SKRINING FITOKIMIA, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN KADAR TOTAL FENOL-FLAVONOID EKSTRAK DAUN DAN BUAH TANAMAN GALAM RAWA GAMBUT (*Melaleuca cajuputi* ROXB)

Screening of Phytochemical, Antioxidant Activity and Total Phenolic-Flavonoid of Leaves and Fruit Extract of Galam Rawa Gambut (Melaleuca cajuputi ROXB)

Raden Roro Ariessanty Alicia Kusuma Wardhani*, Okviyoandra Akhyar, Emilda Prasiska
Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Islam Kalimantan Muhammad Arsyad Al-Banjari
Jl. Adyaksa No. 2 Kayutangi, Banjarmasin 70123, Kalimantan Selatan, Indonesia
*e-mail: aries.santy@gmail..com

Abstrak. Hutan galam merupakan hutan khas Kalimantan Selatan yang mampu tumbuh pada lahan gambut. Umumnya daun galam digunakan sebagai obat hebal dan buahnya sebagai pengganti merica serta bahan tambahan jamu. Potensi galam yang dapat digunakan sebagai herbal, mendasari dilakukan penelitian mengenai skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan kadar total fenol-flavonoid. Analisis dilakukan terhadap ekstrak etanol daun dan buah tanaman galam. Senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, polifenol, kuinon, flavonoid dan saponin terdapat pada ekstrak etanol daun galam. Ekstrak etanol buah mengandung senyawa golongan polifenol, kuinon, flavonoid dan saponin. Konsentrasi total fenol ekstak etanol daun dan buah galam ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan diperoleh hasil masing-masing 18,3615 ppm dan 40,2926 ppm. Kadar total fenol, beturut-turut sebesar 16,52535 mg GAE/mg ekstrak dan 36,26334 mg GAE/mg ekstrak. Konsentrasi total flavonoid ditentukan menggunakan metode $AlCl_3$ dan diketahui nilainya sebesar 0,1146 ppm dan 0,0076 ppm. Kadar total flavonoid ekstrak daun dan ekstrak buah sebesar 0,3438 mg QE/g ekstrak dan 0,0228 mg QE/g ekstrak. Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2- picrylhidrazyl) dengan senyawa pembanding asam askobat. Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa besar nilai IC_{50} ekstrak etanol daun dan buah sebesar 54,4906 ppm dan 37,3752 ppm sedangkan asam askorbat sebesar 9,887 ppm.

Kata kunci: galam (*Melaleuca cajuputi* ROXB), skrining fitokimia, total fenol, total flavonoid**,** antioksidan, gambut

Abstract. *Galam forest is a typical forest in Kalimantan Selatan which is capable of growing on peat land. Generally, galam leaves are used as an herbal medicine and the fruits are used as a substitute for pepper as well as herbs additional material. Galam potential that can be used as herbs underlying the research done on phytochemical screening, antioxidant activity and the fenol-flavonoid total level. Analysis was done to leaves and fruit ethanol extract of galam plant. Compounds of secondary metabolite of alkaloid, polyphenol, quinone, flavonoid and saponin were found in galam leaves ethanol extract. Fruit ethanol extract contained compounds of the polyphenol, quinone, flavonoid and saponin. The total concentration of phenol from galam leaves and fruit ethanol extract were defined by using Folin-Ciocalteu method and the results were each 18,3615 ppm and 40,2926 ppm while the total of phenol level were as much as 16,52535 mg GAE/mg of*

extract and 36,26334 mg GAE/mg of extract . The total concentration of flavonoid was specified by using the method of $AlCl_3$ and the values were 0,1146 ppm and 0,0076 ppm . The total levels of leaves and fruit extract flavonoid were as much as 0,3438 mg QE/g of extract and 0,0228 mg QE/g of extract. Antioxidant activity was specified by using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl) method with ascorbic acid as the comparison compounds. Antioxidant testing result showed that the values of leaves ethanol extract IC_{50} were 54,4906 ppm and 37,3752 ppm, while ascorbic acid was 9,887 ppm .

Keywords: *galam (Melaleuca cajuputi* ROXB*), screening of phytochemical, total phenol,total flavonoids, antioxidant, peat*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam yang tersebar di seluruh penjuru negeri yang terdiri atas ribuan pulau. Salah satu kekayaan alam tersebut adalah berbagai macam tanaman yang memiliki ciri khas dari masing-masing daerah tempat tumbuhnya. Hutan galam merupakan hutan khas Kalimantan Selatan yang mampu tumbuh pada tanah rawa gambut. Tanah rawa gambut memiliki tingkat kemasaman tanah yang cukup tinggi. Tiap bagian tanaman galam dapat dimanfaatkan seperti daun, buah dan kayu. Kayu galam dimanfaatkan sebagai kayu pondasi pendirian bangunan dan jembatan. Daun galam biasanya digunakan sebagai obat herbal dan buahnya digunakan sebagai pengganti merica dan bahan tambahan jamu. Umumnya masyarakat Kalimantan Selatan lebih menyukai penggunaan obat herbal untuk proses penyembuhan dengan proses pengolahan yang telah didapat secara turun temurun.

Tanaman Galam rawa gambut yang ada di Kalimantan Selatan merupakan spesies *Melaleuca cajuputi* Roxb. Tanaman galam ini merupakan anggota genus *Melaleuca* dan termasuk ke dalam famili Myrtaceae. Penelitian pada genus *Melaleuca* yang telah dilakukan adalah pemanfaatan minyak atsiri *Melaleuca alternifolia* sebagai anti mikroba (Kulkarni *et al.*, 2012) dan uji in vitro ekstrak *Tea Tree (Melaleuca alternifolia*) terhadap tungau *Sercoptes scabiel* pada kambing (Dewi & Haryuningtyas, 2008). Pujiati (2013) menentukan aktivitas insektisida minyak atsiri *Melaleuca leucadendron* yang diambil dari daerah sukun, Jawa Timur. Noumi *et al.*, (2011) menentukan komposisi kimia, antioksidan dan antijamur *Melaleuca alternifolia*. Jemi & Saputra (2013) melakukan isolasi dan uji anti jamur senyawa sineol daun *Melaleuca cajuputi* ROXB dari hutan rawa gambut di Palangkaraya.

Teori modern telah menetapkan bahwa metabolit sekunder dinyatakan sebagai hasil dari rangsangan eksternal. Suatu organisme dapat menghasilkan kelompok metabolit yang sama sekali berbeda tergantung pada kondisi lingkungan, durasi dan intensitas stres, komposisi, dan plastisitas genetik tanaman (Silva, 2007). Spesies *Melaleuca* yang tumbuh di Kalimantan Selatan akan memiliki *chemotype* yang berbeda dengan spesies *Melaleuca* yang tumbuh di daerah lain seperti Pulau Jawa karena kondisi lingkungan yang berbeda.

Penelitian terhadap pemanfaatan *Melaleuca cajuputi* ROXB yang berasal dari hutan rawa gambut di Kalimantan Selatan sampai saat ini belum banyak dilakukan. Mengingat tanaman galam merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi atau manfaat sebagai herbal maka dilakukan penelitian skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan kadar total fenol-flavonoid terhadap daun dan buah galam (*Melaleuca cajuputi* ROXB) rawa gambut di Kalimantan Selatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan penentuan kadar total fenol-flavonoid terhadap daun dan buah galam adalah tabung reaksi, gelas kimia, sentrifuse, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, kuvet, labu takar, gelas ukur, neraca analitik, spatula, water bath, botol semprot, blue tip. Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun dan buah tanaman galam segar, reagen Mayer (Merck), reagen Dragendorf (Merck), HCl pekat (Merck), bubuk Mg, $FeCl_3$ (Merck), etanol absolut (Merck), asam asetat glasial (Merck), asam sulfat pekat (Merck), reagen Folin-Ciocalteau (Merck), Na_2CO_3 (Merck), HCl (Merck), metanol (Merck), *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) (Merck), NaOH (Merck), Quersetin (Merck), Asam Galat (Merck), kalium asetat (Merck), aquades, kertas saring, asam askorbat, aluminium foil.

Pembuatan Ekstrak

Proses Pembuatan ekstrak mengacu pada prosedur yang digunakan oleh Wardhani (2018) dengan beberapa modifikasi. Sampel daun dan buah tanaman galam dicuci bersih dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C. Setelah sampel kering, masing-masing sampel dihaluskan menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia ditimbang sebanyak 60 g dan dimaserasi dalam etanol 70% dengan perbandingan 1 : 5 selama 1 minggu. Pengadukkan dilakukan setiap hari agar semua permukaan mengenai pelarut. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3x. Ekstrak yang diperoleh diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 70°C sampai terbentuk cairan kental, selanjutnya diuapkan menggunakan cawan porselin.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terdiri atas uji alkaloid, uji fenol, uji flavonoid, uji polifenol, uji saponin, uji kuinon dan uji terpenoid.

Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen Mayer dan Dragendorff. Uji reagen Mayer: menambahkan sejumlah ekstrak ditambah 1 mL HCl 2 N dan 1mL reagen Mayer. Uji reagen Dragendorff: sejumlah ekstrak ditambah dengan 1 mL reagen Dragendorf. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada ekstrak dengan penambahan reagen Mayer dan endapan jingga pada reagen Dragendorff.

Uji Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL etanol 95% kemudian campuran dikocok. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Uji Polifenol

Uji fenolik dilakukan dengan mereaksikan ekstrak etanol daun galam dengan larutan $FeCl_3$ 1%. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman.

Uji Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan mereaksikan ekstrak daun kayu galam dengan 0,5 mL etanol, 0,5 mL asam asetat anhidrat, dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau dan biru (triterpenoid), dan merah atau ungu (steroid).

Uji Saponin

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas dan dikocok kuat. Busa yang stabil akan terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

Uji Kuinon

Sejumlah sampel ditambahkan NaOH 1 N kemudian diamati perubahan warnanya. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning sampai merah.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan induk dibuat dengan melarutkan kristal DPPH sebanyak 1 mg dalam etanol 96% sampai 50 mL (20 ppm). Seri konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Ekstrak etanol daun galam dibuat menjadi berbagai konsentrasi, mulai 0 ppm hingga 40 ppm. Larutan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25^{o}C dan dalam keadaan gelap. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan etanol sebagai larutan blanko. Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan persentase peredaman radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan persen peredaman aktivitas antioksidan ekstrak terhadap radikal bebas DPPH. Aktivitas penangkap radikal DPPH(%) dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas} = \frac{(\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel})}{\text{Abs. blanko}} \text{ x } 100\%$$

Berdasarkan nilai aktivitas antioksidan atau aktivitas penangkap radikal (%) dapat dibuat grafik regresi liner dengan persamaan y = ax + b dimana y sebagai aktivitas antioksidan atau aktivitas penangkap radikal (%) dan x sebagai konsentrasi ekstrak. Nilai IC_{50} dapat dihitung melalui persamaan regresi linier tersebut. IC_{50} adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% DPPH. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

Kadar Total Fenol

Larutan standar menggunakan asam galat dibuat berbagai konsentrasi, yaitu 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Data hasil absorbansi digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier sederhana y= ax+b, dimana y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi. Sampel ekstrak etanol sebanyak 10 mL dilarutkan dalam etanol sampai 25 mL, dihomogenisasi dan didiamkan selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji selanjutnya. Penentuan kadar fenol dilakukan dengan mereaksikan sampel sebanyak 1 mL dengan 5 mL aquades, 2 mL Folin-Ciocalteau, dan 2 mL Na_2CO_3 10%. Sampel selanjutnya dihomogenisasi dan didiamkan selama 30 menit. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Konsentrasi ekstrak diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan regresi liner kurva standar.

$$\text{Kadar Total Fenol per Berat Sampel} = \frac{CxvxFp}{m}$$

Keterangan:
C = konsentrasi total fenol; v = volum sampel (L); Fp = faktor pengenceran;
m = massa ekstrak (g)

Kadar Total Flavonoid

Larutan standar berupa quersetin dibuat berbagai konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 10 ppm. Data hasil absorbansi digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier sederhana y = ax+b, dimana y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi. Ekstrak sebanyak 10 mL dilarutkan dalam metanol sampai 25 mL, kemudian dihomogenisasi dan didiamkan selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh sebanyak 25 mL kemudian ditambah dengan 25 mL HCl 25% dalam aseton dan diletakkan dalam pendingin, selanjutnya dipanaskan pada suhu 100^{O}C selama 30 menit, dan dengan segera didinginkan. Sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan dengan 5 mL $AlCl_3$ 5% dalam metanol, kemudian diencerkan sampai 25 mL dengan menggunakan metanol. Sampel selanjutnya dihomogenisasi dan didiamkan 5 menit. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Konsetrasi ekstrak diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan regresi liner kurva standar. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai jumlah gram kuersetin ekuivalen tiap gram ekstrak.

$$\text{Kadar Total Flavonoid per Berat Sampel} = \frac{CxvxFp}{m}$$

Keterangan:
C = konsentrasi Total Flavonoid; v = volum sampel (L);
Fp = faktor pengenceran; m = massa ekstrak (g)

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun dan buah tanaman galam sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai herbal atau obat alami. Pada skrining fitokimia ini, dilakukan uji golongan polifenol, alkaloid, flavonoid, kuinon dan saponin. Berikut ini adalah hasil skrining fitokimia ekstrak daun dan buah.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun dan buah

Skrining Fitokimia	Ekstrak Daun	Ekstrak Buah	Keterangan
Uji Alkaloid	+	-	Uji positif: Reagen mayer: adanya endapan putih Reagen dragendorff: adanya endapan berwarna jingga
Uji Flavonoid	+	+	Uji positif: terbentuk warna jingga
Uji Polifenol	+	+	Uji positif: terbentuknya warna hijau
Uji terpenoid	-	-	Uji positif: terbentuknya warna hijau, biru, merah atau ungu
Uji Saponin	+	+	Uji positif: terbentuk busa stabil
Uji Kuinon	+	+	Uji Positif: ditandai dengan warna kuning

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 1, maka diketahui bahwa ekstrak daun mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin dan kuinon. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak buah adalah flavonoid, polifenol, saponin dan kuinon. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya perbedaan jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun dan ekstrak buah. Perbedaan terletak pada senyawa golongan alkaloid.

Adanya kandungan antioksidan dalam tanaman seperti senyawa fenolik, flavonoid, tanin dan proantosianin dapat digunakan untuk mengobati sejumlah penyakit, contohnya konsumsi antioksidan alami penyembuhan penyakit degradatif (Gulcin, 2012). Efek antibakteri dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman biasanya karena ada saponin, flavonoid, tanin, kuinon, fenol, dan lektin (Priosoeryanto, 2005).

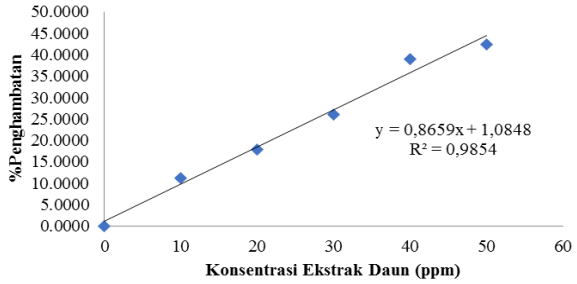
Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak daun dan buah tanaman galam diuji menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah asam askorbat. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ektrak daun tanaman galam pada panjang gelombang 518,90 nm sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun galam

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Penghambatan
0	0,6014	0,0000
10	0,5342	11,1739
20	0,4940	17,8583
30	0,4444	26,1058
40	0,3670	38,9757
50	0,3471	42,2847

Berdasarkan data tersebut maka dapat diperoleh grafik hubungan antara aktivitas antioksidan terhadap konsentrasi ekstrak daun galam.



Gambar 1. Grafik aktifitas antioksidan ekstrak daun galam

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut maka dapat diperoleh Nilai IC_{50}. Nilai ini menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%.

Tabel 3. Nilai IC_{50} ekstrak daun galam dan senyawa pembanding

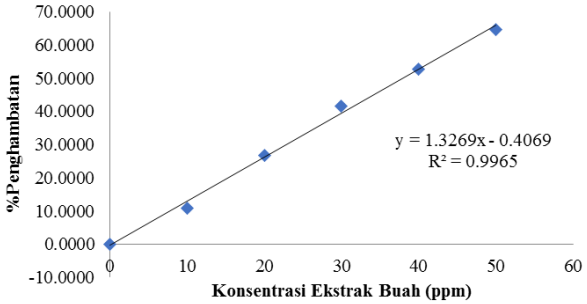
Sampel	IC_{50} (ppm)
Ekstrak kulit daun	56,4906
Asam askorbat	9,8870

Aktivitas antioksidan ekstrak buah diukur pada konsentrasi dan panjang gelombang yang sama. Berikut adalah hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak buah galam.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak buah galam

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Penghambatan
0	0,6027	0,0000
10	0,5376	10,8014
20	0,4414	26,7629
30	0,3524	41,5298
40	0,2849	52,7294
50	0,2123	64,7752

Berdasarkan data tersebut maka dapat diperoleh grafik hubugan antara aktivitas antioksidan terhadap konsentrasi ekstrak buah galam.



Gambar 2. Grafik aktifitas antioksidan ekstrak buah galam

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut maka dapat diperoleh nilai IC_{50}. Berikut adalah nilai IC_{50} ekstrak daun galam dan senyawa pembanding yang digunakan.

Tabel 5. Nilai IC_{50} ekstrak buah galam dan senyawa pembanding

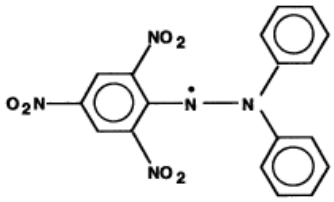
Sampel	IC_{50} (ppm)
Ekstrak buah	37,3752
Asam askorbat	9,8870

Menurut Molyneux (2004), parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm (IC_{50} < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC_{50} < 100 ppm), sedang (100 ppm < IC_{50} < 150 ppm), lemah (150 ppm < IC_{50} < 200 ppm), dan sangat lemah (IC_{50} > 200 ppm).

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak daun dan buah tanaman galam aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 56,4906 ppm dan 37,3752 ppm. Nilai IC_{50} asam askobat yang merupakan senyawa pembanding adalah 9,8870 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} maka ekstrak daun galam memiliki intensitas antioksidan yang kuat (50 ppm < IC_{50} < 100 ppm) sedangkan ekstrak buah dan asam askorbat sebagai senyawa pembanding memiliki intensitas antioksidan yang sangat kuat (IC_{50} < 50 ppm).

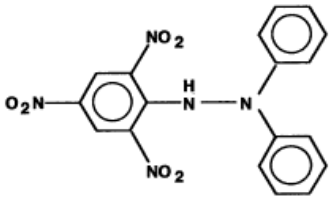
Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl*-2-*picrylhydrazil* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl*-2-

picrylhydrazil akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm.



Gambar 3. Struktur 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal bebas

Ketika 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dicampur dengan larutan yang dapat memberikan satu atom hidrogen maka DPPH akan membentuk ikatan dengan atom hidrogen (Gambar 4) yang ditandai dengan hilangnya warna ungu.



Gambar 4. Struktur 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) bukan radikal bebas

Hal tersebut menunjukkan bahwa antioksidan bereaksi dengan yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH sehingga terjadi perubahan warna dengan berkurangnya intensitas warna ungu dan menjadi berwarna kuning pucat. Intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan. Semakin kecil intensitas warna larutan antioksidan dan makin kecil nilai absorbansinya maka menunjukkan makin tinggi kemampuan antioksidannya.

Total Fenol

Total fenol ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu pada panjang gelombang maksimum asam galat adalah 748 nm. Larutan standar yang digunakan adalah asam galat yang merupakan senyawa fenol stabil. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteau membentuk komplek molibdenum tungsten berwarna biru. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak maka akan semakin banyak ion fenolat yang akan dirubah menjadi kompleks molibdenum tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat.

Tabel 6. Hasil penentuan kadar total fenol

Ekstrak	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Rata-rata	Konsentrasi Total Fenol (ppm)	Kadar Total Fenol (mg GAE/mg ekstrak)
Daun	0,3013	0,3154	0,3431	0,3199	18,3615	16,5254
Buah	0,5403	0,6143	0,6138	0,5984	40,2926	36,2633

Berdasarkan hasil penentuan total fenol pada Tabel 6, maka diketahui bahwa ekstrak buah tanaman galam memiliki konsentrasi total fenol sebesar 40,2926 ppm dengan kadar sebesar 36,26334 mg GAE/mg ekstrak. Kandungan total fenol ekstrak buah lebih besar dibandingkan ekstrak daun. Konsentrasi total fenol ekstrak daun sebesar 18,3615 ppm dengan kadar total fenol sebesar 16,52535 mg GAE/mg ekatrak).

Total Flavonoid

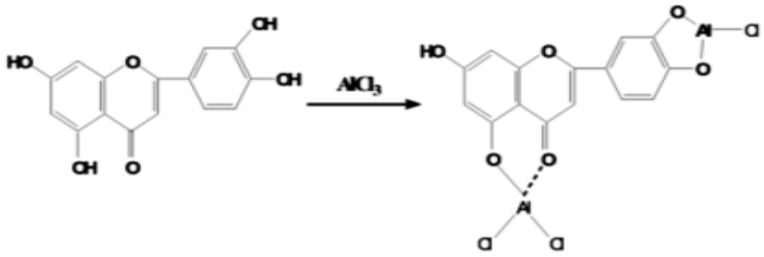
Total flavonid ditentukan menggunakan metode aluminium klorida ($AlCl_3$) pada panjang gelombang maksimum quersertin yaitu 373,6 nm.

Tabel 7. Hasil penentuan kadar total flavonoid

Ekstrak	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Rata-rata	Konsentrasi Total Flavonoid (ppm)	Kadar Total Flavonoid (mg QE/g ekstrak)
Daun	0,0143	0,0107	0,0103	0,01177	0,1146	0,3438
Buah	0,0049	0,0049	0,0049	0,0049	0,0076	0,0228

Berdasarkan hasil pada Tabel 7, diketahui bahwa konsentrasi total flavonoid pada ekstrak daun lebih besar dibandingkan pada ekstrak buah. Konsentrasi total flavonoid ekstrak daun sebesar 0,1146 ppm dengan kadar total flavonoid 0,3438 mg QE/g ekstrak sedangkan ekstrak buah memiliki konsentrasi total flavonoid 0,0076 ppm dan kadar total flavonoid sebesar 0,0228 mg QE/g ekstrak.

Prinsip dari metode dalam penentuan kadar total flavonoid adalah pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto C-4 dan C-3 atau C-5 dari gugus hidroksil yang dimiliki senyawa flavonoid (Desmiaty, 2009). Pada pembuatan kurva baku digunakan quersetin yang merupakan flavonoid golongan flavonol. Quesertin mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 (Desmiaty, 2009). Berikut merupakan reaksi pembentukan kompleks antara senyawa quersetin dengan $AlCl_3$ (Triyasmono, 2015).



Gambar 5. Pembentukan senyawa kompleks quersetin-alumunium klorida

Pemaanfaatan bahan herbal alami seperti daun dan buah tanaman galam untuk menangani penyakit dipercaya dapat membantu memberikan efek kesembuhan dengan memanfaatkan metabolit sekunder yang dihasilkan seperti flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa antioksidan golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan, sehingga dapat dipastikan terdapat flavonoid pada setiap telaah ekstrak tumbuhan .

SIMPULAN

Hasil analisis skrining fitokimia ekstrak daun adalah senyawa golongan alkaloid, polifenol, kuinon, flavonoid dan saponin. Untuk ekstrak buah adalah senyawa golongan polifenol, kuinon, flavonoid dan saponin. Kandungan total fenol untuk ekstrak daun dan buah adalah 18,3615 ppm, 40,2926 ppm sedangkan kandungan flavonoid ekstrak daun dan buah adalah 0,1146 ppm dan 0,0076 ppm. Kadar total fenol ekstrak daun dan buah sebesar 16,5254 mg GAE/mg ekstrak dan 36,2633 mg GAE/mg ekstrak sedangkan kadar total flavonoid ekstrak daun dan ekstrak buah sebesar 0,3438 mg QE/g ekstrak dan 0,0228 mg QE/g ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak daun dan buah galam dilihat dari nilai IC_{50} adalah 54,4906 ppm dan 37,3752 ppm dengan asam askorbat sebagai pembanding dengan nilai IC_{50} sebesar 9,887 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} maka diketahui bahwa ekstrak daun memiliki intensitas antioksidan kuat dan ekstrak buah serta asam askorbat sebagai senyawa pembanding termsuk antioksidan dengan intensitas sangat kuat.

DAFTAR RUJUKAN

Dewi, A. P., Haryuningtyas, D. (2008). Uji *in vitro ekstrak Tea Tree (Melaleuca alternifolia*) terhadap tungau *Sercoptes scabiel* pada kambing. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peterenakan dan Veteriner* (pp. 510-515). Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.

Desmiaty, Y., Ratnawati, J., Andini, P. (2009). Penentuan jumlah flavonoid total ekstrak etanol daun buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) secara kolorimetri komplementer. *Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI* (pp. 1-8). Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345–391.

Jemi, R., Saputera, S. (2013). Isolasi dan uji anti jamur senyawa sineol dari daun *Melaleuca cajuputi* Roxb. *Jurnal Hutan Tropika*, 12(2), 13-22.

Kulkarni, A., Jan, N., Nimbarte, S. (2012). Monitoring of antimicrobial effect of GC-MS standardized *Melaleuca alternifolia* oil (tea tree oil) on multidrug resistant uropathogens. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* (IOSRJPBS), 2(2), 6-14.

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

Noumi. E., Snoussi, M., Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Ksouri, R., Valentin, E., Bakhrouf, A. (2011). Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globules* essential oil againts oral *Candida* species. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4147-4156.

Priosoeryanto, B. P., Huminto, H., Wientarsih, I., Estuningsih, S. (2006). Aktivitas getah batang pohon pisang dalam proses persembuhan luka dan efek kosmetiknya pada hewan. *(online)*, (https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/6081 diakses 1 Oktober 2018)

Pujiati, R., Ohtani, Y., Ichura, H., Wishimura, Y. (2013). Insecticidal activity of *Melaleuca leucadendron* oil against greenhouse whitefly *Trisleurodes vaporarium*. *Proceeding of The Fifith International Symposium of Indonesia Wood Resarch Society* (pp. 65-70). Balikpapan: Indonesian Wood Research Society(IWoRS).

Triyasmono, L., Cahaya, N., Sari, Y. N. (2015). Aplikasi FTIR dan Kemometrika PLSR (*Partial Least Square Regression*) pada prediksi kadar

flavonoid total Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) khas Kalimantan. *Prosiding Seminar Nasional & Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik 5"* (pp. 152-157). Padang: Universitas Andalas.

Silva, C. J., Barbosa, L. C. D. A., Maltha, C. R. A., Pinheiro, A. L., Ismail, F. M. D. (2007). Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. *Flavour Fragrance Journal*, 22(6), 474–478.

Wardhani, R. R. A. A. K., Akhyar, O. (2018). Skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan dan antibakteri *Propionibacterium acnes* ekstrak etanol kulit batang dan daun tanaman bangkal (*Nuclea subdita*). *Jurnal Kimia Berkala Sains dan Terapan Kimia*, 12(2), 62-72.