

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL DPPH EKSTRAK GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.)

DPPH Radical Scavenging Activity of Gambir Extracts (Uncaria gambir Roxb.)

Rusdin Rauf¹, Umar Santoso², Suparmo²

¹Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. A. Yani, Tromol Pos 1 Pabelan, Kartasura, Surakarta, Email: rusdinrauf@yahoo.com. ²Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Gambir mengandung komponen polifenol yang cukup tinggi, yang dikenal sebagai katekin. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas penangkapan radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ekstrak gambir dan mengidentifikasi komponen fenoliknya. Gambir diekstrak dengan lima macam sistem pelarut [aquades, aquades:etanol (1:1), etanol, etanol:etil asetat (1:1), and etil asetat]. Aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak gambir lebih tinggi dari Rutin dan BHT (Butylated hydroxytoluene). Ekstrak aquades:etanol (1:1), etanol:etil asetat (1:1) dan etil asetat menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang tertinggi (masing-masing $47,70 \pm 0,60$ %, $49,52 \pm 0,68$ % and $50,13 \pm 0,74$ %) setelah diinkubasi selama 25 menit. Rutin dan BHT menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang terendah (masing-masing $32,07 \pm 0,75$ % and $22,24 \pm 0,80$ %). Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa ekstrak gambir mengandung (+)-katekin.

Kata kunci: *Gambir, katekin, aktivitas antioksidan, DPPH.*

ABSTRACT

Gambir contains high level of polyphenolic compounds known as catechins. The objectives of the research were to investigate the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of gambir extract and to identify the isolated phenolic compounds. Gambir was extracted with five types of solvents [aquadest, aquadest:ethanol (1:1), ethanol, ethanol:ethyle acetate (1:1), and ethyle acetate]. The DPPH radical scavenging activity of gambir extracts were higher than Rutin and BHT. The extractions with aquadest:ethanol (1:1), ethanol:ethyle acetate (1:1) and ethyle acetate showed the highest scavenging activities of DPPH radicals (47.70 ± 0.60 %, 49.52 ± 0.68 % and 50.13 ± 0.74 %, respectively) after incubation for 25 minutes. The rutin and BHT showed the lowest scavenging activities of DPPH radicals (32.07 ± 0.75 % and 22.24 ± 0.80 %, respectively). HPLC analysis showed that gambir extract contained simply (+)-catechin.

Keywords: *Gambir, catechin, antioxidant activity, DPPH.*

PENDAHULUAN

Studi tentang efek pangan terhadap kesehatan manusia telah banyak menarik perhatian para peneliti pada beberapa tahun terakhir. Efek tersebut dihubungkan dengan adanya resiko penyakit kronis degeneratif, seperti kanker, diabetes, liver dan penghambatan terhadap penuaan dini. Efek tersebut

secara umum dihubungkan dengan adanya aktivitas antioksidan yang secara alami atau sengaja ditambahkan dalam produk pangan.

Radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan radikal organik nitrogen yang stabil, yang memberikan

efek warna ungu. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada pengukuran kemampuan pereduksian terhadap radikal DPPH. Pengukuran dapat dilakukan dengan pengukuran penurunan absorbansi (Prior dkk., 2005). Larutan DPPH yang berwarna ungu merupakan kumpulan radikal-radikal bebas dan akan diikat oleh ion H dari senyawa antioksidan sehingga intensitas warna ungu akan turun. Penurunan intensitas warna ungu dapat diukur pada panjang gelombang 517 nm (Brand-William dkk., 1995).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang terdapat pada jaringan tanaman seperti buah dan sayur yang kita konsumsi setiap hari (Hertog dkk., 1995) Katekin merupakan senyawa flavonoid yang dapat ditemukan pada teh hijau, teh hitam, anggur, dan tanaman pangan lainnya seperti buah-buahan dan kakao (Natsume dkk., 2000). Secara kimiawi katekin merupakan polihidroksi flavonoid yang menunjukkan karakteristik larut dalam air. Senyawa katekin yang terdistribusi dalam gambir terdiri atas komponen (+)-katekin dan beberapa bentuk dimer dari katekin (*procyanidin*) (Taniguchi dkk., 2007).

Gambir merupakan nama pasaran yang umum dikenal sebagai hasil ekstraksi dari daun tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Produk gambir yang banyak terdapat dipasarkan dalam bentuk bongkahan dan masih merupakan ekstrak kasar. Tanaman Gambir merupakan komoditas unggulan propinsi Sumatera Barat yang mampu memasok 90 persen kebutuhan pasar dunia dengan tujuan utama ke India, Pakistan, Singapura, Thailand dan Malaysia. Gambir merupakan produk yang sangat potensial untuk dikembangkan, hal ini didasarkan pada data hasil ekspor gambir. Realisasi ekspor gambir pada tahun 2003 mencapai US\$. 668,523 kemudian meningkat sebesar 44,6 % pada tahun 2004 menjadi US\$. 967,000. Pada tahun 2005 total nilai ekspor sebesar US\$. 622,460. dengan pencapaian produksi sebesar 13.249 Ton (Anonim, 2005).

Pemanfaatan gambir sangat luas sebagai bahan baku dalam industri, seperti industri kosmetik, pewarna tekstil, *food additif*, dan industri farmasi. Karena luasnya pemanfaatan gambir, menempatkan gambir sebagai komoditas ekspor, namun adanya senyawa lain dalam gambir sebagai *impurities* yang keberadaannya tidak dikehendaki seperti selulosa dan zat warna klorofil, sehingga produk gambir tersebut belum praktis untuk diaplikasikan dalam produk pangan. Untuk itu perlu dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak gambir yang bebas *impurities* serta memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Penggunaan berbagai jenis zat pelarut dalam ekstraksi akan memberikan perbedaan hasil ekstraksi baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penangkapan radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) ekstrak gambir dari beberapa macam sistem pelarut.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain gambir produksi Palembang yang diperoleh dari pasar tradisional Bringharjo Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan meliputi: bahan kimia standard untuk identifikasi komponen fenol gambir [(+)-katekin, (-)-katekin gallat, (-)-gallokatekin, (-)-gallokatekin gallat, (-)-epikatekin, (-)-epikatekin gallat, dan (-)-epigallokatekin gallat], asetonitril, trifloro acetic acid, BHT (*Butylated hydroxytoluene*), Rutin, sodium karbonat, reagen DPPH, metanol, aquades, etanol, etil asetat, dan reagen Folin-Ciocalteu (Sigma Chemical Co., St. Louis).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam dua kategori yaitu peralatan untuk ekstraksi dan peralatan analisis. Peralatan untuk ekstraksi yaitu: *rotary vacuum evaporator* (Vacuum-Controller VC 2), *shaker water bath*, peralatan gelas, dan kertas Whatman No. 42. Untuk analisis digunakan HPLC [Shimadzu-10A, pump LC-10AD, detector SPD-10AV, reversed-phase column C18 (250 x 4,6 mm/5 μ m)], dan spektrofotometer UV Vis (Shimadzu, UV-1650 PC).

Ekstraksi Gambir

Gambir digerus lalu di ayak (\pm 60 mesh), hasil ayakan berupa bubuk gambir. Bubuk gambir sebanyak 10 g dilarutkan dalam 100 ml zat pelarut [aquadest, etanol, ethyl asetat, campuran aquadest:etanol (1:1), dan campuran etanol:ethyl asetat (1:1)], diaduk menggunakan *shaker water bath* pada suhu 30°C, selama satu jam. Kemudian disaring dengan kertas Whatman No. 42. Residu diekstrak lagi 2 kali dengan masing-masing 100 mL pelarut. Larutan hasil ekstraksi kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*, hingga diperoleh ekstrak gambir dalam bentuk kering.

Pengujian Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol pada sampel diuji menggunakan prosedur Folin-Ciocalteu, sebagaimana didiskripsikan oleh Singleton dan Rossi (1965). Sebanyak 0,5 mL sampel dari ekstrak cair atau satu seri standar asam gallat (0, 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm) dicampur dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 50 % (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., U.S.A) dan 7,5 mL deionised water. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1,5 mL sodium karbonat 2 % (w/v). Campuran selanjutnya dipanaskan pada suhu 40°C dalam *water bath* selama 20 menit, dan secepatnya didinginkan. Kemudian diukur absorbansinya pada 755 nm. Blanko digunakan campuran aquades dan reagen. Hasilnya diekspresikan sebagai % fenol per berat sampel.

Analisis HPLC Ekstrak Gambir

Identifikasi komponen fenol ekstrak gambir menggunakan sistem HPLC, dengan *column reversed-phase* C18 (250 x 4,6 mm/5 µm). Fase mobil berupa 0,1 % Tri Floro Acetic Acid (F₃COOH) dalam air (eluent A), asetonitril:A (50:50) (eluent B). Sampel dilarutkan dalam metanol dan diinjeksikan sebanyak 20 µL, dengan kecepatan aliran 1 mL/menit. Suhu kolom diatur 40°C, dan dideteksi pada panjang gelombang 280 nm.

Pengujian Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH

DPPH dilarutkan dalam methanol. Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak gambir (100 ppm) ditambahkan kedalam 2,9 mL larutan DPPH. Campuran diinkubasi pada suhu kamar dan kondisi gelap selama 25 menit. Penurunan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 517 nm. Larutan kontrol dibuat dari 0,1 mL methanol dan 2,9 mL larutan DPPH (Brand –Williams dkk., 1995). Rutin (100 ppm) dan BHT (100 ppm) digunakan sebagai referensi.

Persentase penangkapan radikal DPPH selama inkubasi dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Penangkapan radikal DPPH} = (Abs_{10} - Abs_m) / Abs_{10} \times 100 \%$$

Analisis Statistik

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap. Semua data dianalisis menggunakan analisis variansi (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95 %. Perbedaan hasil yang signifikan diuji menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Gambir yang diekstrak menggunakan berbagai jenis pelarut memberikan rendemen yang berbeda. Aquades yang merupakan pelarut dengan polaritas tertinggi memberikan rendemen yang paling rendah dibanding ekstrak pelarut lain. Ekstrak campuran aquades:etanol (1:1) menghasilkan rendemen tertinggi (Tabel 1).

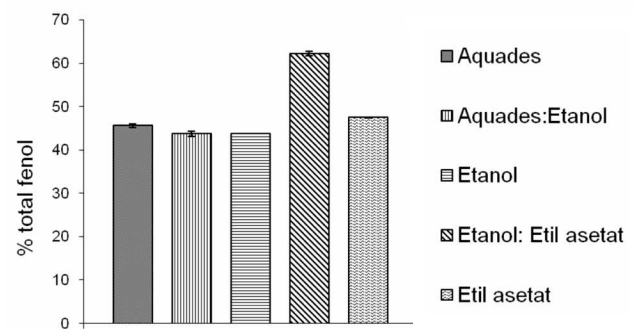
Tabel 1. Rendemen ekstrak gambir

Sampel	Rendemen (% b/b)
Ekstrak Aquades	37,12 ± 0,01
Ekstrak Aquades:Etanol (1:1)	87,15 ± 0,29
Ekstrak Etanol	77,16 ± 1,44
Ekstrak Etanol:Etill asetat (1:1)	76,60 ± 0,42
Ekstrak Etil asetat	71,65 ± 0,97

Perbedaan rendemen hasil ekstraksi tersebut dihubungkan dengan kesesuaian kisaran polaritas dari senyawa yang terekstrak dan pelarutnya. Sebagian besar komponen yang terdapat pada produk gambir berada pada kisaran indeks polaritas campuran aquades:etanol (1:1) yang cenderung polar, namun sedikit komponen yang berada pada kisaran indeks polaritas tertinggi (aquades). Makin menuju kearah non polar (etil asetat), rendemen semakin kecil.

Total Fenol

Hasil pengujian total fenol pada ekstrak gambir menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata penggunaan pelarut yang berbeda terhadap kandungan fenolnya. Ekstrak etanol:etil asetat (1:1) memiliki kadar fenol yang paling tinggi dibanding ekstrak lain, yaitu sebesar 62,13 % ± 0,53 % (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol:etil asetat (1:1) lebih efektif melarutkan komponen fenolik gambir dibanding pelarut lain yaitu aquades, aquades:etanol (1:1), etanol, dan etil asetat, yang masing-masing memiliki total fenol sebesar 45,57 % ± 0,45 %, 43,69 % ± 0,62 %, 43,75 % ± 0,0 % dan 47,44 % ± 0,08 %.



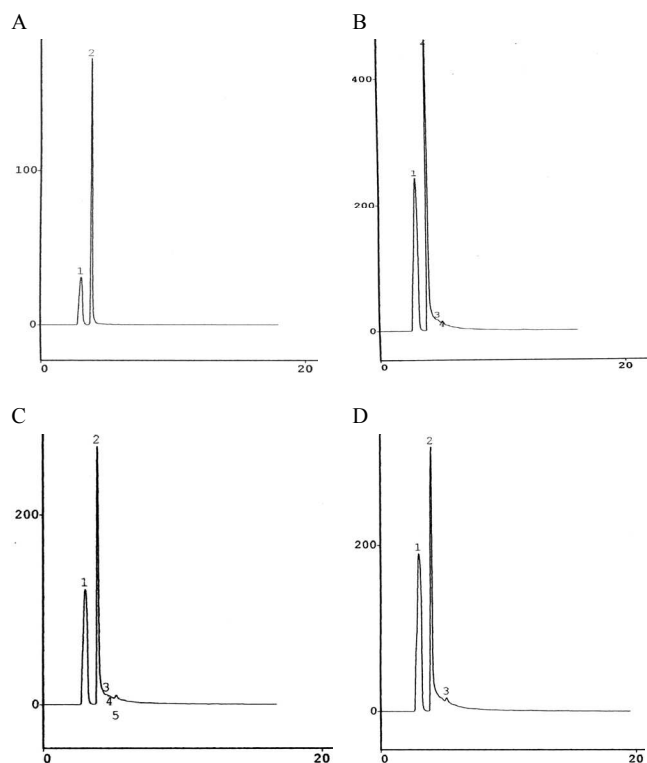
Gambar 1. Total fenol ekstrak gambir dalam berbagai kombinasi pelarut

Perbedaan kandungan total fenol dari beberapa ekstrak gambir tersebut dapat dijelaskan bahwa setiap pelarut memiliki efektifitas yang berbeda dalam melarutkan senyawa fenolik, tergantung pada kesesuaian polaritas dari pelarut dan senyawa fenolik. Pelarut etanol:etil asetat (1:1) memiliki kisaran indeks polaritas yang lebih sesuai dengan indeks polaritas komponen fenolik gambir dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan campuran aquades:etanol. Ekstrak aquades:etanol (1:1) meskipun memiliki rendemen tertinggi, namun kandungan senyawa fenolnya rendah.

Identifikasi Komponen Fenolik Ekstrak Gambir

Identifikasi komponen fenol ekstrak gambir menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Beberapa senyawa katekin standar diinjeksikan ke HPLC untuk

menentukan waktu retensinya (RT) yang dijadikan sebagai acuan untuk mengidentifikasi komponen fenol ekstrak gambir. Kromatogram katekin standar dan ekstrak gambir disajikan pada Gambar 2.

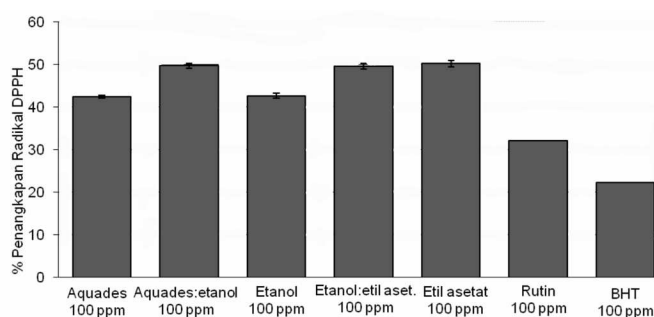


Gambar 2. Kromatogram ekstrak gambir, (A) (+)-katekin standar (RT: 3,873 mnt), (B) ekstrak aquades:etanol, (C) ekstrak etanol:etil asetat, (D) ekstrak etil asetat. Puncak 1 (pelarut), puncak 2 (katekin)

Gambar 2. Menunjukkan bahwa ekstrak aquades:etanol (1:1), etanol:etil asetat (1:1), dan etil asetat teridentifikasi memiliki komponen mayor yang sama yaitu (+)-katekin, hal tersebut ditunjukkan oleh kromatogram ekstrak gambir yang sesuai waktu retensinya dengan kromatogram standar (+)-katekin.

Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH

Telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap beberapa ekstrak gambir dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan diekspresikan dengan persentase penangkapan radikal DPPH pada inkubasi selama 25 menit setelah penambahan ekstrak gambir pada larutan DPPH, dibandingkan dengan rutin dan BHT (Gambar 3). Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh besarnya persentase penangkapan radikal DPPH selama inkubasi. Makin besar persentase penangkapan radikal DPPH, semakin besar aktivitas antioksidannya.



Gambar 3. Grafik persentase penangkapan radikal DPPH pada ekstrak gambir yang diuji pada konsentrasi 100 ppm

Secara umum ekstrak gambir memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lebih tinggi dari rutin (32,07 % ± 0,75 % dan BHT (22,04 % ± 0,80 %). Ekstrak gambir yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah ekstrak aquades:etanol (1:1), ekstrak etanol:etil asetat (1:1), dan ekstrak etil asetat. Ketiga macam ekstrak tersebut memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang tidak berbeda nyata, masing-masing sebesar 49,70 % ± 0,60 %, 49,52% ± 0,68 %, dan 50,13 % ± 0,74 %. Sedangkan ekstrak aquades (42,45 % ± 0,31 %) dan ekstrak etanol (42,62 % ± 0,55 %) memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lebih rendah dibanding ekstrak gambir yang lain.

Ekstrak etanol:etil asetat (1:1) meskipun memiliki kandungan fenol tertinggi, namun memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak aquades:etanol (1:1) dan etil asetat. Demikian pula ekstrak aquades:etanol (1:1) memiliki kandungan fenolik total yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak etanol, namun ekstrak aquades:etanol (1:1) menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lebih tinggi dari ekstrak etanol. Hal ini menunjukkan bahwa tingginya aktivitas penangkapan radikal DPPH tidak hanya ditentukan oleh kandungan total fenolnya, tetapi juga dipengaruhi oleh bentuk dimer atau oligomer dari senyawa fenolnya. Hal ini sesuai dengan laporan Osakabe, dkk (2001) bahwa senyawa (+)-katekin memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda dengan bentuk oligomernya.

KESIMPULAN

Gambir merupakan produk yang potensial untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alam, karena memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lebih tinggi dari rutin dan BHT. Ekstrak aquades:etanol (1:1), etanol:etil asetat (1:1), dan etil asetat memberikan aktivitas penangkapan radikal DPPH yang tertinggi. Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa komponen utama ekstrak gambir adalah (+)-katekin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Kementerian Negara Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui program "Insentif 2007".

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2005). Gambir Sumatera Barat menguasai 90 % pasar dunia. <http://agribisnis.deptan.go.id>. [30 Maret 2007]
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., dan Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **29**: 25-30.
- Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, J. M., Hollman, C. H. dan Katan, M.B. (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine* **155**: 381-386.
- Natsume, M., Osakabe, N., Yamagishi, M., Takizawa, T., Nakamura, T., Miyatake, H., Hatano, T. dan Yoshida, T. (2000). Analysis of polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **64**: 2581-2587.
- Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., Takizawa, T., Terao, J. dan Kondo, K., 2002. Catechins and their oligomers linked by C4 → C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low-density lipoprotein from oxidation in vitro. *Experimental Biology and Medicine* **227**: 51-56.
- Prior, R.L., Wu, X., dan Scaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 4290-4302.
- Singleton, V.L. dan Rossi, J. A. (1965). Colorimeter of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**: 144-158.
- Taniguchi, S., Kuroda, K., Doi, K., Tanabe, M., Shibata, T., Yoshida, T. dan Hatano, T. (2007). Revised structures of gambirin A1, A2, B1, and B2, chalcane-flavan dimers from gambir (*Uncaria Gambir* Extract). *Chemistry and Pharmaceutical Bulletin* **55**: 268-272.