

Daya Reduksi Ekstrak Etanol Biji *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, dan *Aquilaria beccariana* terhadap Ion Ferri (Fe^{3+}) dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Liling Triyasmono¹, Beny Rahmanto², Wawan Halwany², Fajar Lestari²,
Muhammad Ikhwan Rizki^{1,3}, Khoerul Anwar^{1*}

¹Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

²Balai Penelitian dan Pengembangan Lingkungan Hidup dan Kehutanan, Banjarbaru

³Program Studi Profesi Apoteker FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

*Email: khoerul.anwar@unlam.ac.id

ABSTRAK

Daya reduksi merupakan salah satu indikator potensi aktivitas suatu senyawa sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan daya reduksi ekstrak etanol biji *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, dan *Aquilaria beccariana* terhadap Ion Ferri (Fe^{3+}). Serbuk kering biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* dimaserasi menggunakan etanol 70%. Daya reduksi ditentukan dengan metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) yang didasarkan atas kemampuan senyawa dalam mereduksi senyawa besi(III)-tripiridil-triazin menjadi besi(II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 598 nm. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* mempunyai daya reduksi berturut-turut sebesar $6,39 \pm 1,58$; $119,95 \pm 28,04$; dan $62,12 \pm 6,57$ μ M ekivalen troloks/g ekstrak.

Kata kunci: biji, *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria beccariana*, FRAP

ABSTRACT

Reducing power is one indicator of potential antioxidant activity of a compound. This study aims to determine the reduction power of the ethanol extract of the seeds of Aquilaria microcarpa, Aquilaria malaccensis, and Aquilaria beccariana against Ferric ion (Fe^{3+}). Dry powder of A. microcarpa, A. malaccensis, and A. beccariana seeds was macerated using 70% ethanol. Reducing power determined using FRAP (ferric reducing antioxidant power) that is based on the ability of the compounds in reducing iron compounds (III) -tripiridil-triazine to iron (II) -tripiridil triazine at pH 3.6. The absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 598 nm. The results showed ethanol extract of seeds of A. microcarpa, A. malaccensis, and A. beccariana have

reducing power of 6.39 ± 1.58 ; 119.95 ± 28.04 ; and $62.12 \pm 6.57 \mu\text{M}$ troloks equivalents / g extract respectively.

Key words: *seeds, Aquilaria microcarpa, Aquilaria malaccensis, Aquilaria beccariana, FRAP*

I. PENDAHULUAN

Suatu hal paling umum disebut dalam patogenesis penyakit kronis adalah stress oksidatif yang melepaskan radikal bebas sebagai penyebab kerusakan endogen utama dalam sistem biologi. Kerusakan endogen ini sering dikaitkan dengan berbagai gangguan dan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular gangguan fungsi imun, dan penuaan (Carocho and Ferreira, 2013). Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan. Untuk mendapatkan stabilitas, radikal bebas menangkap elektron dari senyawa lain sehingga senyawa tersebut menjadi radikal bebas yang akan menyerang senyawa lain untuk mendapatkan stabilitas sehingga akan memicu reaksi berantai. Hal ini akan mengakibatkan disintegrasi membran dan komponen sel, termasuk lipid, protein dan asam nukleat (Rahman, 2007). Kerusakan plasma darah juga dapat terjadi akibat adanya radikal bebas (Rizki *et al.*, 2017)

Penelitian ini dilakukan pada ekstrak etanol biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana*. Tujuan

penelitian ini adalah menentukan daya reduksi ekstrak etanol biji *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, dan *Aquilaria beccariana* terhadap Ion Ferri (Fe^{3+}) dengan menggunakan metode FRAP. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat mendukung pengembangannya tanaman gaharu sebagai agen antioksidan alami dengan melakukan skrining pada biji beberapa spesies tanaman penghasil gaharu.

II. METODE

A. Alat dan Bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu neraca analitik (Ohaus), blender (Miyako), alat gelas (Iwaki Pyrex), ayakan, desikator, bejana maserasi, *vacuum rotary evaporator* (IKA), oven (Memmert), pH meter, mikropipet (Socorex), *waterbath*, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimidzu).

Bahan-bahan yang digunakan, yaitu biji tanaman gaharu dari spesies *A. microcarpa*, *A. malaccensis* dan *A. beccariana*, etanol 96% (Brataco), akuades, bufer asetat 300 mM pH 3,6; metanol p.a (Merck), HCl (Merck), troloks (Sigma-

Aldrich), TPTZ (2,4,6-tri[2-pyridyl]-s-triazine) (Sigma-Aldrich), FeCl₃·6H₂O (Sigma-Aldrich,) aquadest, dan kertas saring.

B. Cara Kerja

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Biji

Biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* disortasi basah (dibersihkan dari benda-benda asing dan kotoran) dan dicuci bersih dengan air mengalir. Setelah ditiriskan biji dikeringanginkan menggunakan oven sampai kering. Sampel yang kering disortasi kering (dipisahkan dari benda-benda asing). Biji dihaluskan menggunakan *blender*, lalu serbuk yang didapat diayak dengan pengayak no. 25 dan kemudian disimpan dalam wadah bersih.

Serbuk biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* masing-masing dimaserasi dengan etanol 70%, selama 24 jam. Maserat disaring menggunakan kertas saring dan residu yang tersisa diremaserasi sebanyak 2 kali. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga terjadi penyusutan ekstrak, selanjutnya di-*waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental. Dari ekstrak kental yang didapat, dilakukan penghitungan rendemen dan pemeriksaan organoleptik.

2. Penentuan daya reduksi dengan metode Metode FRAP

Pereaksi FRAP dibuat dengan campuran bufer asetat 300 mM pH 3,6; TPTZ (2,4,6-tri[2-pyridyl]-s-triazine) 10 mM dalam 40 mM HCl; dan 20 mM FeCl₃·6H₂O dengan nisbah 10:1:1.

Sebanyak 12,5 mg trolox ditimbang seksama dan dilarutkan dengan 10 mL metanol menggunakan labu ukur sehingga didapat konsentrasi trolox 5 mM. Sejumlah 0,4; 4; 8; 12; dan 16 ml trolox 5 mM diambil dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan metanol pa hingga tanda batas sehingga didapatkan seri konsentrasi trolox sebesar 20, 200, 400, 600, dan 800 µM trolox (1 µM = 10⁻³ mmol/L). Sebanyak 150 µl masing-masing seri larutan trolox tersebut ditambahkan 4,5 ml pereaksi FRAP kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu 30 °C dan diukur absorbansinya pada 598 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persamaan kurva baku dibuat berdasarkan data konsentrasi dan absorbansi seri larutan trolox

Sejumlah sampel ditimbang seksama, kemudian dilarutkan ke dalam pelarut metanol pa. sehingga didapat larutan sampel dalam konsentrasi tertentu.

Sebanyak 150 µl larutan sampel ekstrak ditambahkan 4,5 ml pereaksi FRAP kemudian didiamkan selama 30

menit pada suhu 30 °C dan diukur absorbansnya pada 598 nm. Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam μmol troloks/g ekstrak. Pengukuran ini dilakukan dengan replikasi 3 kali untuk masing-masing sampel (Benzie & Strain, 1996).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketiga sampel dikeringkan menggunakan oven suhu 50°C. Pengerinan bertujuan agar bahan dapat disimpan dalam waktu lama. Proses pengeringan juga dapat menghentikan reaksi enzimatis. Apabila reaksi enzimatis dihentikan, maka enzim akan menjadi tidak aktif sehingga tidak terjadinya penguraian bahan aktif pada biji gaharu (Krisyanella *et al*, 2012).

Pelarut yang digunakan untuk menyari yaitu etanol 70% karena memiliki penetrasi yang baik dalam menembus dinding sel sampel. Penggunaan pelarut etanol 70% lebih baik dibandingkan etanol murni karena mampu menarik senyawa metabolit sekunder lebih banyak (Tiwari *et al.*, 2011).

Nilai rendemen menunjukkan bobot senyawa metabolit sekunder yang dapat tersari dari suatu sampel. Rendemen dan hasil uji organoleptik dari ekstrak ditunjukkan pada Tabel I.

Tabel I. Rendemen dan organoleptik ekstrak

Sampel	Rendemen (%)	Organoleptik
<i>A. microcarpa</i>	1,80	Warna coklat, bau khas lemak, rasa getir, dan konsistensi semipadat
<i>A. malaccensis</i>	2,00	Warna coklat muda, bau khas lemak (kuat), rasa getir, dan konsistensi semipadat
<i>A. beccariana</i>	4,20	Warna coklat, bau khas ekstrak, rasa getir, dan konsistensi semipadat Konsistensi : Semipadat

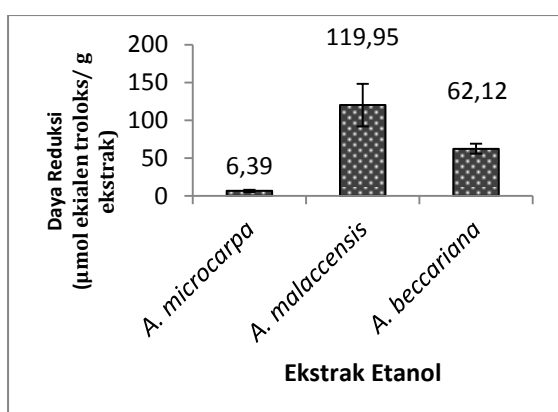
Pada ketiga ekstrak nilai rendemen terbesar pada ekstrak etanol biji *A. beccariana*, diikuti *A. malaccensis*, dan *A. macrocarpa*. Semakin tinggi rendemen menunjukkan semakin banyak ekstrak yang dapat diperoleh (Anwar dan Triyasmono, 2016). Rendemen pada sampel biji umumnya tidak sebesar nilai rendemen pada daun maupun buah. Daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diekstraksi dengan etanol 96% mempunyai rendemen berturut-turut sebesar 15,74 dan 15,78% (Wigati *et al.*, 2017). Demikian juga dengan ekstraksi herba lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz.) dengan pelarut etanol 70% yang rendemennya 24,75% (Zaini *et al.*, 2016).

Biji memiliki karakteristik yang keras, sehingga pelarut sulit untuk

menembus seluruh bagian sampel meskipun sudah dalam bentuk serbuk. Biji juga umumnya mengandung senyawa lipid, sehingga metabolit sekunder tidak banyak terkandung di dalamnya.

Hasil uji organoleptik ketiga ekstrak menunjukkan warna yang identik karena berasal dari genus yang sama. Bau dari ketiga ekstrak berbau khas lemak. Hal tersebut disebabkan tingginya kandungan lemak (lipid) di dalam biji. Rasa getir menunjukkan karakteristik khas dari suatu biji. Konsistensi dari ketiga ekstrak yaitu semipadat. Hal tersebut disebabkan tujuan pembuatan ekstrak yaitu ekstrak kental. Selain itu, lipid pada biji juga menyebabkan ekstrak tersebut sulit menjadi kering.

Daya reduksi ekstrak biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* dengan metode FRAP ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil daya reduksi ekstrak etanol biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* terhadap Ion Ferri (Fe^{3+}) dengan Metode FRAP

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* memiliki kemampuan mereduksi ion ferri (Fe^{3+}). Hal tersebut dapat menggambarkan bahwa ketiga sampel memiliki aktivitas antioksidan. Kemampuan mereduksi terbesar ditunjukkan oleh ekstrak biji *A. malaccensis*. Hasil pengujian dengan metode FRAP dipengaruhi oleh banyaknya reduksi dari *ferri-tripyridyl triazine* (Fe (III)-TPTZ) berubah menjadi *ferro-tripyridyl-triazine* (Fe (II)-TPTZ) oleh pereduksi atau reduktan (Benzie dan Strain, 1996). Pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 598 nm. Larutan berwarna biru yang terbaca pada daerah visibel.

Kemampuan daya reduksi ion ferri (Fe^{3+}) dengan metode FRAP yang dapat menggambarkan aktivitas antioksidan memiliki keterbatasan. Uji aktivitas antioksidan pada metoda FRAP umumnya akan menggambarkan aktivitas antioksidan yang tinggi pada senyawa yang bersifat polar dibandingkan yang bersifat nonpolar (Arif *et al.*, 2014). Diperlukan uji aktivitas antioksidan dengan metode lain untuk mendukung kemampuan antioksidan suatu sampel.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji *A. microcarpa*, *A. malaccensis*, dan *A. beccariana* mempunyai daya reduksi berturut-turut sebesar $6,39 \pm 1,58$; $119,95 \pm 28,04$; dan $62,12 \pm 6,57$ μM ekivalen troloks/g ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, K., dan Triyasmono, L., 2016, Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), *Jurnal Pharmascience*, 3(1): 83 -92
- Arif, Y., Jose, C., Teruna, H., 2014, Total Fenolik, Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Diklorometan dan Metanol *Amaranthus Spinosus* L Em5-Bawang Putih, JOM FMIPA VOLUME 1 No. 2 Oktober 2014
- Benzie, I.F.F. dan Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70-76.
- Carocho and Ferreira, 2013, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology* **51** (2013) 15–25
- Krisyanella, Dachriyanus, dan Marlina. 2012. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak serta Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Daun Karangmunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (W.Ait) Hassk). *Artikel Program Master*. Universitas Andalas, Padang
- Rahman, 2007, Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors, *Clinical Interventions in Aging* 2007:2(2) 219–236.
- Rizki, M., Nurkhasanah., Yuwono, T., Nuraini, L., Kraisintu, K., 2017, Antioxidant Activity Of Nanoparticle From Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Calyx Extract Originated Indonesia And Thailand., *RJPBCS*, 8(1S), January – February 2017(Suppl.)
- Tiwari, P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., dan Kaur H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. *International Pharmaceutica Scienta*. **1** (1) : 98-106.
- Wigati, D., Anwar, K., Sudarsono, dan Nugroho, A.E., 2017, Hypotensive Activity of Ethanolic Extracts of *Morinda citrifolia* L. Leaves and Fruit in Dexamethasone-Induced Hypertensive Rat. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 22(1):107-113
- Zaini, M., Biworo, A., dan Anwar, K., 2016, Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz) Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Karagenin- Λ . *Jurnal Pharmascience*, 03(02): 119 -130