

PENGARUH LAMA PERENDAMAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EMPELUR SAGU BARUK (*Arenga microcharpha*)

Lidya Irma Momuat^{1*} dan Edi Suryanto¹

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

ABSTRAK

Sagu baruk merupakan salah satu jenis tanaman endemik Kepulauan Sangihe Talaud, Sulawesi Utara. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh lama perendaman terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak empelur sagu baruk. Empelur sagu segar diekstraksi dengan air destilat dan selanjutnya disimpan selama 1, 2 dan 3 hari. Setelah itu, disaring dan filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan cara pemanasan. Ekstrak empelur sagu baruk dianalisis kandungan total fenolik dengan metode Folin Ciocalteu. Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan penangkalan radikal bebas difenil pikrilhidrazil (metode DPPH), total antioksidan (metode FRAP), kapasitas antioksidan (Metode fosfomolibdat) dan kemampuan mereduksi (metode kalium ferisianida). Hasil analisis terhadap kandungan total fenolik menunjukkan bahwa ekstrak empelur pada waktu perendaman hari ke-1 lebih tinggi dibandingkan dengan lama perendaman hari ke-2 dan 3. Hasil ini sejalan dengan pengujian aktivitas penangkal radikal bebas dengan lama perendaman hari ke-1 lebih tinggi daripada lama perendaman hari ke-2 dan ke-3. Demikian pula, kapasitas antioksidan (fosfomolibdat) dan kemampuan mereduksi menunjukkan bahwa ekstrak empelur pada lama perendaman hari ke-1 memiliki kapasitas antioksidan lebih tinggi daripada lama perendaman hari ke-2 dan 3. Ada pengaruh bahwa lama perendaman empelur sagu baruk mempengaruhi terhadap kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak empelur dengan lama perendaman hari ke-1 hari memiliki waktu yang optimal untuk mendapat kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi.

Kata kunci: Sagu baruk, ekstrak, lama perendaman, fenolik, antioksidan

ABSTRACT

Sago baruk is one of endemic crop type of Archipelago of Sangihe Talaud, North Sulawesi. The objectives of this research were to study immersion time effect on antioxidant activity of sago baruk pith extract. The fresh sago baruk trunks pith was extracted with destilate water and stored at room temperature for 1, 2 and 3 days. After that, the filtrate was evaporated with heating technique. The pith extract was analysed phenolic total content by spectrophotometer. Antioxidant activity of each pith extract are evaluated in 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging (DPPH method), total antioxidant (FRAP method), antioxidant capacity (Phosphomolybdate method) and reducing power (potassium ferricyanide method). The result of analysis in phenolic content showed that pith extract at immersion time of first day higher compared with second and third days. The result is in line with free radical scavenging measuring with immersion time of first day higher than second and third days. Likewise, the total antioxidant, antioxidant capacity and reducing power also showed that pith extract in immersion time of first day has highest antioxidant capacity than second and third days. There is effect that immersion time of sago baruk pith influence on phenolic content and antioxidant activity. This result concluded that sago baruk pith extract having phenolic compound and antioxidant activities. There is effect that immersion time of sago baruk pith influence on phenolic content and antioxidant activity. This result concluded that sago baruk pith extract having phenolic compound and antioxidant activities.

Keywords: Sago baruk pith, extract, immersion time, phenolic, antioxidant

PENDAHULUAN

Sagu baruk (*Arenga microcharpha* Beccari) merupakan tanaman endemik yang banyak tumbuh di daerah Kabupaten Sitaro, Sangihe, Talaud dan telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai pangan lokal. Sagu baruk dapat digunakan sebagai sumber potensial pati dan pangan fungsional sehingga

dapat dijadikan pangan alternatif. Pati sagu baruk merupakan hasil ekstraksi empulur pohon sagu yang dapat dilakukan secara manual maupun mekanis. Pati sagu dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi empulur batang sagu yang telah dihancurkan terlebih dahulu. Setelah ekstraksi berulang-ulang dengan air, dilakukan

* Korespondensi :

Telepon: +62 813-5675-1769

E-mail: limomuat@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.9.1.2016.13909>

penyaringan dan pengendapan pati selama waktu tertentu. Air hasil rendaman pati kemudian dibuang sehingga diperoleh tepung sagu basah (Papilaya, 2009).

Proses pengolahan sagu menjadi pati sagu, diduga terjadi penurunan hasil dan kualitas serta nilai fungsional dari pati sagu. Padahal air cucian selama proses pengolahan tepung sagu mengandung fitokimia yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Menurut Tahir (2004) bahwa ekstrak empelur, limbah empelur dan limbah cair dari proses pengolahan sagu jenis *metroxylon* memiliki aktivitas antioksidan dan tidak memiliki sifat toksik. Penelitian lain menyatakan bahwa senyawa polifenolik dari ekstrak cair sagu menunjukkan secara efektif menurunkan radikal bebas dalam semua jaringan hewan coba (Ramasamy *et al.*, 2005). Selanjutnya kandungan pati sagu yang diberikan pada tikus percobaan mampu menurunkan peroksida lipida (Hirao & Igarashi, 2003). Penelitian lain, melaporkan bahwa tepung sagu baruk mengandung fitokimia fenolik, flavonoid dan tannin terkondensasi serta memiliki aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode penangkal radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi (Momuat dkk., 2015; Tarigan dkk., 2015).

Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan fenolik alami yang terdapat dalam sayuran, buah-buahan dan rempah-rempah mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan yakni dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, penyakit jantung koroner dan kanker (Ames & Shigenaga, 1993; Shahidi, 1997). Hal ini disebabkan produk derivat tanaman (edibel dan non edibel) mengandung sejumlah besar fitokimia dan senyawa fenolik (asam fenolik, flavonoid, tanin, lignan) dan non fenolik (karotenoid, vitamin C) yang memiliki kemampuan dalam penangkapan dan penghambatan ROS dan radikal bebas (Haliwell dan Guttridge, 2001). Sejauh ini aktivitas antioksidan dari empelur batang sagu baruk belum banyak yang terungkap. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak empelur batang sagu baruk.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yang dilaksanakan di UPT

Laboratorium Terpadu Universitas Sam Ratulangi, Manado dan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado baik preparasi, ekstraksi dan pengujian aktivitas antioksidan.

Bahan dan alat

Sagu baruk diperoleh dari Desa Manganitu, Kabupaten Sangihe, Sulawesi Utara. Beberapa bahan kimia yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah berkualifikasi pro analisis: etanol, natrium karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, natrium asetat, asam asetat, asam klorida, besi(III) klorida, Besi(II) sulfat, buffer fosfat (0,2 M, pH 6,6), kalium ferisianida, asam sulfat, natrium sulfat, ammonium molibdat dan asam galat diperoleh diperoleh dari MERCK (Darmstadt, Germany). 2,4,6 tri-pyridyl-s-triazine (TPTZ) diperoleh dari Fluka, Chemic AG (Deisenhoten, Switzerland). 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma Chemical Co. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *water bath* (Thermologic), *blender* (Phillip), desikator, panci, pisau, alat-alat gelas, mikropipet (Brand, 100-1000 μ L), *vortex mixer* (Vm-300), pengaduk magnet, *hot plate* (Industrial Equipment & Control, Australia), timbangan analitik (Sortorius), oven (Mammert) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1700).

Pengambilan sampel

Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dan tepung sagu baruk adalah tanaman sagu yang siap panen dengan umur panen sekitar 12 tahun. Tanaman sagu baruk diperoleh dari daerah Manganitu, Kabupaten Sangihe, Sulawesi Utara.

Ekstraksi empelur batang sagu baruk

Proses pembuatan ekstrak dari empelur dilakukan setelah batang dibelah memanjang sehingga bagian dalam terbuka. Bagian teras batang dicacah dan diambil kemudian empelurnya dipotong-potong kecil dengan menggunakan pisau *stainless steel* dengan ukuran 1 cm. Sebanyak 50 g empelur sagu baruk basah diekstraksi dengan 3x 250 mL akuades kemudian dihaluskan dengan *blender* selama 5 menit dan dilakukan penyaringan menggunakan kain sifon untuk memperoleh filtrat dan ampas. Ampas empelur diekstraksi kembali diekstraksi dengan cara yang sama, selanjutnya filtrate digabung dan didiamkan selama 1, 2 dan 3 hari

untuk memisahkan antara supernatan dan endapan sagu. Setelah itu, supernatant diuapkan dengan cara pemanasan untuk mendapatkan ekstrak empelur batang sagu baruk. Rendemen dari ekstrak empelur batang sagu baruk dihitung berdasarkan berat kering dan hasilnya disimpan pada suhu 5 °C sebelum dilakukan analisis fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik dalam ekstrak empelur batang sagu baruk dan *cookies* ditentukan dengan metode Li dkk. (2009). Sampel sebanyak 0,1 mL ditambahkan dengan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu (50%) dalam tabung reaksi dan kemudian campuran ini divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, 2 mL larutan Na₂CO₃ 2% ditambahkan. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel dibaca dengan spektrofotometer pada λ 750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam $\mu\text{g/mL}$ ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

Penentuan penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas aktioksidan menggunakan metode penangkal radikal bebas DPPH Li dkk. (2012). Dipersiapkan sebanyak 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 93 μM dalam etanol dan ditambahkan 0.5 mL ekstrak tepung sagu baruk. Berubahnya warna larutan dari ungu ke warna kuning menunjukkan efisiensi penangkap radikal. Selanjutnya pada lima menit terakhir menjelang 30 menit, absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkalan radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\left[1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}}\right] \times 100\%$$

Penentuan total antioksidan (FRAP)

Penentuan total antioksidan ditentukan menurut metode *ferric reducing ability of plasma* (FRAP) (Szydłowska-Czerniak dkk., 2008). Pengukuran dilakukan dengan mengambil 0,1 mL ekstrak atau fraksi yang dilarutkan dalam etanol dicampurkan dengan 3 mL reagen FRAP dalam keadaan segar. Kemudian campuran dikocok dengan alat *vortex* dan setelah itu, segera dilakukan pengukuran absorbansinya pada panjang gelombang 593 nm. Reagen FRAP

selalu dipersiapkan dalam keadaan segar dengan mencampurkan 2,5 mL, 10 mM larutan 2,4,6-tripiridil-*s*-triazina (TPTZ) dalam 40 mM HCl mM dengan 2,5 mL, 20 mM larutan FeCl₃ 6H₂O dan 2,5 mL, 0,3 M buffer asetat pada pH 3,6. Kandungan total antioksidan dinyatakan sebagai ekuivalen Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ dalam $\mu\text{mol/L}$ ekstrak. Untuk membuat kurva standar dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan larutan FeSO₄ dengan konsentrasi antara 100-1000 $\mu\text{mol/L}$.

Penentuan kapasitas antioksidan

Penentuan total antioksidan dalam beras analog ditentukan berdasarkan metode Prieto dkk. (1999). Sampel sebanyak 0,3 mL ditambahkan dengan reagen molibdat (0,6 M asam sulfat, 28 mM natrium sulfat dan 4 mM amonium molibdat sebanyak 0,3 mL dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan diinkubasi pada 90 °C selama 90 menit di dalam *water bath* dan absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Kandungan total kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai asam askorbat. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan asam askorbat (0,1-1 mg/mL) sebagai standar.

Penentuan kemampuan mereduksi

Kemampuan mereduksi ekstrak ditentukan menurut Yen & Chen (1995). Ekstrak ekstrak dilarutkan dalam 1 mL air (demineralisasi) selanjutnya dicampur dengan buffer fosfat (2,5 mL, 0,2 M, pH 6,6) dan 2,5 mL kalium ferisianida 1%, campuran diinkubasi pada 50 °C selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi campuran 2,5 mL asam trikloroasetat ditambahkan dan divortex selama 5 menit, selanjutnya disentrifusi pada 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 2,5 mL lapisan atas dari larutan tersebut ditambah dengan 2,5 mL air deionisasi dan 0,5 mL besi (III) klorida 0,1%. Meningkatnya absorban dari campuran tersebut berarti menunjukkan bertambahnya kemampuan mereduksi yang diukur pada λ 700 nm.

Analisis statistik

Semua data eksperimen dilakukan dua kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata \pm SD. Analisis dilakukan menggunakan *software* SPSS versi 18.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan kandungan total fenolik

Rendemen hasil ekstraksi empelur batang sagu baruk dengan lama penyimpanan selama 3 hari disajikan pada Tabel 1. Data rendemen yang diperoleh untuk lama perendaman 1, 2 dan 3 hari berturut-turut adalah 4,68; 4,26 dan 4,77%. Dari perlakuan lama penyimpanan, persentase rata-rata rendemen menunjukkan pengaruh terhadap lama penyimpanan empelur batang sagu baruk.

Tabel 1. Rendemen dan kandungan total fenolik ekstrak empelur batang sagu baruk

Lama penyimpanan (Hari)	Rendemen (%)	Kandungan total fenolik ($\mu\text{g/mL}$)
1	4,68 \pm 0,40 ^a	53,47 \pm 2,16 ^a
2	4,25 \pm 0,97 ^b	45,51 \pm 0,43 ^b
3	4,77 \pm 0,54 ^c	45,20 \pm 2,02 ^b

Data dinyatakan dalam rata-rata \pm SD dari 2 ulangan. *Data dengan *superscript* huruf yang sama dalam satu kolom berarti tidak berbeda nyata ($p < 0,05$)

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa pengaruh lama penyimpanan empelur batang sagu dan air selama proses pemanasan memberikan produk ekstrak kental seperti gula merah. Selain itu, komponen-komponen yang mudah menguap juga dapat tertahan sampai terbentuknya produk ekstrak. Pertimbangan pemilihan teknik penguapan untuk memproduksi ekstrak empelur sagu baruk, karena dengan cara pemanasan ekstrak yang diperoleh memiliki warna yang lebih coklat dibandingkan dengan teknik penguapan dengan menggunakan alat vakum untuk mendapatkan senyawa aktif yang dapat berperan sebagai antioksidan dari empelur batang sagu baruk.

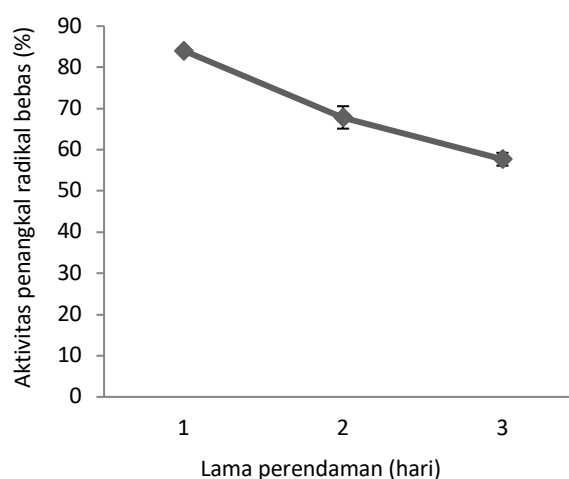
Hasil analisis kandungan fitokimia dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan kandungan total fenolik dalam ekstrak empelur batang sagu baruk disajikan dalam Tabel 1. Dari perlakuan lama perendaman hari ke-1, 2 dan 3, semua memiliki kandungan total fenolik yang signifikan. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak empelur sagu baruk yang diuji kaya dalam fitokimia fenolik. Dari data secara kuantitatif menunjukkan bahwa kandungan total fenolik dengan lama perendaman hari ke-1 memiliki perbedaan dengan lama perendaman hari ke 2 dan tetapi lama perendaman hari ke-2 dan 3 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Semakin lama perendaman semakin menunjukkan penurunan kandungan total fenolik. Hal ini mungkin disebabkan adanya reaksi

pencoklatan yang terkatalisis oleh enzim polyfenoloksidase (PPO). Menurut Mayer, reaksi ini terjadi ketika sel tanaman dipecahkan oleh luka, pemotongan atau penghancuran, dimana senyawa fenolik indigenus teroksidasi dalam hadirnya molekul oksigen untuk menghasilkan pigmen berwarna coklat (Mayer, 1986; Mayer & Harel, 1981).

Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa produksi optimal ekstrak empelur batang sagu baruk terdapat pada lama perendaman hari ke-1. Data ini didukung hasil pengujian kandungan total fenolik dalam sampel ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam ekstrak empelur sagu baruk, bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning dan akan berubah menjadi warna biru (Prior dkk., 2005). Semakin tua intensitas warnanya menandakan semakin tinggi kandungan total fenolik di dalam ekstrak. Dalam hal ini ekstrak empelur sagu baruk dengan lama perendaman hari ke-1 memiliki intensitas warna biru yang lebih tua dibandingkan dengan ekstrak empelur dengan lama perendaman hari ke-2 dan ke-3.

Aktivitas penangkal radikal bebas

Aktivitas penangkal radikal bebas dari ekstrak empelur batang sagu baruk dengan berbagai perlakuan dievaluasi dengan pengujian radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa DPPH adalah radikal bebas stabil dan menerima satu elektron atau hidrogen menjadi molekul yang stabil (Matthaus, 2002). Pengujian aktivitas penangkap radikal bebas DPPH secara spektrofotometer dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan DPPH.



Gambar 1. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ekstrak empelur sagu baruk.

Hasil pengujian aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari perlakuan ekstrak empelur batang sugu baruk disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas penangkal radikal bebas paling tinggi terdapat pada lama perendaman hari ke-1 daripada lama perendaman hari ke-2 dan ke-3. Secara umum, hasil ini membuktikan bahwa ketiga ekstrak yang diperoleh dari pengaruh lama perendaman memiliki aktivitas penangkal radikal bebas >50%.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa semakin lama perendaman semakin menurun kemampuan sebagai penangkal radikal bebas. Hal ini mungkin berhubungan dengan kandungan total fenolik yang terdapat dalam cairan empelur telah mengalami perubahan yang diakibatkan oleh enzim polifenoloxidase (PPO). Enzim polifenoloxidase merupakan enzim yang dapat menghasilkan pigmen yang berwarna coklat. Menurut Okamoto dkk. (1985) mengidentifikasi DL-epicatechin, D-catechin and procyanidin dalam empelur tanaman sugu (Metroxylon) dan mencatat bahwa DL-epicatechin and D-catechin dapat menghasilkan senyawa berwarna melalui oksidasi dengan enzim yang terdapat dalam empelur tanaman sugu. Perubahan warna ini diduga kuat dapat mengubah senyawa fenolik menjadi senyawa bentuk lain yang bersifat bukan antioksidan dan berakibat pada menurun aktivitas anti radikal bebas.

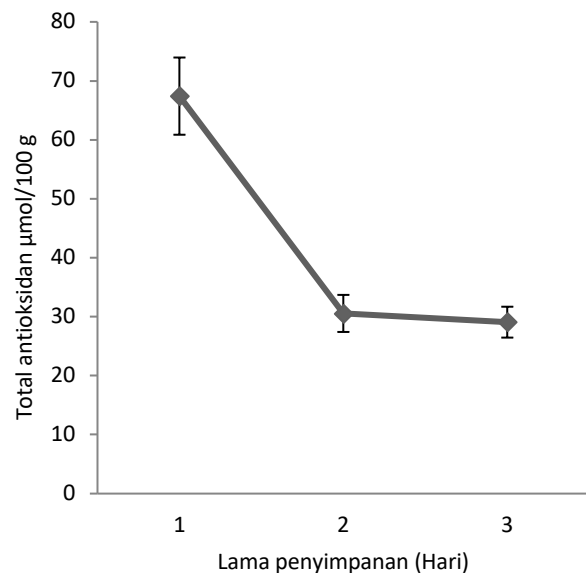
Data lama perendaman hari ke-1 menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak empelur sugu memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal bebas DPPH. DPPH adalah senyawa radikal bebas yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu senyawa antioksidan pada ekstrak empelur batang sugu dan membentuk DPPH tereduksi. Perubahan serapan yang dihasilkan oleh reaksi ini menjadi ukuran kemampuan senyawa antioksidan dari bahan tersebut.

Dengan demikian, perlakuan lama perendaman hari ke-1 memiliki potensi besar sebagai penangkal radikal bebas DPPH dan berkemampuan tinggi untuk melepaskan atom hidrogen atau elektron kepada radikal difenilpicrilhidrazil (violet) menjadi senyawa non radikal difenilpicrilhidrazilin (kuning) (Molyneux, 2004). Tinggi rendahnya aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari dua perlakuan disini tergantung pada lama

penyimpanan, pengadukan atau tanpa pengadukan dan seberapa besar kandungan fenolik terdapat dalam empelur batang sugu baruk. Efek penangkalan radikal bebas DPPH meningkat dengan peningkatan jumlah ekstrak yang diberikan.

Total antioksidan

Hasil analisis kapasitas total antioksidan ekstrak empelur batang sugu baruk pada kedua perlakuan (pengadukan dan tanpa pengadukan) dapat dilihat pada Gambar 2. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi besi(III)-tripiridil-triazin menjadi besi(II)-tripiridil-triazin. Metode FRAP bekerja berdasarkan reduksi dari ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripiridil-triazin $Fe(TPTZ)^{3+}$ menjadi kompleks Fe^{2+} , $Fe(TPTZ)^{2+}$ yang berwarna biru oleh antioksidan pada suasana asam. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 596 nm dan dapat disimpulkan sebagai jumlah Fe^{2+} (dalam mikromol) ekuivalen dengan antioksidan standar.



Gambar 2. Total antioksidan ekstrak empelur sugu baruk.

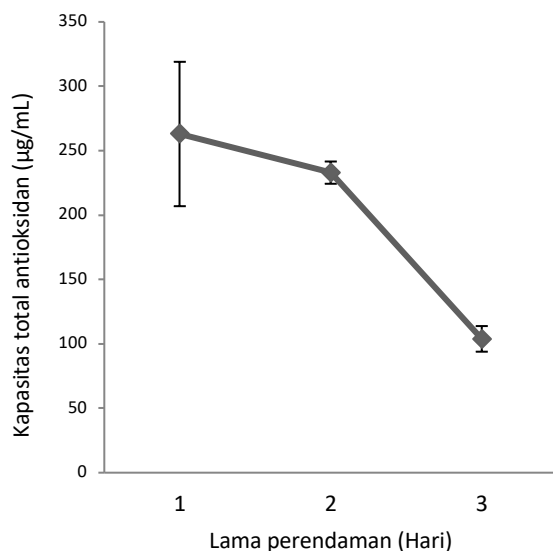
Gambar 2. konsentrasi Fe^{2+} tertinggi terdapat pada perlakuan lama perendaman hari ke-1 sebesar 433,89 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ dengan lama perendaman hari ke-3 dan yang paling rendah sebesar 262,96 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak empelur sugu baruk pada hari-1 memiliki kemampuan dalam mereduksi Fe^{3+} -(TPTZ) menjadi Fe^{2+} -(TPTZ). Total antioksidan kedua perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Produksi

ekstrak empelur sagu baru dengan perlakuan lama perendaman pada hari ke-1 menunjukkan kemampuan mereduksi paling besar daripada perlakuan lama perendaman hari ke-2 dan ke-3. Hal ini membuktikan bahwa lama perendaman hari ke-1 memiliki kemampuan tinggi untuk mendonorkan elektronnya. Tinggi rendahnya kandungan total antioksidan dalam kedua perlakuan tergantung pada lama penyimpanan empelur batang sagu baru semakin lama masa penyimpanan semakin rendah nilai total antioksidan ekstrak empelur batang sagu.

Hasil ini juga sejalan dengan kandungan fenolik dan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH. Senyawa fenolik memiliki kemampuan untuk mereduksi beberapa ion logam teroksidasi. Senyawa fenolik banyak terdapat gugus hidroksi yang dapat dijadikan donor elektron. Kemampuan mereduksi senyawa bioaktif dapat diasosiasikan dengan aktivitas antioksidan. Pengujian kemampuan mereduksi sampel yang mengandung antioksidan merupakan reduktan. Sampel akan mereduksi ion kompleks Fe^{3+} untuk membentuk ion Fe^{2+} (Siddhuraju dkk., 2002).

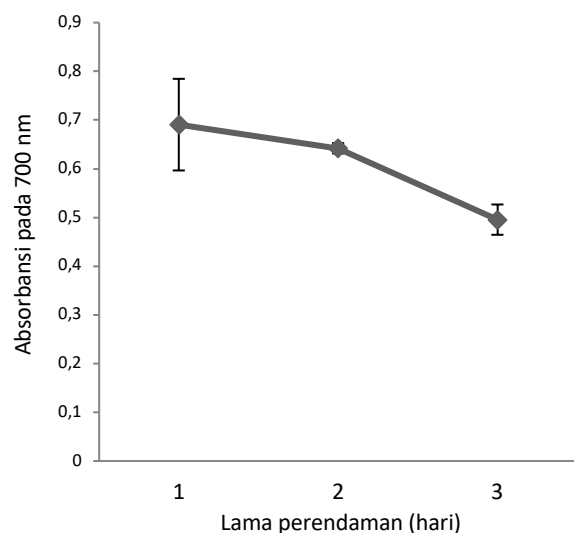
Kapasitas antioksidan

Pengujian antioksidan dengan metode fosfomolibdat berdasarkan kemampuan sampel untuk mereduksi $Mo(VI)$ menjadi $Mo(V)$ yang dideteksi dengan pembentukan warna hijau pada kompleks molibdenum(V) pada pH asam dan dibaca dengan spektrofotometer. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 695 nm dan dinyatakan dalam μg asam askorbat ekuivalen per mg ekstrak.



Gambar 3. Kapasitas antioksidan ekstrak empelur sagu baru

Metode ini didasarkan pada kemampuan sampel dalam mereduksi $Mo(IV)$ yang terdapat pada reagen menjadi $Mo(V)$ (Prieto dkk., 1999). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak empelur bersifat polar sehingga dapat mereduksi $Mo(IV)$ menjadi $Mo(V)$. Kapasitas antioksidan pada ekstrak empelur batang sagu baru selama 3 hari penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 3. Lama perendaman hari ke-1 menunjukkan paling tinggi kapasitas antioksidannya daripada dengan lama perendaman hari ke-2 dan ke-3. Dari data itu memperlihatkan bahwa pengujian aktivitas antioksidan dengan fosfomolibdat memperlihatkan hubungan dengan kandungan total fenolik pada semua waktu perendaman. Tinggi rendahnya kapasitas antioksidan dari dua perlakuan disini tergantung pada lama perendaman. Ada kecenderungan semakin lama waktu perendaman semakin rendah kapasitas antioksidannya. Hal ini mungkin disebabkan terbentuknya enzim fenolase melalui kontak dengan udara sehingga menurunkan kandungan total fenolik ekstrak empelur sagu baru dan sebaliknya dengan lama waktu penguapan filtrat dapat mempercepat pembentukan pencoklatan non enzimatis sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan melalui pembentukan senyawa pencoklatan.



Gambar 4. Kemampuan mereduksi ekstrak empelur sagu baru

Kemampuan mereduksi

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi ekstrak terhadap ion kompleks Fe^{3+} /ferrisianida untuk membentuk ion Fe^{2+} . Ion Fe^{2+} yang terbentuk dapat diamati dengan mengukur pembentukan warna biru

Pers's Prussian pada 700 nm. Kenaikan absorban pada λ 700 nm menunjukkan suatu kenaikan dalam kemampuan mereduksi (Lai dkk., 2001). Hasil pengujian kemampuan mereduksi ekstrak dengan pengaruh lama perendaman dapat dilihat pada Gambar 4.

Kemampuan mereduksi dari ekstrak dengan lama perendaman 1 hari memiliki nilai absorbansi yang lebih besar daripada lama perendaman hari ke-2 dan ke-3 ($p < 0,05$). Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan absorbansi ekstrak dengan lama perendaman hari ke-1. Peningkatan absorbansi mengindikasikan meningkat dalam kemampuan mereduksi yang disebabkan tingginya potensi antioksidan. Nilai absorbansi dengan lama perendaman hari ke-1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 0,69; 0,64 dan 0,50.

Gambar 4. menunjukkan bahwa dengan pengaruh lama perendaman empelur batang sagu baruk memiliki nilai absorbansi semakin menurun. Hal ini mungkin disebabkan pengaruh enzim fenolase yang terdapat dalam cairan ekstrak sehingga dapat menurunkan kandungan senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak. Turunnya kandungan senyawa fenolik dapat menurunkan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak. Oleh karena itu, ekstrak dengan lama perendaman hari ke-1 memiliki kemampuan mereduksi yang tinggi untuk mendonorkan elektronnya kepada Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Dengan kata lain, kapasitas donor elektron tersebut menggambarkan kemampuan mereduksi senyawa bioaktif atau ekstrak yang dihubungkan dengan tingginya potensi antioksidan dalam ekstrak empelur.

Menurut Yen & Chen (1995), antioksidan dengan kemampuan mereduksi tinggi merupakan donor elektron yang memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi berantai radikal dengan cara merubah radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil. Menurut Lai dkk. (2001), dalam uji daya reduksi, reduktor (antioksidan) dari ekstrak akan mereduksi Fe^{3+} kompleks kalium ferisianida $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ menjadi bentuk Fe^{2+} (bentuk ferro) dengan persamaan sebagai berikut: $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] \rightarrow \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ atau $\text{Fe}^{3+} + e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Reduksi besi(III) sering digunakan sebagai suatu indikator untuk kemampuan mendonorkan elektron dan ini merupakan mekanisme yang penting untuk kekuatan senyawa antioksidan fenolik. Selain itu, kemampuan mereduksi senyawa fenolik kelihatannya berhubungan dengan tingkat hidrosilasi dan tingkat konjugasi pada senyawa polifenol (Nabavi dkk., 2009). Besarnya kemampuan mereduksi suatu ekstrak antioksidan

menunjukkan kemampuannya sebagai donor elektron.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak empelur batang sagu pada penyimpanan 1 hari dengan perlakuan tanpa pengadukan memiliki kandungan total fenolik yang tertinggi daripada perlakuan pengadukan pada 1, 2 dan 3 hari. Ekstrak dengan perlakuan tanpa pengadukan menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan bila diukur dengan metode penangkal radikal bebas DPPH dan kapasitas total antioksidan daripada perlakuan pengadukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Peningkatan Penelitian Perguruan Tinggi: Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) Tahun 2015/2016. Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames, B.N. & Shigenaga, M.K. 1993. Oxidants are a major contributor in cancer and aging. Dalam B. Halliwell and O.I. Aruoma (Eds). DNA and Free Radicals, Ellis Horwood Ltd., West Sussex, U.K.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. 2001. Free radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, London.
- Hirao, K. & Igarashi, K. 2003. Effects of sago starch content in the diet on lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in rats. The United Graduate School of Agriculture Science, Iwate University, Morioka, Iwate, Japan.
- Lai, L.S., Chou, S.T. & Chao, W.W. 2001. Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsao (*Mesona procumbens Hemsl*) Leaf Gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(2), 963-968.
- Li, X.C., Wu, X.T. & Huang, L. 2009. Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix *Angelicae*

- sinensis* (Danggui). *Molecules*. 14(12), 5349-5361.
- Li, X.C., Lin, J., Gao, Y., Han, W. & Chen, D. 2012. Antioxidant ability and mechanism of *Rhizoma Atractylodes macrocephala*. *Molecules*. 17(11), 13457-13472.
- Mayer, A. M. & Harel, E. 1981. Polyphenol oxidases in fruits. Changes during ripening. In Friend, J. and Rhodes, M. J. C. (eds.), Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables, Academic Press, New York, USA., pp 161-182.
- Mayer, A.M. 1986. Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry* 26(1), 11-20.
- Momuat, L.I., Suryanto, E., Rantung, O., Korua, A. & Datu, H. 2015. Perbandingan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan antara sagu baruk segar dan sagu baruk kering. *Chemistry Progress*. 8(1), 20-29
- Matthaus, B. 2002. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(12), 3444-3452.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science. Technoogy*. 26(2), 211-219.
- Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Fazelian, M. & Eslami. B. 2009. In vitro. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Diospyros lotus* and *Pyrus boissieriana* growing in Iran. *Pharmacognosy Magazine*. 4(18), 123-127.
- Papilaya, E.C. 2009. Sagu untuk pendidikan anak negeri. IPB-Press. Bogor.
- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochememistry*. 269(2), 337-341.
- Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10), 4290-4302.
- Ramasamy P, Perumal P, Laura D. & Melisa H, 2005. Effect of Metroxylon sago polyphenol feeding on the free radical scavenging enzymes in hamster tissue. In IUBMB 50th Anniversary Symposium, Budapest, Hungary.
- Szydłowska-Czerniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G. & Szlyk, E. 2008. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*. 76(4), 899-905
- Shahidi F. 1997. 'Natural antioxidants: chemistry, health effects and application'. Dalam F. Shahidi (ed). Natural Antioxidants: An Overview. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Siddhuraju P, Mohan P. & Becker, K. 2002. Studies on The antioxidant Activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula L.*): A preliminary Assesment of Crude Extracts from Stem Bark, Leaves Flowers and Fruit Pulp. *Food Chemistry*. 79(1), 61-67.
- Tahir, N.I.M. 2004. Extraction and screening of antioxidants in Metroxylon sago. Thesis. Biotechnology Progamme, School of Science & Technology. Universiti Malaysia Sabah.
- Tarigan, E.P., Momuat, L.I & Suryanto, E. 2015. Karakterisasi dan aktivitas antioksidan tepung sagu baruk (*Arenga microcarpha*). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 4(1), 125-130.
- Yen, G.C. & H-Y Chen. 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43(1), 27-32.