

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK UBIJALAR KUNING VARIETAS DAYA DENGAN BERBAGAI RASIO PELARUT HEKSANA:ETANOL

Antioxidant Activity of Carotene-rich Sweet potato Extracted With an Hexane-Ethanol Solvent Mixture

Nadia Nareswari¹⁾, Teti Estiasih²⁾ dan Erni Sofia Murtini²⁾

¹⁾Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNIBRAW, Malang
E-mail: nadianareswari@yahoo.com

²⁾Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNIBRAW, Malang

ABSTRACT

A study was conducted to assess the antioxidant activity of caroten-rich sweet potato extracted with various ratios of solvent mixture, hexane and ethanol. The respective ratios of solvent mixture hexane to ethanol were 4:0, 3:1, 2:2, 1:3 and 0:4. Observations were made on the colour parameter value, beta carotene, phenol content and antioxidant activity, i.e. radical scavenging and peroxide inhibition activities.

The radical scavenging activity of the extract varied with the ratio of the solvent, and the highest found at the hexane to ethanol ratio of 1:3 (89.744%), followed by the ratio of 2:2 (88.539%), 4:0 (87.305%), 3:1 (86.923%) and 0:4 (83.897%). Based on the value of EC_{50} and the ability to react with radicals, the extract of hexane to ethanol 1:3 and 0:4 were the two best in the radical scavenging activity. It was likely that the total phenol was the most influenced factor on radical scavenging activity, as shown by the correlation coefficient of 74.9%.

Similarly, the peroxide formation inhibition activity also varied with the ratio of the solvent, i.e. 61.126% (2:2), followed by 53.035% (1:3), 50.127% (0:4), 43.561% (3:1) and 36.046% (4:0). It seems that the carotenoids were the most influenced factor to the peroxide formation inhibition activity, as shown by the correlation coefficient of 63.4%.

Key words: Carotene-rich sweet potato, ratio of hexane:ethanol, antioxidant activity.

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Penelitian menunjukkan bahwa tingginya konsumsi antioksidan berhubungan erat dengan penurunan resiko penyakit kronis (Paiva and Robert, 1999). Antioksidan juga dapat menghambat kerusakan oksidasi pada produk pangan seperti ketengikan (Trilaksani, 2003).

Menurut Hui (2003) dan MacDougall (2003), dibandingkan antioksidan sintesis, antioksidan alami lebih aman, mudah diserap tubuh, memiliki fungsi biologis lebih kuat dan lebih efektif dalam mencegah kanker. Karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan mulai menggantikan antioksidan sintesis.

Salah satu sumber antioksidan alami adalah ubijalar kuning. Truong *et al.*, (2006) menyatakan, antioksidan yang dominan pada ubijalar adalah beta karoten dan senyawa fenol. Ubijalar mengandung total fenol sebesar 0,50 sampai 1,75 mg asam klorogenat ekuivalen/g sampel. Menurut Anonymous (2006*), kandungan beta karoten pada ubijalar kuning lebih tinggi dibandingkan sumber beta karoten lain seperti wortel, yaitu 8509 µg/100g. Oleh karena itu, ubijalar kuning berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami dalam bentuk ekstrak antioksidan. Dalam penelitian ini digunakan ubijalar kuning varietas Daya karena varietas ini merupakan varietas lokal yang paling kuning dan banyak jumlahnya dipasaran.

Kitakawa *et al.* (2004) dan Paiva and Robert (1996) menyatakan bahwa beta

karoten dan senyawa fenol mempunyai efek sinergistik, sehingga gabungan keduanya dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tinggi. Untuk mengekstrak beta karoten dan fenol diperlukan pelarut dengan polaritas tertentu. Hal ini disebabkan beta karoten bersifat nonpolar, sedangkan senyawa fenolat bersifat polar. Truong *et al.* (2006) menggunakan heksana yang bersifat sangat polar untuk mengekstrak karotenoid ubijalar, sedangkan Hung *and* Yen (2002) menggunakan etanol yang bersifat sangat polar untuk mengekstrak senyawa fenolat. Campuran pelarut heksana dan etanol dengan rasio tertentu dapat melarutkan beta karoten dan fenol dalam jumlah optimal, sehingga dihasilkan aktivitas antioksidan tertinggi. Dalam penelitian ini digunakan berbagai rasio heksana dan etanol untuk mewakili berbagai tingkat polaritas pelarut.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Ubijalar kuning segar (varietas Daya) umur 4 bulan diperoleh dari petani di Blitar. Beta karoten dan asam galat murni diperoleh dari Fakultas Teknologi Pangan Universitas Gajah Mada, sedangkan reagen lainnya diperoleh dari toko kimia Panadia Malang. Reagen yang digunakan untuk analisa berspesifikasi pro analisis sedangkan reagen untuk ekstraksi berspesifikasi teknis.

Alat

Alat yang diperlukan antara lain: *shaker waterbath*, pompa vakum *Buchi Vac V500*, *rotary vacuum evaporator Buchi Rotavapor R-200*, corong pemisah, kolom kromatografi 16 x 150 mm, spektrofotometer *Spectronic 20 Genesys*, vorteks, pH meter dan inkubator.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu, rasio heksana:etanol (4:0, 3:1, 2:2, 1:3 dan 0:4), dengan satu faktor, lima level yang diulang tiga kali.

Ekstraksi antioksidan

Ubijalar kuning dicuci kemudian dilakukan *blanching* pada 62,5°C, 5 menit, lalu dihancurkan. Ubijalar ditimbang 60 g lalu diekstrak dengan 600 ml heksana-etanol pada 30°C selama 45 menit. Filtrat yang diperoleh dipekatkan pada 50°C, 200 mbar (*rotary vacuum evaporator*).

Kadar beta karoten (Cagampang and Rodriquez, 1980)

Ekstrak ditimbang, dilarutkan dalam 25 ml petroleum eter-aseton (1:1) lalu dimasukkan corong pemisah. Dilakukan pencucian dengan 25 ml akuades kemudian digojog. Dibiarkan terjadi pemisahan, lalu fase aseton-air dibuang. Na_2SO_4 sebanyak 5 g untuk tiap 100 ml fase eter ditambahkan kedalam fase eter, lalu sampel dimasukkan kedalam kolom kromatografi. Larutan petroleum eter-aseton (10:1) digunakan untuk mengelusi pita beta karoten. Beta karoten yang diperoleh diencerkan dengan petroleum eter-aseton (10:1). Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450 nm. Absorbansi sampel dibandingkan dengan kurva standar beta karoten.

Kadar total fenol (Hung and Yen, 2002)

Ekstrak diambil 0,5 ml kemudian ditambahkan 0,1 ml aquadest, 0,1 ml reagen folin ciocalteau dan 2 ml Na_2CO_3 2% lalu digojog. Sampel diinkubasi 30 menit dan diukur absorbansinya pada λ 750 nm. Absorbansi sampel dibandingkan dengan kurva standar asam galat.

Analisa aktivitas penangkap radikal bebas (Gadow *et al.*, 1997)

1 ml ekstrak konsentrasi 25, 100, 400, 700, 1000, 1300, 1600 dan 1900 ppm ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,1 mM dalam etanol. Masing-masing ekstrak diencerkan dengan etanol sampai 5 ml lalu didiamkan 30 menit. Absorbansi diukur pada 517 nm, aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = absorbansi dari tanpa ekstrak

A_1 = absorbansi dari sampel

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida (Duh, 1998)

0,5 ml ekstrak 25, 100, 400, 700, 1000 dan 1600 ppm ditambahkan 2 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7 dan 2,5 ml minyak ikan. Ekstrak diinkubasi 37°C selama 5 hari pada ruang gelap, setiap harinya dilakukan analisa aktivitas penghambatan peroksida. Larutan diambil 0,1 ml lalu ditambahkan 4,7 ml etanol 75%, 0,1 ml amonium tiosianat 30% dan 0,1 ml ferro klorida 0,02M dalam HCl 3,5%. Larutan divorteks 1 menit lalu diukur diukur absorbansinya pada alfa 500 nm.

$$\% \text{ Penghambatan} = 100 - [(A_1 / A_0) \times 100]$$

A_0 = absorbansi dari tanpa ekstrak

A_1 = absorbansi dari sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan baku ubijalar

Rerata kandungan beta karoten ubijalar varietas Daya adalah 7238,388 µg/ 100 g. Nilai tersebut masuk dalam kisaran kadar beta karoten ubijalar pada penelitian Anonymous (2006*) dan Cordell (2005) yang berkisar antara 225,56 sampai 8509 µg/ 100g.

Rerata kadar total fenol ubijalar varietas Daya adalah 0,650 mg ekuivalen asam galat/ g sampel. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengupasan kulit ubijalar, sehingga kadar total fenol yang diperoleh berasal dari kadar fenol jaringan luar dan dalam ubijalar. Kadar fenol varietas Daya masuk dalam kisaran kadar total fenol ubijalar pada penelitian

Tabel 1. Kadar beta karoten, total fenol, aktivitas antioksidan ekstrak ubijalar

Perlakuan rasio pelarut heksana:etanol	Kadar beta karoten (µg/100g ekstrak)	Kadar total fenol (mg asam galat/ ml ekstrak)	Aktivitas Penangkap Radikal		Aktivitas penghambat peroksida	
			EC ₅₀ (ppm)	Prosentase aktivitas	Konsentrasi efektif (ppm)	Prosentase aktivitas
4:0	158058,430 a	5,275 a	526,362 a	83,897 a	1000	33,046 a
3:1	76261,958 b	17,980 b	464,046 a	86,923 a	700	43,561 b
2:2	63268,257 c	36,239 c	338,617 b	88,539 bc	400	61,126 d
1:3	25995,038 d	56,230 d	107,124 c	89,744 c	400	63,035 c
0:4	3596,862 e	79,986 e	139,418 c	87,305 bc	1600	50,127 c
DMRT (α=0,05)	10260,179 - 11158,649	8,212 - 8,939	76,355 - 85,116	2,296 - 2,576	-	3,546 - 3,978

Truong *et al.* (2006) yang berkisar antara 0,50 sampai 1,75 mg ekuivalen asam klorogenat/g sampel.

Kadar beta karoten

Tabel 1 menunjukkan bahwa beta karoten yang terekstrak semakin meningkat dengan adanya penurunan derajat polaritas. Dalam hal ini, campuran pelarut dengan rasio heksana terendah memiliki derajat polaritas terendah. Menurut Sax and Lewis (1998) serta Voight (1996), kelarutan suatu komponen tergantung derajat polaritas pelarut. Beta karoten dan heksana bersifat nonpolar sehingga keduanya dapat larut dengan baik.

Kadar total fenol

Tabel 1 menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar fenol

disebabkan peningkatan rasio etanol yang berakibat pada kenaikan derajat polaritas. Menurut Gamez-Meza *et al.* (1999), dari berbagai pelarut yang digunakan untuk ekstraksi senyawa fenol, hasil ekstrak akan meningkat seiring dengan bertambahnya kepolaran pelarut. Hal ini disebabkan senyawa fenol dan pelarut etanol bersifat polar.

Rerata total fenol ekstrak berkisar antara 5,275 sampai 79,986 mg ekuivalen asam galat/ml. Kandungan total fenol dengan prosedur *Folin-Ciocalteu* dapat dihasilkan dari sejumlah senyawa fenol. Menurut Truong *et al.* (2006) jenis senyawa fenol yang terkandung dalam ubijalar adalah golongan asam fenolat, yaitu asam kafeat, asam galat, asam klorogenat dan asam isoklorogenat.

Warna

Parameter L* (nilai kecerahan)

Berdasarkan Tabel 1, kecerahan ekstrak dengan rasio heksana:etanol 0:4 = 1:3 > 2:2 > 4:0 > 3:1. Nilai kecerahan ekstrak cenderung meningkat karena peningkatan rasio etanol yang menyebabkan peningkatan senyawa fenol. Anonymous (2007^a) menyatakan bahwa senyawa fenol berwarna putih sampai putih kekuningan.

Selain menyebabkan peningkatan kadar fenol, peningkatan rasio etanol juga menyebabkan penurunan kadar beta karoten. Anonymous (2007^b) menyatakan, beta karoten berwarna oranye tua.

Parameter +a* (warna merah)

Berdasarkan Tabel 1, nilai a* ekstrak dengan rasio heksana:etanol 4:0 = 3:1 > 2:2 > 1:3 > 0:4. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai merah ekstrak antioksidan cenderung meningkat karena peningkatan rasio heksana yang menyebabkan peningkatan kadar beta karoten. MacDougall (2002) menyatakan bahwa nilai a* dapat digunakan sebagai indikator jumlah beta karoten dalam sampel. Anonymous (2007^c) menambahkan, jumlah ikatan rangkap yang banyak serta dua cincin α pada struktur beta karoten menyebabkan intensitas warna beta karoten tinggi, yaitu oranye tua.

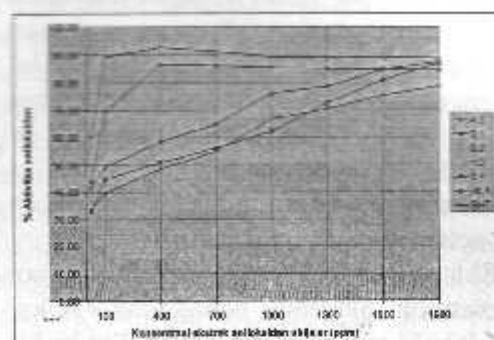
Parameter +b* (warna kuning)

Berdasarkan Tabel 1, nilai b* tertinggi terdapat pada ekstrak 2:2 dan 1:3. Warna kuning pada ekstrak rasio 2:2 dan 1:3 diduga disebabkan jumlah beta karoten dan fenol yang terekstrak optimal. Menurut Anonymous (2007^b), beta karoten cenderung berwarna oranye tua yang merupakan gabungan warna kuning dan merah. Warna kuning pada ekstrak 2:2 dan 1:3 juga dipengaruhi oleh warna senyawa fenol. Sesuai dengan Anonymous (2007^a) senyawa asam fenolat berwarna putih kekuningan.

Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak antioksidan menyebabkan peningkatan aktivitas penangkapan radikal. Aktivitas penangkapan radikal tertinggi pada ekstrak dicapai pada konsentrasi 1900 ppm. Ekstrak dengan kandungan beta karoten tertinggi (ekstrak

rasio 4:0) masih memiliki aktivitas pada konsentrasi 1900 ppm. Ekstrak dengan rasio 4:0 mengandung beta karoten tinggi, yaitu sebesar 158058,430 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ekstrak. Dengan demikian pada konsentrasi 1900 ppm, ekstrak dengan rasio 4:0 mengandung beta karoten sebesar 0,003%.

Pada konsentrasi 1900 ppm, ekstrak dengan kandungan fenol tertinggi yaitu ekstrak dengan rasio heksana:etanol 0:4 masih memiliki aktivitas penangkap radikal. Ekstrak pada rasio 0:4 memiliki kadar fenol sebesar 79,989 mg ekuivalen asam galat/



Gambar 3. Aktivitas penangkapan radikal (%) ekstrak, kontrol vitamin A dan BHT pada beberapa konsentrasi

ml ekstrak. Dengan demikian, pada konsentrasi 1900 ppm, ekstrak rasio 0:4 memiliki kadar fenol 0,0152 mg/ml ekstrak.

Pada kontrol BHT, peningkatan aktivitas penangkapan radikal hanya terjadi sampai konsentrasi 400 ppm. Pada konsentrasi BHT diatas 400 ppm atau 0,04%, BHT lebih bersifat sebagai prooksidan. Sesuai dengan Madhavi *et al.* (1996), batas penggunaan BHT adalah 0,04%. Gordon (1990) dan Trilaksani (2000) menambahkan, pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan lenyap, bahkan menjadi prooksidan.

Aktivitas penangkap radikal pada vitamin A mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 400 ppm, sedangkan diatas konsentrasi tersebut, aktivitasnya mengalami penurunan. Hal ini disebabkan vitamin A yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 120000 $\mu\text{g}/\text{g}$. Sehingga pada konsentrasi 400 ppm, konsentrasi vitamin A adalah 0,0048%. Dengan demikian, pada konsentrasi diatas

0,0048%, vitamin A bersifat sebagai prooksidan. Sesuai Buettner and Larry (2001) Kalt (2005) dan Moores (2006), seperti halnya beta karoten, pada konsentrasi tinggi vitamin A juga dapat bersifat sebagai prooksidan.

Aktivitas penangkap radikal bebas tertinggi untuk berbagai jenis rasio pelarut heksana:etanol

Pada analisa ragam dan uji lanjut digunakan aktivitas penangkapan radikal pada konsentrasi efektif 1900 ppm untuk ekstrak dan 400 ppm untuk kontrol.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa peningkatan aktivitas penangkapan radikal apabila rasio etanol meningkat. Hal ini menyebabkan peningkatan senyawa fenol yang terekstrak. Berdasarkan Madhavi *et al.* (1996), senyawa fenol memiliki mekanisme oksidatif pendonoran atom hidrogen.

Ekstrak dengan rasio heksana:etanol 4:0 memiliki aktivitas penangkap radikal terendah. Ekstrak rasio 4:0 memiliki kadar beta karoten tertinggi dan kadar fenol terendah. Hal ini menunjukkan mekanisme antioksidatif beta karoten kurang efektif dalam menangkap radikal bebas daripada mekanisme antioksidatif fenol. Sesuai Best (2006), mekanisme antioksidatif beta karoten adalah menetralkan oksigen singlet (O_2) yang bukan merupakan mekanisme utama penangkapan radikal.

Aktivitas penangkap radikal pada BHT lebih besar daripada ekstrak. Hal ini diduga disebabkan kontrol BHT yang digunakan murni, sehingga pada konsentrasi efektifnya, yaitu 400 ppm, konsentrasi BHT sebesar 0,04%.

Aktivitas penangkap radikal pada vitamin A juga lebih besar daripada ekstrak antioksidan. Hal ini disebabkan konsentrasi vitamin A yang digunakan tinggi, yaitu 100000 IU/g atau 120000 µg beta karoten/g. Dengan demikian, pada konsentrasi efektif vitamin A, yaitu pada 400 ppm, konsentrasi beta karoten adalah 0,0048%.

Pada konsentrasi 400 ppm, konsentrasi vitamin A adalah 0,0048% sedangkan BHT adalah 0,04%. Pada konsentrasi tersebut, aktivitas penangkap radikal pada vitamin A

dan BHT tidak berbeda nyata. BHT hanya memiliki satu gugus hidroksil, sehingga aktivitas pendonoran hidrogen pada BHT rendah. Moores (2006) menyatakan bahwa vitamin A memiliki 4 ikatan rangkap yang memberikan kemampuan pendonoran elektron kepada radikal. Dengan demikian, walaupun mekanisme pendonoran hidrogen lebih cepat daripada pendonoran elektron, namun karena aktivitas pendonoran hidrogen pada BHT rendah, aktivitasnya tidak berbeda nyata dengan vitamin A.

Korelasi beta karoten dan fenol terhadap aktivitas penangkap radikal

Analisa linier berganda metode "backward" menunjukkan bahwa total fenol adalah faktor yang paling mempengaruhi aktivitas penangkap radikal, dengan persamaan regresi $Y = 81,626 + 29,607 X$. Aktivitas penangkapan radikal dipengaruhi oleh total fenol sebesar 74,9%, sedangkan 25,1% lainnya dipengaruhi oleh antioksidan lainnya.

Penentuan aktivitas penangkap radikal bebas dengan parameter EC_{50}

Penentuan aktivitas antioksidan dapat pula dinyatakan dalam parameter EC_{50} . Parameter EC_{50} adalah konsentrasi antioksidan yang dapat menurunkan aktivitas radikal DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai EC_{50} maka semakin efektif antioksidan dalam menurunkan aktivitas radikal DPPH.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa nilai EC_{50} terendah terdapat pada ekstrak dengan rasio pelarut 0:4 dan 1:3. Ekstrak rasio 1:3 dan 0:4 memiliki kandungan fenol tinggi sehingga memiliki aktivitas penangkap radikal yang tinggi. Sesuai Madhavi *et al.* (1996), senyawa fenol mempunyai mekanisme pendonoran elektron yang lebih baik daripada mekanisme pendonoran hidrogen oleh beta karoten.

Aktivitas penangkap radikal tertinggi terdapat pada ekstrak dengan rasio 3:1, 2:2, 1:3 dan 0:4 (Gambar 4), sedangkan ekstrak 1:3 dan 0:4 paling efektif dalam menurunkan aktivitas radikal DPPH. Sehingga, berdasarkan aktivitas penangkap radikal dan efektivitas penurunan aktivitas radikal

(EC₅₀), ekstrak rasio 1:3 dan 0:4 merupakan ekstrak paling baik dalam menangkap radikal bebas.

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dengan metode *Ferric thiocyanate* (FTC)

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida berdasarkan konsentrasi

Waktu inkubasi yang digunakan dalam rerata aktivitas penghambatan peroksida adalah 4 hari. Rerata aktivitas penghambatan peroksida pada beberapa konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa aktivitas penghambat peroksida pada ekstrak dengan rasio 4:0, 3:1, 2:2, 1:3 dan kontrol mengalami kenaikan sampai konsentrasi efektif lalu pada konsentrasi yang lebih tinggi aktivitasnya mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang lebih tinggi dari konsentrasi efektif, ekstrak lebih bersifat prooksidan. Berdasarkan Gordon (1990) dan Trilaksani (2000), pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering lenyap, bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan.

Aktivitas penghambatan peroksida pada ekstrak dengan rasio 0:4 terus naik sampai konsentrasi 1600 ppm. Hal ini diduga disebabkan kandungan beta karoten yang

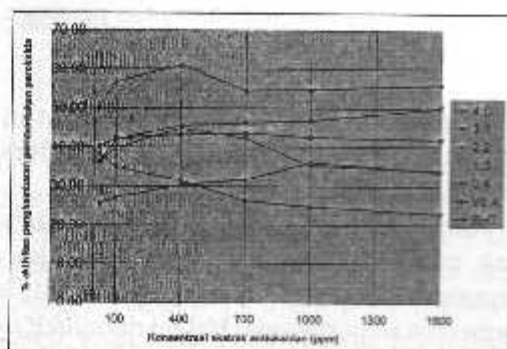
fotooksidasi asam linoleat. Fotooksidasi asam linoleat diduga terjadi saat inkubasi sampel. Hal ini disebabkan tidak dilakukan penutupan sampel saat analisa FTC. Pokorny *et al.* (2001) menyatakan, fotooksidasi dapat terjadi 1500 kali lebih cepat daripada oksidasi normal. Sesuai Madhavi *et al.* (1996), mekanisme antioksidatif fenol adalah mendonorkan atom hidrogen.

Aktivitas penghambatan peroksida vitamin A pada konsentrasi 25 ppm sampai 1600 ppm terus mengalami penurunan. Penurunan aktivitas vitamin A diatas konsentrasi 25 ppm diduga disebabkan konsentrasi vitamin A yang digunakan pada penelitian ini sanger tinggi, yaitu 100000 IU/g atau 120000 µg beta karoten/g. Dengan demikian, pada konsentrasi 25 ppm, konsentrasi beta karotennya adalah 0,0003%. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, perubahan aktivitas antioksidan vitamin A menjadi prooksidan juga dapat terjadi pada konsentrasi tinggi.

Aktivitas penghambatan peroksida pada BHT mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 400 ppm, pada konsentrasi yang lebih tinggi, aktivitasnya mengalami penurunan. Aktivitas penghambatan yang dicapai BHT pada konsentrasi 400 ppm atau 0,04% hampir sama dengan aktivitas yang dicapai vitamin A pada konsentrasi 25 ppm yang memiliki konsentrasi beta karoten sebesar 0,0003%. Hal ini menunjukkan bahwa BHT kurang efektif dalam mencegah fotooksidasi asam linoleat.

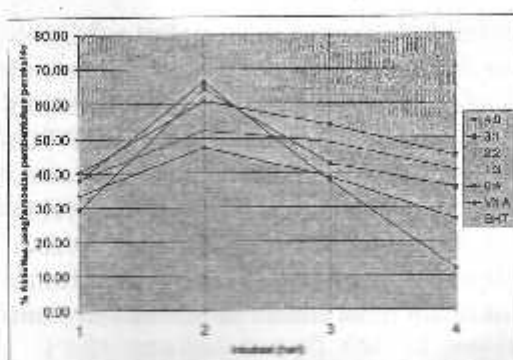
Gambar 6 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak pada rasio 2:2 cenderung mengalami kenaikan sampai inkubasi hari ke-4. Kenaikan ini diduga disebabkan jumlah senyawa fenol dan beta karoten yang optimal pada ekstrak dengan rasio 2:2. Sesuai penelitian Paiva and Robert (1996) dan Kitakawa *et al.* (2004), dibandingkan antioksidan lainnya, beta karoten merupakan antioksidan yang mudah rusak karena oksidasi. Akan tetapi, penambahan fenol dapat mencegah kerusakan beta karoten bahkan meningkatkan aktivitasnya.

Disisi lain, beta karoten pada ekstrak 2:2 juga berperan dalam menghambat



Gambar 5. Rerata aktivitas penghambatan peroksida ekstrak dan kontrol selama inkubasi 4 hari pada beberapa konsentrasi

rendah pada ekstrak rasio 0:4. Walaupun mengandung fenol tinggi, namun mekanisme antioksidatif fenol tidak efektif dalam mencegah pembentukan peroksida pada



Gambar 6. Aktivitas penghambatan peroksida ekstrak dan kontrol pada konsentrasi efektif selama inkubasi 4 hari

fotooksidasi asam linoleat. Best (2006) dan Pokorny *et al.* (2001) menyatakan, beta karoten dapat merangkap dan menetralkan oksigen singlet (1O_2) penyebab fotooksidasi.

Aktivitas penghambatan peroksida pada ekstrak 4:0, 3:1, 1:3, 0:4, dan kontrol mencapai nilai tertinggi pada hari ke-2. Pada hari selanjutnya terdapat kecenderungan penurunan aktivitas penghambatan peroksida. Penurunan aktivitas penghambatan peroksida tersebut diduga disebabkan antioksidan dalam ekstrak mulai mengalami kerusakan oksidatif yang menyebabkan peningkatan laju pembentukan peroksida.

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida pada vitamin A mengalami kenaikan pada hari kedua namun turun drastis pada hari selanjutnya. Hal ini diduga disebabkan sifat vitamin A mudah rusak. Sesuai dengan Kitakawa *et al.* (2004), seperti halnya beta karoten, vitamin A merupakan antioksidan yang mudah rusak.

Konsentrasi efektif dan aktivitas penghambatan peroksida pada berbagai perlakuan rasio pelarut heksana:etanol

Pada analisa keragaman dan uji lanjut DMRT digunakan rerata aktivitas penghambatan peroksida selama 4 hari inkubasi pada konsentrasi efektif.

Berdasarkan Tabel 1 ekstrak pada rasio 2:2 dan 1:3 memiliki konsentrasi efektif terendah. Pada konsentrasi efektifnya, ekstrak dengan rasio pelarut 2:2 dapat mencapai aktivitas sebesar 61,126 %, sedangkan ekstrak rasio 1:3 hanya

mencapai aktivitas sebesar 53,035 %. Dengan demikian, ekstrak pada rasio 2:2 lebih efektif daripada ekstrak 1:3.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak pada rasio pelarut 2:2 memiliki aktivitas tertinggi. Hal ini diduga disebabkan konsentrasi beta karoten dan fenol yang terekstrak pada ekstrak 2:2 mencapai jumlah optimum. Beta karoten dapat menghambat laju pembentukan peroksida karena fotooksidasi.

Disamping beta karoten, kadar senyawa fenol juga berperan dalam menentukan tingginya aktivitas ekstrak pada rasio 2:2. Peningkatan rasio heksana yang lebih tinggi mengakibatkan penurunan kadar fenol.

Aktivitas penghambatan peroksida pada vitamin A lebih rendah daripada BHT. Hal ini diduga disebabkan konsentrasi vitamin A yang digunakan pada penelitian ini sangat tinggi, yaitu 120000 μg beta karoten/g. Dengan demikian, pada 25 ppm, konsentrasinya adalah 0,003%. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pada konsentrasi tinggi vitamin A juga dapat bersifat prooksidan.

Aktivitas penghambatan peroksida pada vitamin A dan BHT lebih rendah daripada ekstrak antioksidan. Hal ini disebabkan vitamin A dan BHT hanya mengandung satu jenis antioksidan. Madhavi *et al.* (1996), menyatakan gabungan dua atau lebih antioksidan dapat menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi daripada aktivitas masing-masing antioksidan.

Hubungan aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dengan aktivitas penangkap radikal bebas

Aktivitas penangkapan radikal bebas tidak memiliki korelasi yang signifikan dengan aktivitas penghambatan pembentukan peroksida. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi sebesar 27,56%. Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida lebih dipengaruhi oleh mekanisme antioksidatif selain pendonoran elektron atau hidrogen. Hal ini disebabkan mekanisme pendonoran elektron atau hidrogen tidak dapat mencegah fotooksidasi asam linoleat.

Hubungan aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dengan konsentrasi senyawa fenol dan beta karoten

Analisa linier berganda metode "backward" menunjukkan bahwa total fenol adalah faktor yang paling mempengaruhi aktivitas penangkap radikal, dengan persamaan regresi $Y = 57,587 - 1,015.10^{-3} X$ dan nilai koefisien korelasi sebesar 0,634%. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme antioksidatif beta karoten dalam menghambat fotooksidasi lebih berperan daripada mekanisme penangkapan radikal bebas oleh senyawa fenol.

Perlakuan terbaik

Ekstrak dengan rasio pelarut heksana:etanol 1:3 dan 0:4 direkomendasikan penggunaannya sebagai pangan fungsional karena memiliki aktivitas penangkap radikal tertinggi. Madhavi *et al.* (1996) menyatakan bahwa kasus penyakit degeneratif berkaitan erat dengan akumulasi senyawa radikal bebas dalam tubuh.

Pokorny *et al.* (2001) menyatakan, pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan model asam lemak tidak jenuh dapat mewakili total aktivitas suatu antioksidan dalam mencegah kerusakan oksidasi dalam produk makanan. Dengan demikian, ekstrak dengan rasio 2:2 merupakan ekstrak yang paling efektif dalam menghambat kerusakan oksidasi pada makanan.

KESIMPULAN

Kadar beta karoten ekstrak antioksidan dengan perlakuan rasio pelarut heksana:etanol 4:0 > 3:1 > 2:2 > 1:3 > 0:4, sedangkan total fenol ekstrak pada rasio heksana:etanol 0:4 > 1:3 > 2:2 > 3:1 > 4:0. Kadar total fenol pada ekstrak lebih tinggi daripada kadar beta karotennya.

Pada konsentrasi 1900 ppm, aktivitas penangkap radikal cenderung meningkat dengan adanya peningkatan etanol. Ekstrak dengan rasio heksana:etanol 1:3 dan 0:4 memiliki nilai EC_{50} terendah. Total fenol adalah faktor yang paling berpengaruh pada aktivitas penangkap radikal bebas dengan nilai koefisien korelasi sebesar 74,9%.

Ekstrak dengan rasio pelarut 2:2 memiliki aktivitas penghambatan peroksida tertinggi. Beta karoten adalah faktor yang paling berpengaruh pada aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dengan nilai koefisien korelasi sebesar 63,4%.

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida tidak memiliki korelasi yang signifikan dengan aktivitas penangkapan radikal bebas, yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi sebesar 27,56%. Perlakuan terbaik untuk aktivitas penangkapan radikal adalah ekstrak dengan rasio heksana:etanol 1:3 dan 0:4, sedangkan untuk aktivitas penghambat pembentukan peroksida adalah ekstrak dengan rasio 2:2.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2006^a. <http://www.nutritiondata.com/facts>. Nutrition Data. Tanggal akses 6 Mei 2006.
- Anonymous, 2006^b. Introduction. <http://www.cxr.xct/Nutrition/Antioxidants/Introduction.html>. Tanggal akses 3 Februari 2006.
- Anonymous. 2007^a. *Gallic acid*. http://en.wikipedia.org/wiki/gallic_acid. Tanggal akses 11 Januari 2007.
- Anonymous. 2007^b. *Carotenoids*. <http://en.wikipedia.org/wiki/carotenoids>. Tanggal akses 11 Januari 2006.
- Best, B. 2006. *General Antioxidant Actions*. <http://www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html>. Tanggal akses 21 Januari 2006.
- Buettner, Garry R and Larry O.W. 2001. *Is β -carotene an Antioxidant?* <http://www.medicine.uiowa.edu/frrb/education/FreeRadicalSp01/Paper%202/HuJ-paper2.pdf>. Tanggal akses 25 Januari 2006.
- Cagampang, B. G. and Rodriguez, F. M. 1980. *Methods of Analysis for Screening Crops of Appropriate Qualities*. Institute of Plant Breeding University of the Philippines. Los Banos.
- Cordell, R. 2005. *Sweet Potatoes-Nature's Health Food*. <http://www.ncsweetpotatoes.com/nutrition.htm>. Tanggal akses 6 Juli 2005.

- Gadow, A. Von, Hansman, C. F. and Joubert, E. 1997. *Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with that of other Plant Phenols of Rooibos Tea (of Aspalathus linieris), α -tokoferol, BHA and BHT*. J. Agric. Food Chem. 45(3): 632-638.
- Hui, B. 2003. *Production and Application of Natural Carotenoids in The Food Industry of China*. In Dien LD, Vu NK, Lam ND (eds). *Proceedings of ASEAN Food Science and Technology: Cooperation and Integration for Development*. Agricultural Publishing House. Hanoi. 1: 147-152.
- Hung, C. Y and Yen, C. C. 2002. *Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from Mesona procumbens Hensl*. J. Agric. Food Chem. 50:2993-2997.
- Kalt, W. 2005. *Effect of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants*. Journal Food Science. 70:1
- Kitakawa, N. S, H. Kato, A. Takashi and T. Yonemoto. 2004. *Oxidation Kinetics of α -Carotene in Oleic Acid Solvent with Addition of an Antioxidant, α -Tocopherol*. JAOCs 81:4
- MacDougall, Douglas B. 2003. *Colour in Food*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge.
- Madhavi, D.L, S.S Deshpande, D.K Salunkhe. 1996. *Food Antioxidants*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Molyneux, P. 2003. *The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/journal/26-2.pdf/07DPPH.pdf. Tanggal akses 25 Januari 2006.
- Moore, S. R. D. 2006. *Beta-Carotenes Role in Promoting Good Health*. www.cognis.com/veris/ScientificReports/Beta_Carotene_Paper.pdf. Tanggal akses 24 Januari 2006.
- Paiva, A.R and Robert M. R. 1999. *α -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants*. <http://www.jacr.org/cgi/content/full/18/5/426>. Tanggal akses 21 Januari 2006.
- Prakash, A. 2001. *Medallion Laboratories: Analytical Progress*. <http://www.medlabs.com/file.aspx?FileID=56>. Tanggal akses 25 Januari 2006.
- Sax D and Lewis R. 1998. *Dictional Chemistry*. Galler International. Canada
- Suhartina. 2005. *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang
- Traggo, L. N Lestario dan P. Hastuti. 2005. *Sifat Antioksidatif Ekstrak Buah Duwet*. J. Agritech 25(1): 24-31
- Trilaksana, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. www.rudycet.tripod.com/sem2_023/grp_indiv6.htm. Tanggal akses 13 Juli 2005
- Truong V. D., R. L. Thompson, R. F. McFeeters, and M. M. Lanier. 2006. *Phenolic compounds and antioxidant capacity of commercial sweetpotato cultivars*. http://ift.confex.com/ift/2004/techprogram/paper_24092.htm. Tanggal akses 30 Mei 2006.