

ARTIKEL ILMIAH

PERBANDINGAN KADAR FENOLIK TOTAL ANTARA SEDUHAN
DAUN GAHARU DAN KOMBUCHA DAUN GAHARU
(*Aquilaria malaccensis*)



NURMIATI
NIM 15.108

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Pembimbing,

Ernanin Dyah Wijayanti, S.Si., M.P.

**PERBANDINGAN KADAR FENOLIK TOTAL ANTARA SEDUHAN
DAUN GAHARU DAN KOMBUCHA DAUN GAHARU
(*Aquilaria malaccensis*)**

**COMPARISON OF TOTAL PHENOLIC CONTENT OF AGARWOOD LEAF
BREW AND (*Aquilaria malaccensis*) LEAF KOMBUCHA**

Nurmiati, Ernanin Dyah Wijayanti

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Daun gaharu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, sehingga berpotensi sebagai antioksidan. Fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan karena adanya peningkatan senyawa fenolik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan kadar senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Simplisia daun gaharu dilakukan dengan diseduh pada suhu 80°C selama 30 menit, kemudian difermentasi dengan kombucha selama 10 hari dengan penambahan gula 10%. Pengujian organoleptis meliputi warna, rasa, aroma dan pH. Seduhan dan kombucha daun gaharu diidentifikasi senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan antrakuinon. Hasil identifikasi positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan diuji kadar fenolik total dengan metode *Follin Ciocalteau*. Hasil penentuan kadar fenolik total pada seduhan sebesar 28,524±0,359 mgGAE/gram dan pada kombucha 62,857±2,104 mgGAE/gram. Kesimpulan dari penelitian ini terdapat perbedaan kadar fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu yang mengalami peningkatan setelah difermentasi.

Kata kunci: Fenolik, Fermentasi, Gaharu

ABSTRACT

Agarwood leaf contains flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, so it is potential as an antioxidant. Fermentation can increase the antioxidant activity due to the increasing of phenolic compound. This study aims to determine the comparison of total phenolic content of agarwood leaf brew and agarwood (*Aquilaria malaccensis*) leaf kombucha. The agarwood leaf simplicia was prepared by brewing it at 80°C for 30 minutes, then fermented with kombucha for 10 days with 10% of sugar addition. The organoleptic testing includes dye, flavor, aroma and pH. The agarwood leaf brew and kombucha were identified their phenolic, flavonoid, tannin, and anthraquinone. Finding shows that they positively contain phenolic, flavonoid, tannin. The total phenolic content was tested by the Follin Ciocalteau method. The determination result shows that total phenolic content of agarwood leaf brew is equal to 28.524 ± 0.359 mgGAE/gram and the total phenolic of agarwood leaf kombucha is equal to 62.857 ± 2.104 mgGAE/gram. It can be concluded that there is a difference of total phenolic content between the agarwood leaf brew and agarwood leaf kombucha, which has increased after the fermentation.

Keywords: Phenolic, Fermentation, Agarwood

PENDAHULUAN

Gaharu adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Gaharu merupakan salah satu komoditi perdagangan hasil hutan bukan kayu (HHBK) berupa resin yang dihasilkan dari salah satu jenis pohon penghasil gaharu yaitu jenis *Aquilaria malaccensis Lamk* dari genus *Aquilaria* (Sumarna, 2002 dalam Suhendra, 2012).

Di Kalimantan Tengah, petani gaharu hanya menjual bagian kayu dan gubalnya saja yang memiliki nilai jual yang tinggi karena merupakan komoditas ekspor yang bisa dimanfaatkan untuk kerajinan tangan, bahan industri parfum dan kosmetik, sedangkan pada daun gaharu kurang dimanfaatkan. Beberapa kelompok masyarakat yang percaya bahwa rebusan daun gaharu dapat digunakan untuk mengobati penyakit degeneratif, salah satunya adalah penyakit antidiabetes. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Yunus *et all* (2015) yang membuktikan khasiat daun gaharu sebagai antidiabetes. Beberapa kandungan yang terdapat pada ekstrak daun gaharu (*A. malaccensis*) melalui skrining fitokimia antara lain

flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid. Diantara senyawa tersebut, flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Menurut Pratt dan Hudson dalam Rorong (2008), senyawa antioksidan dari tumbuhan bersifat senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, tokoferol dan asam-asam polifungsional. Banyak penelitian yang telah menyatakan bahwa senyawa flavonoid tersebut bertindak sebagai penangkap radikal bebas.

Senyawa fenolik di alam terdapat sangat luas mempunyai variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tanin), dan kuinon fenolik (Fauziah, 2008 dalam Tahir, 2017).

Daun gaharu mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan. Namun sebagian senyawa fenolik sulit dicerna oleh tubuh manusia. Senyawa fenolik yang tinggi ditemukan pada sayuran,

kecuali flavonol yang ditemukan dalam bentuk terglukosilasi sehingga sulit dicerna oleh tubuh manusia. Oleh karena itu untuk mempermudah penyerapan perlu dilakukan pemecahan oleh enzim atau mikroba sehingga dapat dicerna atau diserap (Filannino *et al.*, 2016). Maka dibutuhkan suatu proses fermentasi pada daun gaharu agar mudah diserap dan dicerna oleh tubuh manusia.

Pada proses fermentasi menghasilkan senyawa baru dan juga peningkatan senyawa tertentu seperti fenolik. Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Bhanja, 2009 dalam Surhardini 2016). Hal tersebut membuat senyawa tersebut mudah diserap oleh tubuh. Salah satu proses fermentasi yang dilakukan pada seduhan daun gaharu yang memiliki rasa sepat adalah dengan memfermentasi daun gaharu menggunakan kultur kombucha agar dapat memperbaiki cita rasa yang segar pada sediaan. Kultur kombucha terdiri dari *Acetobacter* dan jenis

khamir (Mayser *et al.*, 1995 dalam Surhardini 2016).

Daun gaharu yang dilakukan dengan cara di seduh dan di fermentasi yang kemudian akan mengalami perubahan rasa dan senyawa. Penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang perbandingan kandungan senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang ditekankan pada perbandingan kadar senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu.

Alat dan Bahan

Alat. Spektrofotometer UV-Vis.

Bahan. Simplisia daun gaharu, kultur kombucha, gula, asam klorida, pita Mg, kloroform, asam asetat, asam sulfat pekat, FeCl₃ 1%, FeCl₃ 5%, reagen *Folin Ciocalteu*, Na₂CO₃, asam galat, aquadest.

Tahap penelitian

Adapun tahapan penelitian sebagai berikut.

1. Determinasi tanamana daun gaharu di Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Pengumpulan bahan simplisia daun gaharu.
3. Pembuatan seduhan dan kombucha daun gaharu sebanyak 4 g diseduh dengan air 1 L pada suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan gula 10% (b/v) dan dilarutkan.
4. Skrining fitokimia seduhan dan kombucha daun gaharu menggunakan uji reaksi warna dan diuji kadar fenolik total.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2018. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar (*Aquailaria malaccensis*) yaitu dengan genus *Aquailaria* dan spesies *Aquailaria malaccensis* L.

Pengujian kadar air simplisia dengan proses pemanasan sinar matahari secara langsung. Tujuan pengeringan sampel yaitu untuk mendapatkan kadar air <10% sehingga sampel tidak mudah rusak

(Saifuddin, 2010 dalam Munte 2015). Hasil kadar air daun gaharu sebesar 10.085%.

Hasil pengujian organoleptis dari seduhan dan kombucha daun gaharu dengan lama fermentasi hari ke-10 meliputi warna, rasa, aroma dan pH.

Tabel 1. Hasil Pengujian Organoleptis & pH

Sampel	Warna	Rasa	Aroma	pH
Seduhan Daun Gaharu	Coklat	Sepat	Khas daun gaharu	6,5
Kombucha Daun Gaharu	Coklat	Asam	Khas kombucha	3.0

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam sampel seduhan dan kombucha daun gaharu. Berdasarkan hasil pengujian fitokimia yang meliputi fenolik, flavonoid, tanin, dan antrakuinon.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil Uji Seduhan Daun Gaharu	Hasil Uji Kombucha Daun Gaharu
Fenolik	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Antrakuinon	-	-

Penentuan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin Ciocalteu*. Metode ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total dalam tanaman dengan pertimbangan bahwa dengan teknik ini pengerjaannya lebih sederhana dan reagen *Folin Ciocalteu* digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan *Folin* membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya.

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi.

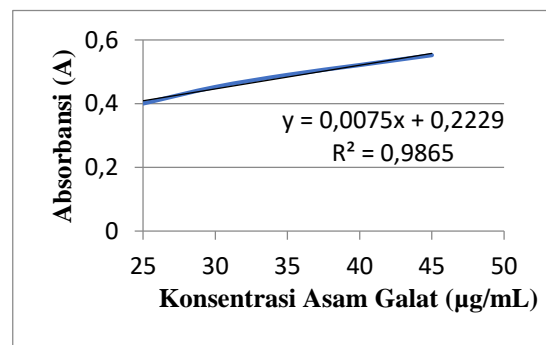
Gambar 4. Kurva Standar Asam Galat

PEMBAHASAAN

Penelitian yang termasuk dalam jenis penelitian eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui hasil perbandingan kadar senyawa antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu. Dalam penelitian ini tidak dapat menggunakan daun gaharu yang sama, yakni menggunakan umur daun muda dan daun tua dengan umur pohon 4-7 tahun. Sehingga mempengaruhi kandungan senyawa yang dihasilkan dari tiap-tiap daun gaharu.

Hasil pengujian kandungan air yang terdapat pada daun gaharu maka perlu dilakukan penentuan kadar air. Hasil kadar air daun gaharu sebesar 10.085%. Hasil yang didapat terjadi dikarenakan kondisi cuaca lembab dengan suhu dingin pada bulan febuari 2018.

Dari hasil pengujian organoleptis dan pH menyatakan rasa seduhan daun gaharu sepat hal ini dikarenakan daun gaharu mempunyai kadar tanin yang tinggi (Batubara *et al.*, 2017), sedangkan kombucha daun gaharu didapatkan hasil terbaik dengan fermentasi dihari ke-10. Rasa



asam pada kombucha dihasilkan oleh aktivitas *Acetobacter* dan beberapa jenis khamir dan penambahan gula dalam merubah glukosa menjadi alkohol dan karbon dioksida yang kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. *Acetobacter* sebagai bakteri utama dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi

asetaldehid kemudian menjadi asam asetat (Naland, 2008). Hasil pengujian organoleptis tersebut masih bersifat kualitatif sehingga kemudian dilanjutkan dengan pengujian pH.

Pada pengujian pH menggunakan alat pH meter. penggunaan pH meter tersebut pertama kali harus dilakukan kalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 pada kombucha daun gaharu sedangkan larutan buffer pH 7 pada seduhan daun gaharu. Dari pengujian pH ini yang digunakan adalah fermentasi hari ke-10 dikarenakan memiliki rasa yang paling enak. Kemudian dilanjutkan dengan skrining fitokimia.

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan melalui penambahan FeCl_3 5%. Penambahan FeCl_3 5% akan menyebabkan terjadinya perubahan warna seperti warna hijau, kuning, orange, atau merah (Harborne, 1987 dalam Nafisah 2014). Pada pengujian fenolik seduhan terbentuk warna orange dan kombucha terbentuk warna orange kehitaman. Hasil skrining ini menunjukkan bahwa seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu warna positif mengandung fenolik.

Identifikasi senyawa flavonoid dapat diuji keberadaannya menggunakan Mg dan HCl pekat. Senyawa flavonoid dapat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga ketika tereduksi dengan Mg dan HCl (Harborne, 1987 dalam Munte 2015). Pada pengujian flavonoid seduhan dan kombucha daun gaharu terbentuk warna jingga. Hasil skrining ini menunjukkan bahwa seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu positif mengandung flavonoid.

Identifikasi senyawa tanin dilakukan melalui penambahan FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 1% akan menyebabkan terjadinya perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Baud *et al.*, 2014 dalam Munte 2015). Menurut Sangi *et al.* (2008), tanin terhidrolisis akan menunjukkan warna biru kehitaman sedangkan tanin terkondensasi akan menunjukkan warna hijau kehitaman ketika penambahan FeCl_3 . Pada pengujian seduhan dan kombucha daun gaharu terbentuk warna hijau kehitaman. Hasil skrining ini menunjukkan seduhan dan kombucha

daun gaharu positif mengandung tanin terkondensasi.

Identifikasi antrakuinon akan memberikan karakteristik warna merah, violet, hijau atau ungu dengan basa (Marliana *et al.*, 2005 dalam munte 2015). Jika larutan berubah warna menjadi merah maka positif antrakuinon. Jika larutan berubah warna menjadi kuning maka positif antron dan diantron (Setyawaty *et al.*, 2014 dalam munte 2015). Pada pengujian seduhan dan kombucha daun gaharu tidak terbentuk perubahan warna. Hasil skrining ini menunjukkan bahwa seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu negatif mengandung antrakuinon.

Analisis kandungan fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pourmorad dkk; 2006) dalam sari (2017). Larutan standar yang digunakan adalah asam galat yang merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Menurut Viranda (2006) dalam dalam sari (2017) asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana. Asam galat direaksikan dengan

reagen *Folin Ciocalteu* menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenolik, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi *Folin Ciocalteu*, membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolak yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolak yang akan mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molibdenumtungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat. Untuk menentukan kadar fenolik totalnya, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang dan pengukuran *operating time*. Hasil Panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 775 nm dan *operating time* diperoleh pada menit ke-60, nilai absorbansi yang diperoleh telah stabil.

Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dari beberapa konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y=0,0075x-0,2229$ dengan koefisien korelasi (r) 0,9865. Penetapan kadar fenol dari seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu dilakukan dengan cara 3x pengulangan.

Pengaruh fermentasi kombucha pada senyawa fenolik dalam penelitian ini mampu memfermentasi seduhan daun gaharu dan menghasilkan peningkatan total kandungan secara signifikan. Sebelum difermentasi total kandungan fenolik pada seduhan daun gaharu adalah sebesar $28,524 \pm 0,359$ mgGAE/gram. Peningkatan hasil fermentasi menggunakan kombucha menghasilkan total fenolik sebesar $62,857 \pm 2,104$ mgGAE/gram.

Berdasarkan hasil penentuan kadar fenolik total seduhan daun gaharu, terjadi peningkatan total fenolik setelah seduhan daun gaharu

difermentasi dengan kombucha. Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi kombucha dapat meningkatkan total fenolik daun gaharu. Peningkatan total fenolik dapat terjadi karena aktivitas dari *Acetobacter* dan beberapa jenis khamir dan penambahan gula yang digunakan proses fermentasi. Proses fermentasi glukosa menjadi alkohol dan karbon dioksida yang kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. *Acetobacter* sebagai bakteri utama dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat. Setelah beberapa hari melakukan aktivitasnya, koloni jamur dan bakteri akan berkumpul dalam cairan tersebut hingga menjadi cairan asam (Naland, 2008). Dalam proses fermentasi khamir memiliki kemampuan menghasilkan enzim *vinyl phenol reductase*, dimana menurut Shahidi dan Nazck dalam Suhardini (2016) enzim tersebut dengan enzim *ferulic acid reductase* akan membentuk fenol akibat dekarboksilasi asam sinamat dan asam firulat. Asam sinamat merupakan senyawa fenol yang berperan sebagai antioksidan alami

tumbuhan. Asam ferulat adalah turunan dari golongan asam hidroksi sinamat, yang memiliki kelimpahan yang tinggi dalam dinding sel tanaman yang merupakan senyawa aktif bersifat antioksidan.

Analisis data menggunakan uji T diperoleh nilai signifikan yaitu $0,002 < 0,05$ maka dilihat dari hipotesis menyatakan bahwa H1 diterima, yang berarti terdapat perbedaan perbandingan kadar senyawa fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu.

Penelitian ini merupakan penelitian awal untuk mengetahui bahwa fermentasi dapat menunjukkan kadar fenolik daun gaharu. Namun belum diketahui aktivitas antioksidannya sehingga perlu dilakukan lebih lanjut pengujian aktivitas antioksidan untuk mengetahui kadar antioksidan pada fermentasi kombucha daun gaharu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar fenolik total antara seduhan daun gaharu dan kombucha daun gaharu. Kadar fenolik total

mengalami peningkatan setelah difermentasi dengan kombucha.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dipersembahkan untuk Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

DAFTAR RUJUKAN

- Batubara, R., Surjanto, T. Ismanelly H. 2017. Kelayakan Daun Gaharu Endemik Sumatera (*Wikstroemia tenuiramis Miq*) Sebagai Bahan Baku Teh Gaharu yang Kaya Antioksidan. Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY.
- Filannino, P., I. Cavoski, N. Thlien, O. Vincentini, M. De Angelis, M. Silano, M. Gobetti, R. D. Cagno. 2016. Lactic Acid Fermentation of Cactus Cladodes (*Opuntia ficus-indica* L.) Generates Flavonoid Derivatives with Antioxidant and Anti-Inflammatory properties. PLoS ONE, 11(3): 1-22
- Harahap, R. A., R. Batubara, Surjanto. 2015. The test of Antioxidant contained in fresh and Rotten Leaf of Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Based on the Different Of Grown Ground. Universitas Sumatera Utara.
- Munte, L., M. R. Runtuwene, G. Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium*

- triplinerve* Vahl). Jurnal Ilmiah Farmasi Vol 4(3): 41-50.
- Naland, Henry. 2008. *Kombucha; Teh Dengan Seribu Khasiat*. Agromedia.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati., N. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). Prosiding Seminar Nasional Kimia.
- Rorong, J. A. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Cengkeh (*Eugenia Carryophyllus*) Dengan Metode DPPH. Chem Prog Vol 1(2): 111-115.
- Suhardini, P. N., dan E. Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol 4(1): 221-229.
- Suhendra, A., Y. P. Roswanjaya, D. P. Handayani 2012. Aplikasi Inokulasi Fusarium Untuk Mempercepat Proses Pembentukan dan Produksi Gubal Gaharu di Kabupaten Penjaman Paser Utara Kalimantan Timur. Prosiding InSINas.
- Sari, A. K. dan N. Ayuhecaria. 2017. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Estrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina Vol 2 (2): 327-335.
- Tahir, M., Muflihunna, A. Syafrianti. 2017. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (Pogostemon Cablin Benth) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Fitofarmaka Indonesia Vol 4 (1): 215-218.
- Yusuf, S., A. Jayuska, N. Idiawati. 2016. Isolasi dan Karakteristik Senyawa Triterpenoid dari Daun Gaharu (*Aquailaria malaccensis* Lam.). J. Kim Khatulistiwa Vol 5(1): 65-69.