yang sering digunakan dalam menyatakan hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC_{50} dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} yang menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Molyneux, 2004). Nilai hubungan persen inhibisi dengan log konsentrasi dapat dilihat dalam Lampiran 3.

Berdasarkan persamaan regresi linier dari gambar di atas maka dapat diketahui bahwa nilai IC_{50} dari jus gandaria sebesar 36,3 mg/ml. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa Jus buah Gandaria dapat memiliki aktivitas penangkal radikal bebas sebesar 50% pada konsentrasi 36,3 mg/ml. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Molyneux, 2004). Bila dilakukan peningkatan konsentrasi lebih lanjut dari jus buah Gandaria maka dimungkinkan nilai IC_{50} dapat lebih kecil lagi sehingga aktivitas antioksidan menjadi lebih baik. Hasil ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Hanani *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Aktivitas antioksidan pada jus buah gandaria diduga karena pada ekstrak tersebut terdapat komponen fenol yang terdeteksi melalui uji fitokimia. Di dalam tubuh manusia, senyawa fenolik dapat mengikat oksigen aktif. Dengan cara ini, senyawa fenolik tersebut berperan sebagai antioksidan dan mencegah efek oksigen

aktif yang dapat merusak komponen biologis seperti protein, lipida, vitamin dan DNA (Suryanto, 2012).

Senyawa fenol yang terdapat pada jus buah gandaria memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Escudero *et al.* (2008) bahwa komponen polifenol yang diisolasi dari daun *Piper aduncum* L. memiliki aktivitas antioksidan dan menurunkan kadar hidrogen peroksida secara *in-vivo*.

KESIMPULAN

1. Senyawa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam jus buah gandaria adalah saponin dan fenolik
2. Sari jus buah gandaria terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 36,3 mg/ml.

DAFTAR ISI

Damayanthi, Evy., Lilik Kustiyah., Mahani Khalid., dan Henry Farizal. 2010. *Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi daripada Jus Tomat dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum setelah Intervensi Minuman Kaya Antioksidan*. Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, IPB: Bogor

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengujian Skrining Fitokimia

Pengujian	Hasil	Keterangan
Alkaloid	-	Menimbulkan endapan, tapi tidak berwarna merah atau putih
Flavonoid	-	Tidak berubah menjadi warna kuning atau jingga
Steroid	-	Tidak menimbulkan warna biru atau hijau
Terpenoid	-	Tidak menunjukkan warna merah atau jingga
Saponin	+	Berbusa selama 7 menit, tapi tidak terlalu banyak
Fenolik	+	Setelah terbentuk endapan, larutannya berwarna hijau

Deshpande, S.S., Deshpande, U.S., dan Salunkhe, D.K. 1996. *Nutritional and health aspects of Food Antioxidants*. Drespectives. Marcel Dekker, Inc, New York.

Hanani, E., Abdul, M., dan Riani, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callispongia Sp dari Kepulauan Seribu*. Departemen Farmasi, FMIPA-UI : Depok

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

Isnawati, Ririn. 2012. *Isolasi Senyawa Fenolat Dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Tumbuhan Gandaria*. Jakarta.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219.

Robinson T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.

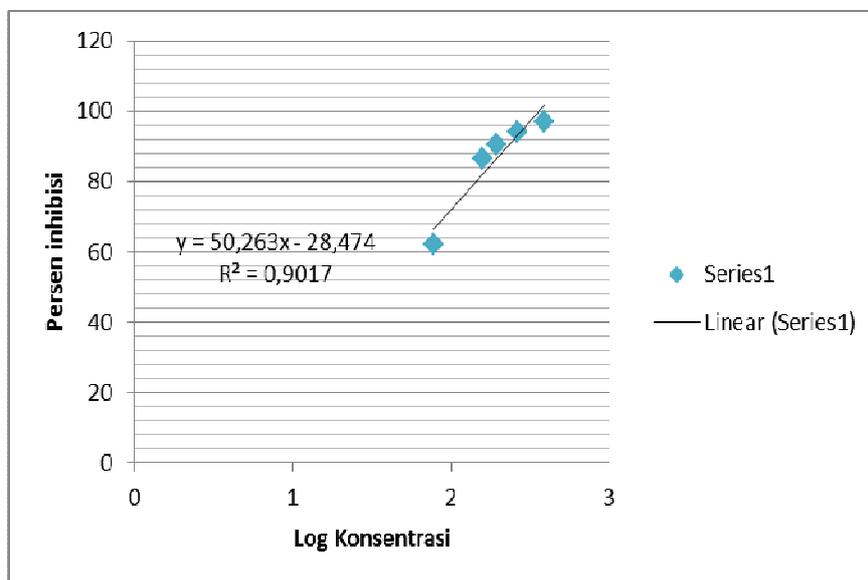
Suryanto, E. 2012. *Fitokimi Antioksidan*. CV. Putra Media Nusantara (PMN): Surabaya.

Winarsi H.M.S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kansius : Yogyakarta

Lampiran 2. Data Hasil pengujian Antioksidan

Pengenceran (0,4ml ekstrak)	Absorbansi	Konsentrasi
Control	0,673	
1ml etanol 70%	0,021	396,40 mg/ml
1,5ml etanol 70%	0,039	264,26 mg/ml
2ml etanol 70%	0,065	198,20 mg/ml
2,5ml etanol 70%	0,091	158,56 mg/ml
5ml etanol 70%	0,254	79, 28 mg/ml

Lampiran 3. Hubungan Persen Inhibisi dengan Log Konsentrasi



Filename: 1
Directory: C:\Documents and Settings\User\My Documents
Template: C:\Documents and Settings\User\Application
Data\Microsoft\Templates\Normal.dotm
Title:
Subject:
Author: ismail - [2010]
Keywords:
Comments:
Creation Date: 4/21/2013 1:42:00 PM
Change Number: 31
Last Saved On: 4/30/2013 10:29:00 AM
Last Saved By: User
Total Editing Time: 266 Minutes
Last Printed On: 4/30/2013 10:29:00 AM
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 7
Number of Words: 2,827 (approx.)
Number of Characters: 16,117 (approx.)