

KARAKTERISASI DAN POTENSI ANTIOKSIDAN DARI KULIT LUAR UBI KAYU (*Manihot utilissima*)

Glory Karundeng¹, Edi Suryanto², Sri Sudewi¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi, Manado

² Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi, Manado

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol periderm (kulit luar) umbi kuning (PUK) dan putih (PUP) dari ubi kayu dalam penghambatan reaksi oksidasi in vitro homogenat jaringan tikus putih galur wistar, serta identifikasi senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak. Efek inhibisi ditentukan menggunakan metode *2-thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) dimana jaringan hati, jantung dan otak dieskrak hingga didapatkan homogenat kemudian dilakukan pengujian inhibisi menggunakan TBA. Kandungan senyawa fenolik pada PUK dan PUP diidentifikasi gugus fungsionalnya menggunakan spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer uv-vis. Ekstrak etanol periderm umbi kuning menunjukkan adanya potensi inhibisi sebesar 37,13, 56,0, dan 21,73% pada hati, jantung, dan otak sedangkan ubi putih menunjukkan potensi inhibisi sebesar 52,63, 65,33, dan 27,33%. Hasil identifikasi dengan spektrofotometer inframerah menunjukkan adanya gugus fenolik pada PUK dan PUP, ditandai dengan puncak pada 3399, 2926, 1251, 1611, 1517, dan 1452 cm⁻¹ pada PUK serta 3400, 2920, 1054, 1611, 1282, 1517, dan 1452 cm⁻¹ pada PUP. Adapun hasil serapan ekstrak PUK dan PUP pada spektrofotometer uv-vis yang menunjukkan puncak maksimum pada 245 dan 290 nm yang menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolik.

Kata kunci: Periderm, ubi kuning, ubi putih, fenolik, homogenat, TBARS, spektrofotometri infra red

ABSTRACT

The aims of this research were to analyze the potential of ethanol extract of periderm of yellow cassava (PYC) and periderm of white cassava (PWC) in inhibiting in vitro oxidation of tissue homogenates of wistar rat and to identify phenolic compound contained in the extract. Inhibition effect was determined using *2-thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) method by extracting liver, heart and brain to obtain homogenates and then evaluated with TBA. The functional group of phenolic compound in PYC and PWC was identified by infrared spectrophotometry. The results indicate that ethanol extract of PYC could inhibit oxidation by 37.13, 56.0 and 21.73% in liver, heart, and brain while PWC could inhibit oxidation by 52.63, 65.33, and 27.33% in the same organs. The identification of functional group with infrared spectrophotometer showed the presence of phenolic group with absorption peak 3399, 2926, 1251, 1611, 1517, and 1452 cm⁻¹ in PYC and 3400, 2920, 1054, 1611, 1282, 1517, and 1452 cm⁻¹ in PWC. The uv-vis spectrophotometer for PYC and PWC showed the peaks in 245 and 290 nm which indicate the presence of phenolic compound.

Keywords: periderm, yellow cassava, white cassava, phenolic, homogenate, TBARS, infrared spectrophotometer, UV-vis spectrophotometer

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang apabila dalam konsentrasi rendah direaksikan dengan senyawa yang mudah teroksidasi dapat secara signifikan memperlambat atau mencegah oksidasi dari senyawa tersebut (Halliwell & Gutteridge, 1995). Antioksidan dapat mengurangi dan bahkan mencegah kerusakan sel dengan menetralkan radikal bebas sebelum radikal tersebut menyerang sel sehingga mencegah

kerusakan lemak, protein, enzim, karbohidrat, dan DNA (Fang dkk., 2002).

Komponen-komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan dapat ditemukan pada berbagai tanaman. Salah satu komponen kimia yang memiliki peranan penting sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik. Salah satu karakteristik dari senyawa fenolik yang telah diketahui secara luas yaitu kemampuan dalam menangkal radikal bebas. Kapasitas antioksidan

yang tinggi menjadikan senyawa fenolik sebagai faktor utama dalam pertahanan tumbuhan (Escarpa dkk., 2001).

Dengan keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia, potensi untuk menemukan tanaman yang mengandung senyawa fenolik dan dapat berperan sebagai antioksidan sangatlah besar, terutama pada tanaman yang telah dikenal dalam masyarakat. Ubi kayu adalah salah satu makanan pokok masyarakat kepulauan Talaud. Ubi ubi kayu yang sering ditanam dan dikonsumsi adalah ubi yang berwarna putih dan kuning/gading. Ubi yang sudah matang terdiri atas kulit luar (*periderm*), kulit dalam (*cortex*) dan daging ubi (*parenchyma*). Kendati penemuan beberapa penelitian membuktikan bahwa ubi kayu memiliki kandungan antioksidan.

Penelitian Yi dkk. (2011) menunjukkan bahwa pada batang ubi kayu terdapat 10 komponen fenolik yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Selanjutnya pada penelitian dari Tsumbu (2011), daun ubi kayu menunjukkan adanya kandungan polifenol dan flavonoid. Dan pada penelitian Buschmann (2000), terdapat kandungan antioksidan flavan-3-ol pada ubi ubi kayu. Meskipun terdapat berbagai penelitian pada bagian tanaman ubi kayu, namun belum terdapat penelitian tentang potensi antioksidan dan karakterisasi gugus fungsi dari kulit luar (*periderm*) ubi kayu. Bagian tanaman tersebut yang pada umumnya dianggap limbah dapat diteliti kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi antioksidan ekstrak etanol periderm ubi kuning (PUK) dan putih (PUP) dari ubi kayu terhadap oksidasi in vitro homogenat jaringan tikus putih galur wistar serta karakterisasi gugus fungsi untuk mengetahui adanya kandungan senyawa fenolik pada ekstrak.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas *pyrex*, aluminium foil, botol kaca transparan, spatula, mikropipet, tabung ulir, blender, vorteks, ayakan 65 mesh, *rotary evaporator*, Spektrofotometer *Genesys 20*, timbangan analitik, inkubator, *centrifuge*, waterbath, spektrofotometer IR Perkin Elmer. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit ubi kayu (*Manihot utilissima*) berasal dari daerah

Talaud. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 60%, asam tiobarbiturat 0,2%, asam trikloroasetat 10%, H₂O₂ 0,3%, buffer fosfat pH 7, FeSO₄. Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur wistar jantan usia 3-4 bulan.

Preparasi sampel

Ubi kuning dan putih dari ubi kayu dibersihkan dari pengotor lalu dipisahkan antara kulit luar (*periderm*) dan kulit dalam (*cortex*). Selanjutnya sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari lalu dihaluskan dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan 65 mesh.

Ekstraksi

Ekstraksi periderm ubi kuning dan putih menggunakan pelarut etanol 60%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak masing-masing 10 g serbuk periderm ubi kuning dan putih dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer lalu ditambahkan pelarut etanol 150 mL hingga sampel terendam semuanya. Maserasi dilakukan selama 24 jam kemudian disaring. Filtrat diupkan untuk menghilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang telah bebas pelarut dikeringkan dalam oven dengan suhu 40 °C untuk memperoleh ekstrak kering.

Penentuan aktivitas antioksidan dalam homogenat jaringan tikus galur wistar

Penentuan ini menggunakan metode Lai dkk. (2001). Ekstrak periderm ubi kuning dan putih etanol 60% dengan konsentrasi 10 mg/mL. Pertama-tama dilakukan preparasi sampel pada hati, jantung, dan otak basah. Organ yang sudah digiling ditimbang dengan berat hati 0,3 g, jantung 0,8 g, dan otak 2,1 g. Selanjutnya masing-masing organ dilarutkan dengan larutan buffer fosfat dengan pH 7 sebanyak 20 mL, divorteks selama 15 menit kemudian disentrifugasi, dan diambil supernatan.

Setelah pembuatan homogenat selesai, dipipet 0,5 mL supernatan (hati, jantung, otak) dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diberi label, kemudian ditambahkan 0,05 mL buffer fosfat, 0,03 mL FeSO₄, 0,03 mL H₂O₂ 0,3 % dan 0,05 mL ekstrak periderm ubi kuning dan putih. Selanjutnya campuran divorteks dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 10 menit, dan siap diuji dengan metode TBA.

Uji menggunakan metode TBA dilakukan dengan cara 0,5 g larutan ditambahkan dengan

TCA 10%, divorteks kemudian di sentrifugasi selama 10 menit lalu diambil supernatan. Supernatan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan TBA, divorteks dan di panaskan dalam waterbath dengan suhu 100 °C selama 10 menit, didinginkan, dan dibaca absorbansinya pada λ 532 nm dan dihitung presentase penghambatan radikal hidroksil dengan persamaan:

$$\text{Inhibisi radikal (\%)} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi control}} \times 100\%$$

Karakterisasi gugus fungsi dengan spektrofotometer ultraviolet (UV) dan inframerah (IR)

Karakterisasi gugus fungsi meliputi pemeriksaan gugus fungsi dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm dan spektrofotometer inframerah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan periderm ubi kayu

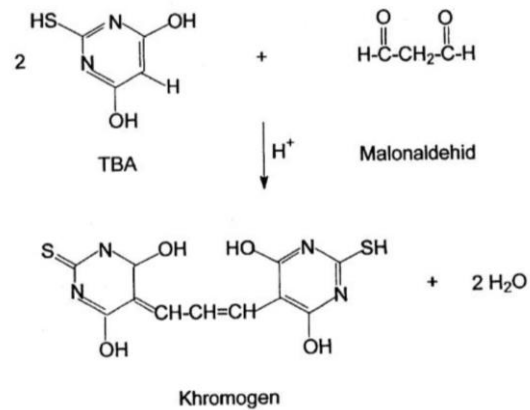
Pengujian antioksidan ekstrak PUK dan PUP menggunakan metode TBARS bertujuan untuk menguji aktivitas penangkal radikal bebas pada jaringan. Hasil uji TBA dari PUK dan PUP konsentrasi 10 mg/mL pada organ hati, otak, dan jantung dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Efek inhibisi dari periderm umbi kuning dan putih

Ekstrak	Efek Inhibisi (%)		
	Hati	Jantung	Otak
PUK	37,13	56,0	21,73
PUP	52,63	65,33	27,33

Keterangan: PUK (periderm umbi kuning) dan PUP (periderm umbi putih)

Angka TBA merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur besarnya kerusakan lipida karena reaksi oksidasi (Shahidi & Hong, 1991). Pada uji ini, terdapat pembentukan warna merah yang disebabkan oleh reaksi antara malonaldehid (MDA) yang merupakan produk oksidasi sekunder dengan asam 2-tiobarbiturat (TBA). MDA direaksikan dengan asam tiobarbiturat (TBA) untuk membentuk pigmen pink (TBARS) yang diukur dengan spektrofotometer pada absorbansi maksimum pada panjang gelombang 530-532 nm.



Gambar 1. Reaksi pembentukan warna merah antara TBA dan MDA (Suryanto, 2012)

Analisis ini menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2) sebagai radikal, karena hidrogen peroksida dapat menghasilkan reaksi dismutasi dari anion superoksida dengan dismutasi superoksida, sehingga menginduksi terjadinya oksidasi. Penyebaran hidrogen peroksida sangat tinggi sehingga dengan mudah mampu menembus membran plasma. Adapun penambahan dari FeSO_4 untuk meningkatkan reaktivitas dari H_2O_2 .

Angka TBA dari hasil pengujian ini dibuat dalam persentase penghambatan dari oksidasi. Besarnya angka TBA berbanding lurus dengan banyaknya produk hasil oksidasi lemak di dalam bahan.

Efek inhibisi yang terdapat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak PUK dan PUP mampu menghambat oksidasi lipida pada organ hati dan jantung, namun tidak terlalu efektif pada organ otak. Efek inhibisi paling rendah terdapat pada otak, ditinjau dari penggunaan organ terbanyak dengan efek inhibisi yang lebih kecil dibandingkan dengan organ lainnya. Kandungan asam lemak tak jenuh majemuk atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam lipid membran berpengaruh dalam oksidasi lipid. PUFA didegradasi oleh radikal bebas (H_2O_2) sehingga menghasilkan MDA, yang kemudian direaksikan dengan TBA membentuk

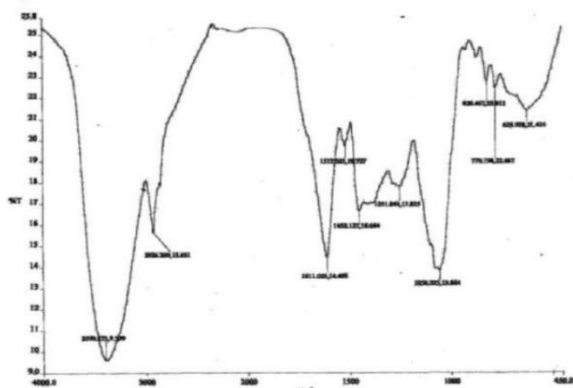
TBARS. Menurut Kontos (1982) dan Halliwell (1992), otak sangat rentan terhadap radikal bebas turunan oksigen. Otak adalah organ dengan tingkat oksidasi yang tinggi dan sebagian besar energinya berasal dari metabolisme oksidatif. Membran lipid pada otak mengandung PUFA dengan jumlah yang banyak, yang sangat sensitif terhadap peroksidasi radikal bebas. Oleh karena itu, rendahnya persentase

efek inhibisi pada otak menunjukkan tingkat kerusakan otak yang tinggi, sehingga penangkalan radikal bebas dari ekstrak PUK dan PUP tidak terlalu efektif oleh karena besarnya tingkat oksidasi pada otak yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif H_2O_2 . Hal ini juga ditunjang oleh adanya kadar besi yang tinggi pada otak dan aktivitas berlebih dari reseptor glutamat yang dapat langsung mendukung terjadinya pembentukan radikal bebas (Bondy & LeBel, 1993).

Karakterisasi ekstrak periderm ubi kayu dengan IR

Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak periderm ubi kuning dan putih dari ubi kayu menggunakan spektrofotometer inframerah. Analisis gugus fungsi dari suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum inframerah menggunakan tabel korelasi.

Hasil dari data spektroskopi inframerah pada ekstrak PUK ditunjukkan pada Gambar 2 dan karakteristik gugus fungsi dirangkum pada Tabel 2. Ekstrak PUK memberikan puncak pada daerah bilangan gelombang 3399 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus O-H yang didukung dengan adanya pita serapan pada 2926 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metil, serta adanya gugus C-O pada serapan lemah pada 1251 cm^{-1} . Pada serapan kuat 1611 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan gugus aromatik yang terkonjugasi, yang diperkuat oleh bilangan gelombang pada 1517 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1452 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan gugus metilen (CH_2). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak PUK diduga mengandung senyawa fenolik.

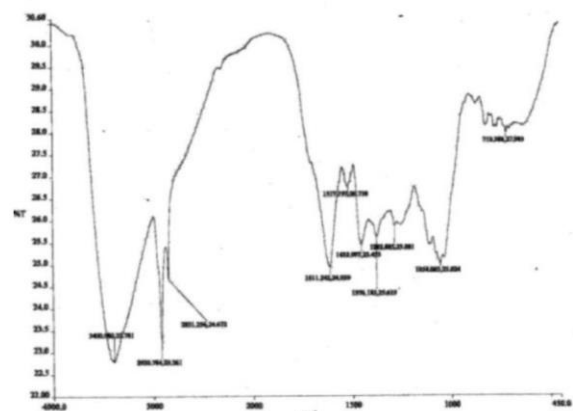


Gambar 2. Analisis infrared pada periderm ubi kuning etanol 60%

Tabel 2. Karakteristik gugus fungsi pada sampel periderm ubi kuning

Ika-tan	Daerah Frekuensi Ekstrak	Intensitas	Daerah Frekuensi Literatur (cm^{-1})	Gugus Fungsi
O-H	3399	Kuat	3399-3600	Alkohol, ikatan hidrogen, fenol
C-H	2926	Sedang	2850-2970	Metil
C-O	1251	Lemah	1050-1300	
	1611	Kuat	1610-1680	Aromatik
	1517	Lemah	1500-1570	Aromatik
C-H	1452	Sedang	1340-1470	Metilen

Hasil dari data spektroskopi inframerah pada ekstrak PUP ditunjukkan pada Gambar 3 serta karakteristik gugus fungsi dirangkum pada Tabel 3. Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak PUP diduga mengandung senyawa fenolik.



Gambar 3. Analisis infrared pada periderm ubi putih etanol 60%

Ekstrak memberikan puncak pada daerah bilangan gelombang 3400 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus O-H yang didukung dengan adanya pita serapan pada 2920 cm^{-1} . Bilangan gelombang 1054 cm^{-1} memperkuat gugus O-H karena ada ikatan C-O pada serapan sedang, dan didukung oleh bilangan gelombang 1282 cm^{-1} pada serapan lemah. Serapan kuat pada bilangan gelombang 1611 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan gugus aromatik yang terkonjugasi, yang diperkuat oleh bilangan gelombang pada 1517 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1452 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan pada gugus metilen (CH_2).

Tabel 3. Karakteristik gugus fungsi pada sampel periderm umbi putih

Ika-tan	Daerah Frekuensi Ekstrak	Intensitas	Daerah Frekuensi Literatur (cm^{-1})	Gugus Fungsi
O-H	3400	Kuat	3399-3600	Alkohol, ikatan hidrogen, fenol
C-H	2920	Sedang	2850-2970	Metil
C-O	1054	Lemah	1050-1300	
	1611	Kuat	1610-1680	Aromatik
C-O	1282	Lemah	1180-1360	
	1517	Lemah	1500-1570	Aromatik
C-H	1452	Sedang	1340-1470	Metilen

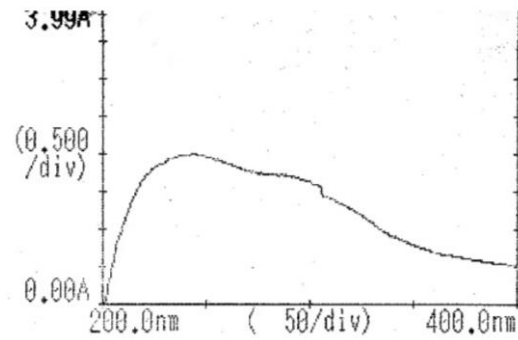
Senyawa berikatan kovalen mempunyai kemampuan menyerap radiasi elektromagnetik dalam daerah spektrum inframerah. Absorpsi radiasi infrared pada material tertentu berkaitan dengan fenomena bergetarnya molekul atau atom.

Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisi cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam dkk., 2007).

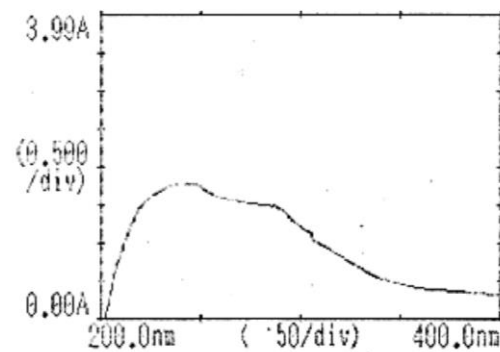
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada analisis gugus fungsi dengan spektrofotometer inframerah, data spektroskopi inframerah menunjukkan adanya senyawa fenolik pada PUK dan PUP.

Karakterisasi ekstrak periderm ubi kayu dengan UV

Ekstrak etanol PUK dan PUP memiliki dua puncak serapan UV-Vis sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4 dan 5. PUK dan PUP menunjukkan puncak serapan primer dan sekunder pada panjang gelombang yang sama, yaitu 245 nm untuk serapan primer dan 290 nm untuk serapan sekunder. Hal ini menunjukkan bahwa PUK dan PUP memiliki kandungan senyawa yang sama.



Gambar 4. Spektrum UV dari ekstrak etanol periderm ubi kuning



Gambar 5. Spektrum UV dari ekstrak etanol periderm ubi putih

Berdasarkan hasil yang diperoleh, puncak serapan primer 245 nm pada PUK dan PUP menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolik, mengacu pada data spektrum UV maximum senyawa fenolik menurut Harborne (1989). Adapun Shi (1980) mengidentifikasi senyawa fenolik pada puncak serapan 290 nm, sehingga puncak serapan sekunder 290 nm pada PUK dan PUP mengindikasikan bahwa senyawa fenolik terkandung dalam ekstrak PUK dan PUP.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol periderm umbi kuning dan putih memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat menghambat oksidasi pada homogenat jaringan tikus putih galur wistar. Karakterisasi gugus fungsi dengan spektrofotometer inframerah menunjukkan adanya ikatan O-H, C-H, dan C-O serta gugus metilen (CH_2) pada periderm umbi kuning dan putih dari ubi kayu sehingga ekstrak diduga mengandung senyawa fenolik. Pengukuran dengan spektrofotometer uv-vis pada ekstrak fenolik periderm umbi

kuning dan putih menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolik pada kedua ekstrak, ditandai dengan puncak serapan pada 245 dan 290 nm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, C., Sirojudin & Firdausi, K. 2007. Analisis gugus fungsi pada sampel uji bensin dan spiritus menggunakan metode spektroskopi FTIR. *Berkala Fisika*. 10(2), 1410-1662.
- Buschmann, H., Reilly, K., Rodriguez, M., Tohme, J. & Becching, J. 2000. Hydrogen peroxide and flavan-3-ols in storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) during postharvest deterioration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(11), 5522-5529.
- Bondy, S.C. & LeBel, C.P. 1993. The relationship between excitotoxicity and oxidative stress in the central nervous system. *Free Radical Biology and Medicine*. 14(6), 633-642.
- Escarpa, A. & Gonzalez, M.C. 2001. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 31(2), 57-139.
- Fang, Y., Yang, S. & Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 18(10), 872-879.
- Halliwell, B. 1992. Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*. 59(5), 1609-1623.
- Halliwell B. & Gutteridge, J.M.C. 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*. 18(1), 125-126.
- Harborne, J.B. 1989. *Methods in Plant Biochemistry*. London: Academic Press.
- Kontos, H.A. 1989. Oxygen radicals in CNS damage. *Chemico-Biological Interactions*. 72(3), 229-255.
- Lai, L-S, Chou, S-T. & Chao, W-W. 2001. Studies on the antioxidative activities of hsian-tsoo (*Mesona procumbers* Hemsi) leaf gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(2), 963-968.
- Shahidi, F. & Hong, C. 1991. Evaluation of malonadehyde as a marker of oxidative rancidity in meat product. *Journal of Food Biochemistry*. 15(2), 97-105.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia antioksidan*. Putra Media Nusantara. Surabaya.
- Tsumbu, C., Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Franck, T., Serteyn, D. & Mickalad, A., 2011. Antioxidant and antiradical activities of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) leaves and other selected tropical green vegetables investigated on lipoperoxidation and phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) activated monocytes. *Nutrients*. 3(9), 818-838.
- Yi, B., Hu, L., Mei W., Zhou K., Wang, H., Luo, Y., Wei, X. & Dai, H. 2011. Antioxidant phenolic compounds of cassava (*Manihot esculenta*) from Hainan. *Molecules*. 16(12), 10157-10167.