

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lamk) BERDASARKAN UMUR POHON

Activity Testing of Ethanol Extract Antioxidant of Agarwood Leafs (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Based On The Age of The Tree

Reza Nugraha¹, Ridwanti Batubara², Herawaty Ginting³

¹Program Studi Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Sumatera Utara, Jl. Tri Dharma Ujung No.1 Kampus USU Medan 20155 (*Penulis korespondensi, E-mail: elite.hobo22@gmail.com)

²Staff Pengajar Program Studi Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155

³Staff Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Jl. Bioteknologi No. 1, Kampus USU, Medan 20155

Abstract

Utilization of agarwood leaves (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) suspected contain a chemical compound of the flavonoids those are flavones, flavonol and isoflavones so that the leaves used as brewed beverages which serve as antioxidant. Based on that description, researcher interested in knowing the content of chemical compounds class and test the antioxidant activity of ethanol extract of agarwood leaves (*A. malaccensis* Lamk.). previous research does not regard age of the tree which is taken its leaves, so that it needed to review that based on the age of the tree. This research used the trees in age 4 and 7 years after those were planted in the field. This study aims to knowing chemical compounds class that contain in agarwood leaves (*A. malaccensis* Lamk.) which have a function as antioxidant from the tree in age 4 and 7 years; and to knowing the power of the antioxidant activity from ethanol extract of agarwood leaves in age 4 and 7 years.

This research is based on the method of Badan Ditjen POM year 1995. Based on the result of phytochemicals screening test of simplicia powder and ethanol extract of agarwood leaves which are the compounds of flavonoids, glycosides, tannins, steroid/triterpenoids, all of that are the active compounds of antioxidant. The result of antioxidant activity test using beam spectrophotometer showed in a wavelength 516 nm at 42th minutes is the result of ethanol extract of agarwood leaves in age 4 and 7 years have 27,83 ppm and 27,76 ppm of IC_{50} . The result of this test is known that ethanol extract of agarwood leaves in age 4 and 7 years have a very strong antioxidant activity.

Keywords : Agarwood leaves, Antioxidant, Phytochemicals, Age, IC_{50}

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu komoditi Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK), gaharu semula memiliki nilai guna yang terbatas hanya untuk mengharumkan tubuh, ruangan dan kelengkapan upacara ritual keagamaan masyarakat Hindu dan Islam. Sejalan dengan perkembangan ilmu dan teknologi dibidang industri kimia serta farmasi didukung dengan berkembangnya paradigma dunia kedokteran dan pengobatan untuk kembali memanfaatkan bahan tumbuhan alami (*back to nature*), produk gaharu selain dibutuhkan sebagai bahan industri parfum dan kosmetika, juga banyak dibutuhkan sebagai bahan obat herbal, untuk pengobatan stress, asma, rheumatik, radang ginjal dan lambung, bahan anti biotik TBC, serta tumor dan kanker (Sumarna, 2007)

Berubahnya pola hidup masyarakat serta pola makan yang tidak benar dan penambahan usia mengakibatkan pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Padatnya aktivitas kerja cenderung menyebabkan masyarakat mengonsumsi makanan yang serba instan dan menerapkan pola makan yang tidak sehat. Makanan yang tidak sehat akan menyebabkan akumulasi jangka panjang terhadap radikal bebas di dalam tubuh. Lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup, mampu merangsang tumbuhnya radikal bebas (*free radical*) yang dapat merusak tubuh (Mega dan Swastini, 2010).

Agroindustri tanaman obat khususnya dikembangkan budidaya tanaman obat agar mudah didapat dan tidak mengalami kelangkaan. Khusus bagi tanaman yang hampir langka perlu adanya pengembangan budidaya melalui kultur jaringan dan selanjutnya dikembangkan di lapangan. Setelah dibudidayakan sebanyaknya perlu dikembangkan lebih lanjut teknologi proses melalui teknologi farmasi dan kedokteran baik melalui eksplorasi sumber daya alam tanaman obat asli Indonesia melalui penelitian, uji bioaktivitasnya, pembuatan sediaan fitofarmakanya dan standarisasi bahan-bahan/simplicia sehingga warisan turun temurun yang digunakan oleh nenek moyang dapat dikembangkan secara ilmiah atau medis. Seperti misalnya budidaya, uji fitokimia, uji bioaktivitas dan pembuatan formula sediaan fitofarmaka tanamangaharu sebagai tanaman obat tradisional agar manfaat tanaman gaharu dapat ditingkatkan (Mega dan Swastini, 2010).

Berdasarkan penelitian Silaban (2013) yang menyatakan bahwa peredaman radikal bebas oleh ekstrak etanol daun gaharu segar dan ekstrak etanol simplicia menunjukkan bahwa konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan nilai aktivitas peredaman radikal bebas. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak etanol daun gaharu dan simplicia memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil dengan cara mencegah

terbentuknya radikal. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya kerusakan sel dapat dihambat. Antioksidan berfungsi menetralisasi radikal bebas, sehingga atom dan elektron yang tidak berpasangan mendapatkan pasangan electron dan menjadi stabil. Keberadaan antioksidan dapat melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degenerative dan kanker (Winarsi, 2007).

Upaya untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif (Lusiana, 2010)

Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) merupakan pohon dari suku Thymeleaceae (Tarigan, 2004), sudah mulai populer dimanfaatkan masyarakat petani gaharu di Langkat sebagai minuman yang diseduh. Hasil wawancara terhadap petani gaharu menjelaskan bahwa mengkonsumsi daun gaharu dari jenis ini memiliki banyak manfaat diantaranya memperbaiki pencernaan. Pemanfaatan daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) diduga memiliki kandungan senyawa kimia dari golongan flavanoida yaitu flavon, flavonol dan isoflavon sehingga dimanfaatkan daunnya sebagai minuman seduh yang berperan sebagai antioksidan. Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia dan menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.). Penelitian sebelumnya tanpa memperhatikan umur pohon yang diambil daun gaharunya, sehingga dirasa perlu mengkajinya berdasarkan faktor umur yaitu umur 4 dan 7 tahun setelah di tanam di lapangan.

Tujuan dari penelitian ini untuk Mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang berfungsi sebagai antioksidan pada umur 4 dan 7 tahun dan mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) dari berbagai umur 4 dan 7 tahun.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juli hingga Oktober 2014. Tempat pengambilan sampel dilakukan di pertanaman pohon gaharu di Langkat, Provinsi Sumatera Utara dan Arboretum Universitas Sumatera Utara. Uji fitokimia, ekstraksi dan pengamatan aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Penelitian, Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang berumur 4 tahun dan 7 tahun yang masing kelompok terdiri dari daun

segar. Bahankimia yang digunakan adalah bahan-bahan kimia lainnya yang berkualitas pro analisis adalah DPPH (Sigma), produksi E-Merck: metanol, toluen, kloroform, isopropanol, benzen, *n*-heksana, asam nitrat pekat, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, raksa (II) klorida, bismut (III) nitrat, besi (III) klorida, timbal (II) asetat, kalium iodida, kloralhidrat, asam asetat anhidrida, natrium hidroksida, amil alkohol, natrium sulfat anhidrat, serbuk magnesium. Bahan kimia berkualitas teknis adalah etanol 96% dan air suling.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas laboratorium (erlenmeyer, gelas beaker, gelas corong, gelas ukur, labu alas bulat, labu tentukur, tabung reaksi), aluminium foil, blender (National), lemari pengering, oven listrik, neraca kasar (O'haus), neraca digital (Vibra), desikator, stopwatch, cawan porselin, lemari pengering, krus tang dan pisau, rotary evaporator (Heidolph VV-300), freeze dryer (Edwards), spektrofotometer UV/Vis (Shimadzu UV-1800) dan kamera digital.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel Tanaman

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif tanpa membandingkan dengan tanaman yang sama dari daerah yang lain. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang diambil dari pertanaman pohon gaharu di Langkat, Provinsi Sumatera Utara.

Determinasi Tanaman

Identifikasi tanaman gaharu dilakukan di *Herbarium Medanense*, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.

Persiapan Bahan Baku

Pada tahapan ini dikumpulkan sampel daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang muda maupun tua kemudian dikelompokkan berdasarkan usia pohon gaharu yaitu 4 tahun dan 7 tahun, kemudian dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air mengalir, kemudian disebarkan diatas kertas perkamen hingga airnya terserap. Bahan dikeringkan di lemari pengering hingga kering dan rapuh. Berat dari bahan yang kering ditimbang, kemudian dihaluskan dengan cara di blender. Simplisia yang telah menjadi serbuk dimasukkan ke dalam wadah yang terlindung dari sinar matahari sebelum dilakukan proses ekstraksi (Ditjen POM, 1979).

Pembuatan Pereaksi

1. Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 4 g kalium iodida ditimbang, dilarutkan dalam air suling secukupnya, lalu ditambahkan 2 g iodium kemudian ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

2. Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,4 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam air suling hingga 60 ml, pada wadah lain ditimbang sebanyak 5 g kalium iodida lalu dilarutkan dalam 10 ml air

suling, kedua larutan dicampurkan dan ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

3. Pereaksi Dragendorff

Sebanyak 0,8 g bismut (III) nitrat ditimbang, dilarutkan dalam 20 ml asam nitrat pekat, pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 g kalium iodida, dilarutkan dalam 50 ml air suling, kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan air suling hingga volume larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

4. Pereaksi Molish

Sebanyak 3 g α -naftol ditimbang, dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1979).

5. Pereaksi Asam Klorida 2 N

Sebanyak 17 ml larutan asam klorida pekat ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1979).

6. Pereaksi Natrium Hidroksida 2 N

Sebanyak 8 g kristal natrium hidroksida dilarutkan dengan air suling sebanyak 100 ml (Ditjen POM, 1979).

7. Pereaksi Asam Sulfat 2 N

Sebanyak 5,4 ml larutan asam sulfat pekat ditambahkan air suling sampai 100 ml (Ditjen POM, 1995).

8. Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M

Sebanyak 15,17 g timbal (II) asetat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling bebas karbon dioksida sebanyak 100 ml (Ditjen POM, 1995).

9. Pereaksi Besi (III) Klorida 1%

Sebanyak 1 g besi (III) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air secukupnya hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

10. Pereaksi Liebermann-Burchard

Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrida dicampur dengan 1 bagian asam sulfat pekat. Larutan pereaksi ini harus dibuat baru (Harborne, 1984).

11. Larutan DPPH 0,5 mM

Sebanyak 20 mg DPPH ditimbang kemudian dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh volume larutan 100 ml (konsentrasi 200ppm) (Molyneux, 2004).

Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi (Destilasi Toluena). Alat-alat terdiri dari labu alas bulat 500ml, alat penampung, pendingin, tabung penyambung, tabung penerima 5ml.

Cara kerja : kedalam labu alas bulat dimasukkan 100 ml toluena dan 1 ml air suling, didestilasi selama 2 jam, toluena didinginkan selama 30 menit dan volume air didalam tabung penerima dibaca, kemudian kedalam labu dimasukkan 2,5 g sampel yang telah ditimbang seksama, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit, setelah toluena mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai sebagian air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian bagian dalam pendingin dibilas dengan toluena, destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluena memisah

sempurna, dibaca volume air dengan ketelitian 0,05 ml. Kadar air dihitung dalam persen (WHO, 1998).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan senyawa golongan alkaloida, glikosida, steroid/triterpenoid, flavonoid, tannin dan saponin. Pemeriksaan ini dilakukan pada daun pada setiap perlakuan umur (4 tahun dan 7 tahun)

1. Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring, filtrat dipakai untuk uji alkaloida. Diambil 3 tabung reaksi, lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,5 ml filtrat.

- Pada tabung I, ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
- Pada tabung II, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan.
- Pada tabung III, ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.

Alkaloid disebut positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada dua atau tiga dari percobaan di atas (Ditjen POM, 1995).

2. Pemeriksaan Glikosida

Sebanyak 3 g serbuk simplisia ditimbang, disari dengan 30 ml campuran dari tujuh bagian etanol 95% dengan tiga bagian air suling (7:3) dan 10 ml asam klorida 2N. Kemudian direfluks selama 10 menit, didinginkan, lalu disaring. Diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air suling dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M dikocok, didiamkan 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan kloroform (2:3), perlakuan ini diulangi sebanyak 3 kali. Sari air dikumpulkan kemudian diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C, sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Larutan sisa digunakan untuk percobaan berikut, 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian diuapkan di atas penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes larutan pereaksi Molish, lalu ditambahkan dengan perlahan-lahan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan, menunjukkan adanya ikatan gula (glikon) atau glikosida (Ditjen POM, 1995).

3. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia ditimbang, dimaserasi dengan 20 ml *n*-heksana selama 2 jam, disaring, lalu filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard), timbulnya warna biru atau biru hijaumenunjukkan adanya steroida, sedangkan warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1987).

4. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 10 g serbuk simplisia ditimbang, dilarutkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit

dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth, 1996).

5. Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, disari dengan 10 ml air suling lalu disaring, filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Ditjen POM, 1995).

6. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif jika terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Ditjen POM, 1995).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*A. malaccensis* Lamk.)

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%, sebanyak 200 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah kaca, dituangi dengan 1500 ml etanol 96%, ditutup, dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya dan sesekali diaduk. Setelah 5 hari campuran tersebut diserkai (saring). Ampas dicuci dengan etanol 96% secukupnya hingga diperoleh 2000 ml, lalu dipindahkan dalam bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian dienaptungkan lalu disaring. Maserat dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh maserat pekat kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* sehingga diperoleh ekstrak kering (Ditjen POM, 1979).

Pengujian Kemampuan Antioksidan dengan Spektrofotometer UV- visible

1. Prinsip metode pemerangkapan radikal bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH dalam larutan metanol (sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning) dengan nilai IC_{50} (konsentrasi sampel uji yang memerangkap radikal bebas 50%) sebagai parameter menentukan aktivitas antioksidan sampel uji tersebut.

2. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0,5 mM (konsentrasi 200 ppm) dipipet sebanyak 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 40 ppm).

3. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dihomogenkan dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.

4. Pembuatan Larutan Induk

Sebanyak 25 mg ekstrak daun gaharu (*A. Malaccensis* Lamk.) ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 25 ml dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).

5. Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk dipipet sebanyak 1 ml; 1,5 ml; 2 ml; 2,5 ml kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml (untuk mendapatkan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm), kemudian dalam masing-masing labu tentukur ditambahkan 5 ml larutan DPPH 0,5 mM (konsentrasi 40 ppm) lalu volume dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, didiamkan di tempat gelap, lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 516 nm, pada waktu selang 5 menit mulai dari 0 menit hingga 30 menit.

Penentuan Persen Peredaman

Penentuan persen pemerangkapan radikal bebas oleh sampel ujiekstrak etanol daun gaharu (*A. Malaccensis* Lamk.), menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), yaitu dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan: A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

(Andayani *et al.*, 2008).

Penentuan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi ($Y=AX+B$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 ppm (Mardawati *et al.*, 2008).

Analisis Data

Data hasil dari pengamatan akan dianalisis secara tabulasi dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik dan hasil pengujian aktivitas antioksidan di analisis dengan perhitungan dimasukkan ke dalam regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi tumbuhan yang dilakukan di *Herbarium Medanense (MEDA)*, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan menunjukkan bahwa sampel daun gaharu termasuk suku *Thymeleaceae* dan jenis *Aquilaria malaccensis* Lamk. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1

Penetapan Kadar Air Simplisia

Penetapan kadar air sangat berhubungan dengan mutu simplisia. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal kandungan air yang masih dapat ditolerir di dalam simplisia maupun ekstrak. Hasil penetapan dari kadar air simplisia daun gaharu 4 tahun dan 7 tahun dapat dilihat pada Tabel. 1

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar air Simplisia umur 4 Tahun dan 7 Tahun

Tahun	Ulangan	% KA	KA rata-rata
4	1	4,0	4,26
	2	3,9	
	3	4,9	
7	1	3,9	4,56
	2	4,9	
	3	4,9	

Kadar air simplisia yang diperoleh tersebut telah memenuhi syarat standarisasi kadar air simplisia yaitu tidak melebihi 10% (Ditjen POM, 1995). Tingginya kandungan air dapat menyebabkan ketidakstabilan pada simplisia maupun ekstrak, bakteri dan jamur akan cepat tumbuh dan bahan aktif yang terkandung didalamnya dapat terurai. Kadar air yang melebihi persyaratan dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur. Batas kadar air minimal yang dikandung simplisia akan berpengaruh terhadap lama penyimpanan sebelum simplisia tersebut digunakan.

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia serbuk simplisia daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk) pada umur 4 dan 7 tahun dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang dikandung. Skrining fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif biologis yang terdapat dalam daun gaharu ini. Hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia umur 4 dan 7 tahun dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Gaharu Umur 4 Tahun dan 7 Tahun

No.	Pemeriksaan	Simplisia	
		4 Tahun	7 Tahun
1	Alkaloid	-	-
2	Flavonoid	+	+
3	Glikosida	+	+
4	Saponin	-	-
5	Tanin	+	+
6	Steroid/Triterpenoid	+	+

Keterangan: (+) positif : mengandung golongan senyawa
(-) negatif : tidak mengandung golongan senyawa

Hasil yang diperoleh pada Tabel 2 menunjukkan bahwa uji skrining fitokimia yang dilakukan terhadap serbuk simplisia, ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 dan 7 tahun tidak memiliki adanya perbedaan kandungan golongan senyawa kimia karena serbuk simplisia yang diuji memiliki kandungan golongan senyawa kimia yang sama. Kesamaan kandungan golongan senyawa kimia tersebut diakibatkan karena sampel yang diuji adalah jenis yang sama yaitu *Aquilaria malaccensis*, akan tetapi memiliki perbedaan pada umur pohon yaitu 4 dan 7 tahun. Hasil ini tidak berbeda dengan hasil penelitian Silaban (2013) uji skrining fitokimia yang dilakukan terhadap serbuk simplisia, ekstrak etanol daun gaharu segar maupun pada ekstrak etanol simplisia tidak memiliki adanya perbedaan kandungan golongan senyawa kimia.

Pada pengujian alkaloid, menunjukkan hasil yang negatif pada semua pereaksi. Pada uji Mayer tidak terbentuk endapan putih. Begitu juga dengan penambahan pereaksi Bouchardat dan Dragendorf tidak terbentuk endapan, hanya menghasilkan larutan jernih pada penambahan pereaksi Mayer, warna kuning pada penambahan pereaksi Bouchardat dan warna coklat pada pereaksi Dragendorf. Senyawa flavonoid dimiliki daun gaharu ditandai dengan adanya warna merah atau kuning pada lapisan amil alkohol setelah menambahkan serbuk Mg dan serbuk Zn dengan asam klorida pekat (Farnsworth, 1996). Pengujian glikosida positif, ditunjukkan dengan penambahan pereaksi Molisch dan asam sulfat pekat, kemudian membentuk cincin ungu. Skrining saponin menghasilkan busa yang tidak stabil dengan tinggi busa 1 cm, setelah dilakukan penambahan HCl 2 N, busa yang ada hilang. Dalam penelitian ini skrining saponin memberikan hasil yang negatif. Larutan yang ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1% menghasilkan warna biru atau kehitaman dan menunjukkan adanya tanin (Ditjen POM, 1995).

Skrining yang dilakukan terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru pada filtrat yang diuapkan dengan meneteskan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan adanya steroida/triterpenoida (Harborne, 1987). Daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) memiliki potensi sebagai antioksidan, mengandung golongan senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoida (Kumalaningsih, 2006). Senyawa flavonoid tersebut bertindak sebagai penangkap radikal bebas karena gugus hidroksil yang dikandungnya mendonorkan hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa tersebut mampu menetralkan radikal bebas dengan memberikan elektron

kepadanya sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron dan tidak lagi menjadi radikal (Silalahi, 2006).

Hasil skrining fitokimia yang telah diperoleh dapat memberi informasi penting tentang senyawa kimia yang dikandung oleh daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.). Setelah mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terkandung, maka akan mempermudah dalam penentuan pemakaian terutama dalam bidang pengobatan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Farnsworth (1996), yang menyatakan bahwa teknik skrining dapat membantu langkah-langkah fitofarmakologi yaitu seleksi awal dari pemeriksaan tumbuhan tersebut untuk membuktikan adanya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan tersebut yang dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya dalam bidang pengobatan maupun farmasi.

Ekstrak Etanol Daun Gaharu Secara Maserasi

Ekstrak etanol daun gaharu diperoleh melalui proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan. Cara ekstraksi yang paling sederhana yaitu maserasi, karena bahan yang akan diekstrak cukup dilarutkan (direndam) dengan pelarut pada perbandingan tertentu dan menggunakan alat-alat sederhana. Maserasi yang dilakukan memiliki waktu yang berbeda-beda tergantung pada sifat bahan dan pelarut. Perbandingan pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1 : 3, sedangkan lama maserasi adalah lima hari dengan perendaman ulang terhadap residu selama dua hari. Ekstraksi dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan minimal 1 kali dalam sehari. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga oleh adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan dalam sel dengan larutan luar sel (Depkes RI, 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena merupakan pelarut yang aman digunakan dalam obat-obatan, sesuai dengan lisensi Badan POM. Etanol juga mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lain. Berdasarkan kepolaran dan kelarutan, senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non polar akan mudah larut dalam nonpolar (Ditjen POM, 2000). Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi sangat mempengaruhi hasil ekstrak. Jenis pelarut yang digunakan harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan zat-zat aktif yang diinginkan tanpa mengikutsertakan unsur-unsur yang tidak diinginkan.

Tabel 3 Hasil Ekstrak Simplisia Daun Gaharu Umur 4 dan 7 Tahun

No	Jenis sample (simplisia)	Berat sampel (gram)	Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
1	4 tahun	200,005	31,6	15,8
2	7 tahun	200,011	23,2	11,6

Pelarut yang digunakan juga tidak mempengaruhi hasil warna dari ekstrak, dapat dikatakan bahwa pelarut yang digunakan menguap sempurna pada saat dilakukan proses *rotary*. Pemekatan maserat sampel dengan *rotary evaporator* akan memperoleh ekstrak kental (ekstrak kasar) (Panjaitan, dkk, 2014). Hasil rendemen yang di dapatkan dari ekstraksi daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk) pada umur pohon 4 tahun dari 200,005 gram serbuk simplisia di dapatkan ekstrak kental sebanyak 31,6 gram dengan rendemen yang dihasilkan 15,8 % sedangkan pada umur pohon 7 tahun dari 200,011 gram serbuk simplisia yang digunakan dihasilkan sebanyak 23,2 gram dengan rendemen yang dihasilkan 11,6 %. Perbedaan hasil rendemen ekstrak tersebut di pengaruhi faktor-faktor seperti metode ekstraksi, ukuran sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel (Harbone, dalam Susanto, 2010). Ekstrak yang dihasilkan ini berbentuk pasta yang kasar dan berwarna coklat pekat. Hasil ekstrak dapat dilihat pada Gambar 1.

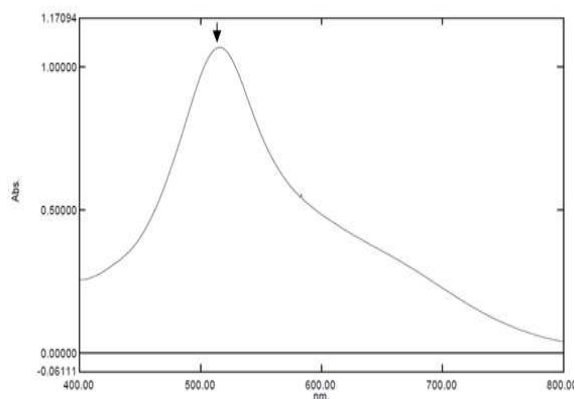


a. Ekstrak Daun Gaharu Umur 4 Tahun b. Ekstrak Daun Gaharu Umur 7 Tahun

Gambar 1 Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*A. malaccensis* Lamk)

Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ_{maks})

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum, yaitu panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Panjang gelombang serapan maksimum adalah panjang gelombang maksimum DPPH yang masih tersisa dalam larutan. Pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 ppm dalam metanol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Hasil pengukuran serapan maksimum dapat dilihat pada Gambar 2.



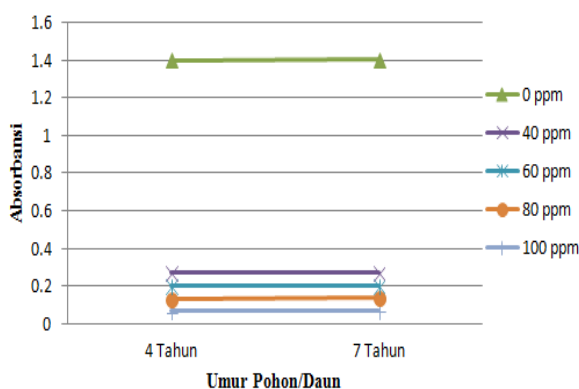
Gambar 2 Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH 40 ppm Dalam Metanol Secara Spektrofotometri Visibel

Hasil pengukuran yang dilakukan menunjukkan bahwa larutan DPPH dalam metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 516 nm.

Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) yang dipergunakan adalah pengukuran yang memberi serapan maksimum (Molyneux, 2003). Disebabkan pada panjang gelombang tersebut perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diperoleh serapan yang diukur pada spektrofotometri dengan panjang gelombang 516 nm. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 dan 7 tahun diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi dengan metode DPPH pada menit ke-42 dengan adanya penambahan larutan uji dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm yang dibandingkan dengan kontrol DPPH (tanpa penambahan larutan uji). Dapat dilihat kurva hubungan antara absorbansi DPPH terhadap penambahan konsentrasi larutan uji dalam menganalisis aktivitas antioksidan pada Gambar 3



Gambar 3. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Umur Pohon

Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu 4 tahun dan 7 tahun dapat dilihat adanya penurunan nilai absorbansi DPPH yang diberi larutan uji dibandingkan terhadap kontrol pada setiap kenaikan konsentrasi. Penurunan absorbansi yang semakin besar menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar pula. Ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 dan 7 tahun memiliki penurunan absorbansi yang besar pada konsentrasi 40 ppm, keduanya tidak memiliki perbedaan yang cukup jauh. Penurunan nilai absorbansi di atas menunjukkan bahwa terjadi penangkapan/peredaman radikal bebas DPPH oleh larutan uji sehingga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari sampel jika dihubungkan dengan hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia maupun ekstrak etanol daun gaharu, maka dapat diduga bahwa sifat antioksidan dari ekstrak etanol daun gaharu ini diakibatkan oleh senyawa fenolik yang terkandung di dalamnya. Senyawa-senyawa metabolit sekunder inilah yang diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antiradikal bebas karena gugus-gugus fungsi yang ada dalam senyawa tersebut seperti gugus

OH yang dalam pemecahan heterolitiknya akan menghasilkan radikal O (O.) dan radikal H (H.). Radikal-radikal inilah yang nantinya akan bereaksi secara radikal dengan DPPH sehingga dapat meredam panjang gelombang dari DPPH tersebut (Mega dan Swastini, 2010).

Kondisi kedua ekstrak tersebut masih menunjukkan penurunan absorbansi yang hampir sama. Penurunan nilai absorbansi di atas menunjukkan bahwa terjadi penangkapan/peredaman radikal bebas DPPH oleh larutan uji sehingga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari sampel. Pemilihan metode DPPH pada penelitian ini berdasarkan pernyataan Prakash (2001) yang menyatakan bahwa metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik, khususnya alkohol.

Mekanisme reaksi DPPH ini berlangsung melalui transfer elektron. Larutan DPPH akan mengoksidasi senyawa dalam ekstrak etanol daun gaharu. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen kepada DPPH, akan menetralkan radikal bebas DPPH. Semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, akan ditandai dengan warna larutan yang berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya akan hilang (Molyneux, 2004).

Hasil Peredaman Radikal Bebas DPPH Oleh Sampel Uji

Potensi antioksidan ekstrak etanol daun gaharu segar dan ekstrak etanol simplisia dapat diketahui dengan menggunakan parameter aktivitas antioksidan dengan persen peredaman. Kemampuan antioksidan diukur pada menit ke-42 sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman radikal bebas DPPH) akibat adanya penambahan larutan uji. Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji tersebut dihitung sebagai persen peredaman. Hasil analisis yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman pada setiap kenaikan konsentrasi sampel uji, dapat dilihat pada Tabel 4.

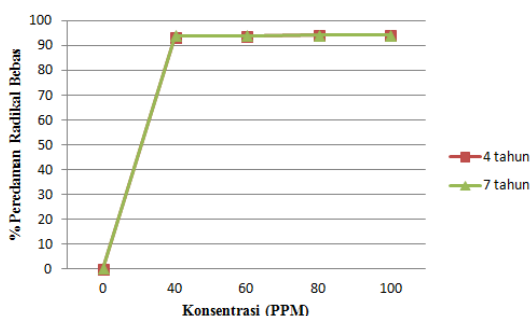
Tabel 4. Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas oleh Ekstrak Etanol Daun Gaharu 4 Tahun dan 7 Tahun

Menit ke-	Konsentrasi (ppm)	%Peredaman	
		4 Tahun	7 Tahun
	0	0	0
42	40	93,51	93,80
	60	93,81	93,80
	80	94,13	93,97
	100	94,24	94,01

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi sampel uji, maka akan semakin meningkat nilai aktivitas peredamannya. Semakin banyak DPPH yang berpasangan dengan atom hidrogen dari ekstrak yang diuji sehingga serapan DPPH menurun. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) berdasarkan kemampuan bahan uji dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH yang dapat dilihat dari berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH

menjadi warna kuning. Daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) memiliki potensi sebagai antioksidan, mengandung golongan senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoida (Kumalaningsih, 2006).

Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol daun gaharu 4 tahun dan 7 tahun mempunyai sifat antioksidan pada pengujian DPPH. Selanjutnya jika dihubungkan dengan hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia maupun ekstrak etanol daun gaharu, maka dapat diduga bahwa sifat antioksidan dari ekstrak etanol daun gaharu ini diakibatkan oleh senyawa fenolik yang terkandung di dalamnya. Gambar peredaman radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol daun 4 tahun dan 7 tahun dihubungkan dengan konsentrasi sampel dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Gaharu Umur 4 Dan 7 Tahun Simplisia Terhadap Persen Peredaman Radikal Bebas DPPH.

Dari data pengukuran nilai absorbansi pada menit ke-42 dapat dianalisis pengaruh konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi dimana peningkatan aktivitas sebanding dengan bertambahnya konsentrasi.

Nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration) Sampel Uji

Penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 tahun dan 7 tahun dinyatakan dengan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai persen peredaman sebagai ordinat (sumbu Y). Kategori penentuan kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 5

Tabel 5. Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan

No.	Kategori	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	50-100
3	Sedang	101-150
4	Lemah	151-200

Dikutip dari Mardawati *et al.*, 2008.

Kemampuan sampel uji dalam memerangkap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sebagai radikal bebas dalam larutan metanol dengan nilai IC_{50} (konsentrasi sampel uji yang mampu memerangkap radikal bebas sebesar 50%) digunakan sebagai parameter untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel uji tersebut (Prakash, 2001). Hasil persamaan regresi linier ($Y = AX + B$) diperoleh setelah menghitung nilai persen peredaman untuk ekstrak etanol daun gaharu dan ekstrak etanol simplisia dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Persamaan Regresi Linier Ekstrak Etanol Daun Gaharu Umur 4 Dan 7 Tahun

No	Larutan Uji	Persamaan regresi
1	Ekstrak etanol daun umur 4 tahun	$Y = 0,8926 X + 25,1524$
2	Ekstrak etanol daun umur 7 tahun	$Y = 0,8895 X + 25,304$

Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai X setelah mengganti $Y = 50$ pada persamaan regresinya. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal bebas DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel. Hasil analisis nilai IC_{50} dapat diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi pada Tabel 6 dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Daun Gaharu Umur 4 Tahun dan 7 Tahun

No	Sampel	IC_{50} (ppm)
1	Ekstrak Etanol Daun Umur 4 tahun	27,83
2	Ekstrak Etanol Daun Umur 7 tahun	27,76

Pada Tabel 7 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 tahun memiliki nilai IC_{50} sebesar 27,83 ppm dan diikuti ekstrak etanol pada umur 7 tahun sebesar 27,76 ppm. Aktivitas yang paling kuat diperoleh pada ekstrak etanol pada umur 7 tahun dan diikuti ekstrak etanol daun gaharu pada umur 4 tahun. Ditinjau dari kategori kekuatan aktivitas antioksidan, ekstrak etanol daun gaharu umur 4 dan 7 tahun termasuk dalam kategori sangat kuat dengan nilai lebih kecil dari 50 ppm. Hal ini dapat terjadi karena pada ekstrak tersebut diperkirakan mengandung senyawa aktif sebagai antioksidan. Menurut Suratmo (2009), senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat diprediksi dari golongan fenolat, flavonoid dan alkaloid yang merupakan senyawa-senyawa polar. Hasil penelitian Silaban (2013), dari skrining fitokimia pada serbuk simplisia, ekstrak etanol daun gaharu segar dan ekstrak etanol simplisia diperoleh adanya senyawa flavonoid, glikosida, tanin dan

steroid/triterpenoid yang merupakan senyawa aktif antioksidan. Flavonoida bersifat reduktor sehingga dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas (Silalahi, 2006).

Dapat disimpulkan bahwa nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan dengan potensi peredaman radikal bebas. Semakin besar nilai IC₅₀ yang diperoleh maka potensi aktivitas antioksidannya semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas peredaman radikal bebas sebesar 50% semakin besar.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia, ekstrak etanol daun gaharu umur 4 tahun dan 7 tahun diperoleh adanya senyawa flavonoid, glikosida, tanin dan steroid/triterpenoid yang merupakan senyawa aktif antioksidan sehingga tidak terdapat pengaruh umur terhadap kandungan tersebut.
2. Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 516 nm pada menit ke-42 diperoleh hasil ekstrak etanol daun gaharu 4 tahun dan 7 tahun memiliki IC₅₀ sebesar 27,83 ppm dan 27,76 ppm. Hasil pengujian ini diketahui ekstrak etanol daun gaharu umur 4 dan 7 tahun tidak ada perbedaan kekuatan aktivitasnya karena memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Saran

Kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian ekstrak daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) dengan pelarut yang berbeda dan pengujian efek lain misalnya anti kanker dan mengetahui fungsi- fungsi dari unsur – unsur yang terkandung di dalamnya, serta perlu dilakukan karakterisasi simplisia daun gaharu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ditjen POM. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi Ketiga. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 29-31.
- Ditjen POM. 1995. Materia Medika Indonesia, Jilid VI. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 321-326, 333-337.
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 9-11.
- Farnsworth, N.R. 1996. *Biological and Phytochemical Screening of Plants. Journal of Pharmaceutical Sciences* 55(3):263.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Terjemahan dari *Phytochemical Methods* oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB. Bandung. Hal 47-245.
- Hernani dan Rahardjo, M. 2002. Tanaman Berkhasiat Antioksidan: Berbagai Jenis Tanaman Penangkal Racun. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ionita, P. 2005. *Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?. Bucharest. Chemical Paper.* 59(1):11-16.
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami, Penangkal Radikal Bebas: Sumber, manfaat, cara penyediaan dan pengolahan. Trubus Agrisana. Surabaya. Hal. 4-5, 24, 43.
- Lusiana. 2010. Kemampuan Antioksidan Asal Tanaman Obat dalam Modulasi Apoptosis sel khamir (*saccharomyces cerevisiae*). Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mardawati, E., F. Filianty dan H. Harta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Hal.4
- Mega, IM dan Swastini, DA. 2010. Skrining fitokimia dan aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia* 4(2): 187-192.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2): 214-215.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity. Analytical Progress.* 19(2): 1-4.
- Silaban, S.F. 2013. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk). [skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 40, 47-48.
- Sumarna, Y. 2007. Budidaya dan Reka-yasa Produksi Gaharu. Temu Pakar Pengembangan Gaharu. Direktorat Jenderal RLPS, Jakarta.
- Tarigan, K. 2004. Profil Pengusahaan (Budidaya) Gaharu. Pusat Bina Penyuluhan Kehutanan. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Winarsi H. 2007. Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius