

# POTENSI ANTIOKSIDAN DAN FOTOPROTEKTIF TEPUNG KOMPOSIT DARI PISANG GOROHO, JAGUNG MANADO KUNING DAN SAGU BARUK

Edi Suryanto<sup>1</sup> dan Lidya Irma Momuat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado

## ABSTRAK

Pisang, jagung dan sago merupakan sumber makronutrien, vitamin, mineral, serat pangan dan fitokimia. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan dan fotoprotektif tepung komposit dari pisang goroho, jagung manado kuning dan sago baruk menggunakan perbedaan pelarut. Tepung komposit diproduksi menggunakan campuran tepung pisang, jagung dan sago pada perbandingan 60:30:10. Tepung komposit dievaluasi menggunakan kandungan total flavonoid (metode aluminium), aktivitas antioksidan (uji radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan aktivitas fotoprotektif (uji SPF menggunakan spektrofotometer). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan total flavonoid tertinggi ditemukan pada pelarut aseton dibandingkan dengan methanol, ethanol, petroleum eter dan TPTJ (kontrol) pada tepung komposit. Aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak aseton tepung komposit menunjukkan aktivitas paling tinggi daripada ekstrak etanol, metanol, petroleum eter dan TPTJ (kontrol). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak aseton mempunyai aktivitas fotoprotektif paling tinggi daripada ekstrak metanol, etanol, petroleum eter dan TPTJ (kontrol) pada nilai SPF (*sun protection factor*). Secara keseluruhan, penelitian ini menyarankan bahwa ekstrak aseton tepung komposit mengandung komponen yang memberikan aktivitas antioksidan dan fotoprotektif serta berpotensi melindungi kulit dari efek radiasi UV-B.

Kata kunci: tepung komposit, pelarut, antioksidan dan fotoprotektif

## ABSTRACT

Banana, corn and sago are source of macronutrients, vitamins, minerals, dietary fiber and phytochemicals. The objective of this study was to determine antioxidant and photoprotective activities of composite flour from goroho banana, yellow Manado corn and baruk sago using different solvent. Composite flour was produced using mixture of banana, corn and sago flour in the ratio of 60:30:10. The composite flour extracted with petroleum ether, acetone, ethanol, and methanol by using a maceration extraction for 24 hours. The composite flour was evaluated using total flavonoid content (aluminium ion method), and free radical scavenging activity (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical assay). The *in vitro* photoprotective activity was studied by UV spectrophotometric method in the range of 290-320 nm. This result showed that the highest total flavonoid content was found in acetone solvent compared that of methanol, ethanol, petroleum ether, and TPTJ (control) in composite flour. The radical scavenging activity of acetone extract of flour composite showed the highest activity than ethanol, methanol, petroleum ether, and TPTJ (control). The results also showed that the acetone extract has highest photoprotective activity than methanol, ethanol and petroleum ether in sun protection factor (SPF) value. In overall, the present study suggests that acetone extract of composite flour contains components that give antioxidant and photoprotective activities and potency to protect skin of UV-B radiation effects.

Keyword: composite flour, solvents, antioxidant, photoprotective

## PENDAHULUAN

Sinar matahari merupakan sumber energi yang berperan penting bagi kehidupan makhluk hidup di bumi. Meskipun, sinar matahari memiliki efek yang positif untuk aktivitas diluar rumah, tetapi paparan sinar matahari yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada kulit. Sinar matahari yang sampai di permukaan bumi dibedakan menjadi sinar ultraviolet A (320-400 nm), ultraviolet B (230-

320 nm) dan sinar ultraviolet C (200-290 nm). Sinar ultraviolet (UV) merupakan sebagian kecil dari spektrum sinar matahari, namun sinar ini paling berbahaya bagi kulit karena reaksi-reaksi yang ditimbulkannya berpengaruh buruk bagi kulit manusia, seperti eritema, pigmentasi, fotosensitivitas, kanker kulit dan stress oksidatif maupun penuaan dini. Selain itu, sinar ultraviolet dapat dihubungkan dengan efek kesehatan

terhadap mata dan sistem imun yang tidak tergantung dari jenis kulitnya.

Sinar UVA yang selama ini dianggap kurang bahaya, tetapi saat ini diketahui bisa menyebabkan kanker kulit melalui jalur tidak langsung pada kerusakan DNA dengan pembentukan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (Shekar dkk., 2012). Sedangkan kelebihan paparan sinar UVB juga dapat menyebabkan luka bakar dan kanker kulit, karena sinar ultraviolet tersebut bisa mengeksitasi molekul DNA dalam sel kulit dan menyebabkan penyimpangan ikatan kovalen untuk membentuk antara basa cytosin yang berdekatan dan menghasilkan suatu dimer. Mutasi ini mengakibatkan dalam pertumbuhan kanker (Davies dkk., 2002). Antioksidan terbukti mampu menetralkan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif dengan pendonoran satu dari elektron yang dimilikinya sehingga mampu mencegah kerusakan sel dan jaringan.

Dalam dekade terakhir ini, ada suatu peningkatan ketertarikan dalam penggunaan antioksidan dalam tabir surya (*sunscreen*) untuk memberi efek tambahan terhadap aktivitas fotoprotektif. Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa tanaman obat dan pangan memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan fotoprotektif dalam melindungi kulit akibat paparan sinar ultraviolet dari matahari (Shekar dkk., 2012; Giampieri dkk., 2012; Suryanto dkk., 2013). Produk derivat tanaman tersebut mengandung sejumlah besar fitokimia yang kaya senyawa fenolik seperti asam fenolik, flavonoid, tanin, lignan maupun non fenolik seperti karotenoid dan vitamin C yang memiliki substansi antioksidan, antiradikal, antikarsinogenik, antimutagenik dan antiproliferatif (Shahidi & Naczki, 1995; Shahidi, 1997; Surh, 2003). Oleh karena itu, antioksidan dari sumber alami bisa memberikan kemungkinan baru untuk pencegahan penyakit yang dimediasi oleh paparan cahaya ultraviolet baik melalui pemberian suplemen secara eksogenous maupun diterapkan secara topikal (Bonina dkk. 1996; Saija dkk., 1998; F'guyer dkk., 2003; Hall dkk., 2008).

Sulawesi Utara memiliki sumber tanaman pangan endemik lokal seperti pisang goroho (*Musa acuminata*), jagung Manado kuning (*Zea mays*) dan sagu baruk (*Arenga microcharpa*) yang merupakan sumber makronutrien, fitonutrien dan bersifat bioaktivitas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pisang goroho mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dan memiliki aktivitas antioksidan (Suryanto dkk.

2011a; Suryanto dkk., 2011b). Penelitian lain menunjukkan bahwa pisang goroho memiliki kemampuan menurunkan gula darah pada tikus putih yang diinduksi dengan aloksan dan mempunyai potensi untuk menghambat peroksidasi lipida pada hati tikus wistar yang diinduksi  $CC_4$  (Kaempe dkk., 2013). Selain pisang goroho, jagung Manado kuning memiliki kandungan fitokimia fenolik dan karotenoid serta aktivitas antioksidan (Ladeng dkk., 2017). Bacchetti dkk. (2013) melaporkan bahwa biji jagung mengandung senyawa karotenoid (zeaxantin), beta-karoten dan lutein yang melimpah. Sedangkan asam ferulat merupakan senyawa fenolik utama yang terdapat dalam jagung terutama bentuk terikat daripada bentuk bebas dan konjugat (Adom & Liu, 2002). Penelitian tentang fitokimia senyawa fenolik, tannin terkondensasi dan aktivitas antioksidan dari tepung sagu baruk telah dilaporkan oleh beberapa penelitian (Momuat dkk., 2015; Momuat dkk., 2016). Oleh karena itu, peningkatan konsumsi komponen fenolik dan karotenoid yang terdapat dalam sayuran dan buah-buahan mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan yakni dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, penyakit jantung koroner dan kanker (Ames & Shigenaga; Shahidi, 1997).

Penelitian terakhir melaporkan bahwa campuran kompleks fitokimia dalam bahan pangan lebih baik manfaat perlindungan kesehatannya daripada fitokimia tunggal melalui suatu kombinasi bahan tambahan atau efek sinergis (Eberhardt dkk., 2000). Data ini didukung oleh hasil penelitian sebelumnya terhadap manfaat kesehatan dari antioksidan tunggal yang memberikan hasil yang tidak konsisten dalam percobaan klinik pada manusia (Rapola dkk., 1997). Menurut Shahidi & Naczki (1995), sekitar 5000 komponen fitokimia pada tanaman telah diketahui, namun masih ada sejumlah besar yang tersisa yang belum dikenali fungsinya. Penggunaan kombinasi berbagai jenis tanaman dapat memberikan variasi pada produk bioaktif serta meningkatkan kandungan fitokimia, serat pangan, unsur mineral dan potensi antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan dan fotoproteksi pada tepung komposit yang berbasis pisang goroho, jagung Manado kuning dan sagu baruk.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan alat

Sampel yang akan digunakan adalah pisang goroho, sagu baruk dan jagung jenis Manado kuning diperoleh dari pasar lokal dan perkebunan masyarakat. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, etanol, aseton, petroleum eter, aluminium klorida diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany). Kuersetin dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma Chemical Co. (St. Lois, MO). Alat yang digunakan adalah desikator, alat-alat gelas, mikropipet, *vortex*, *mixer*, *blender*, timbangan analitik, oven dan spektrofotometer UV-Vis.

### Preparasi tepung komposit

Preparasi tepung komposit dibuat dari tepung pisang goroho, jagung dan sagu dicampur menggunakan alat *mixer* selama 15 menit dengan perbandingan 60:30:10 dan sebagai pembanding (kontrol) dibuat dengan tepung pisang goroho, jagung Manado kuning dan sagu baruk dengan perbandingan 90:0:10 selanjutnya disebut tanpa penambahan tepung jagung (TPTJ).

### Ekstraksi fitokimia

Sebanyak sepuluh gram tepung komposit diekstraksi secara maserasi dengan 50 mL untuk masing-masing pelarut metanol, etanol, aseton dan petroleum eter selama selama 24 jam. Setelah itu, sampel disaring dan diperoleh filtrat pertama, residunya diekstraksi kembali dengan cara yang sama sehingga diperoleh filtrat kedua. Filtrat pertama dan kedua digabung, selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan rotari evaporator pada keadaan vakum sehingga diperoleh ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE), ekstrak aseton (EA) dan ekstrak petroleum eter (EPE). Keempat ekstrak disimpan pada suhu 5 °C untuk persiapan analisis fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dan fotoprotektif.

### Penentuan kandungan flavonoid tepung komposit

Penentuan kandungan flavonoid menggunakan metode Meda dkk. (2005). Sebanyak 1 mL sampel ekstrak biji jagung 5000 µg/mL ditambahkan dengan 2 mL aluminium klorida 2%, kemudian divorteks. Absorbansi ekstrak dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid

dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam µg/mL ekstrak.

### Spektra ultraviolet ekstrak tepung komposit

Analisis spektra ultraviolet (UV) untuk masing-masing ekstrak metanol, etanol, aseton dan petroleum eter dengan sistem perbedaan pelarut diukur dengan cara absorpsi UV pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer (Shimadzu 1800) dalam pelarut etanol.

### Penentuan penangkal radikal bebas

Penentuan aktivitas penangkal (*scavenger*) radikal bebas dari tepung sagu diukur dengan metode Gaulejac dkk. (1998) yang sedikit dimodifikasi. Sebanyak 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,2 mM dalam etanol ditambahkan 0,5 mL ekstrak tepung komposit. Tingkat berkurangnya warna dari larutan menunjukkan efisiensi penangkap radikal. Lima menit terakhir dari 30 menit, absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 517 nm. Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Analisis statistik

Semua perlakuan dilakukan dengan tiga ulangan dan dianalisis secara statistik dengan analisis varian (ANOVA) menggunakan software SPSS versi 18.

### Penentuan aktivitas fotoprotektif

Penentuan aktivitas fotoprotektif dilakukan dengan menentukan nilai SPF secara *in vitro* dengan spektrofotometer (Mansur dkk., 1986; Walters dkk., 1997). Ekstrak komposit dibuat dengan konsentrasi 2,5 mg/mL dalam etanol. Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet 1 cm, dengan panjang gelombang antara 290 dan 360 nm dengan interval 5 nm. Serapan larutan sampel menunjukkan pengaruh zat yang menyerap maupun yang memantulkan sinar UV dalam larutan, serapan larutan sampel menunjukkan pengaruh zat yang menyerap sinar UV dalam larutan. Mansur dkk. (1986) mengembangkan persamaan matematika yang sangat sederhana yang mensubstitusikan metode *in vitro* yang diusulkan oleh Sayre dkk. (1979) dengan

memanfaatkan spektrofotometer UV dan menghitung nilai SPF menggunakan persamaan berikut:

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{absorbansi}(\lambda)$$

Keterangan: CF: faktor koreksi (10), EE: efisiensi eritermal, I: spektrum simulasi sinar surya dan Abs (I) - absorbansi produk tabir surya

Tabel 1. Fungsi produk ternormalisasi yang digunakan dalam perhitungan SPF (Sayre *et al.*, 1979)

Panjang gelombang ( $\lambda$ , nm)	EE x I (ternormalisasi)
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,018
Total	1

Nilai dari EE x I adalah konstan. Nilai tersebut ditentukan oleh Sayre *et al.* (1979) seperti ditunjukkan dalam Tabel 1. Pengukuran SPF secara spektrofotometer dilakukan dengan cara membuat kurva serapan uji dalam kuvet 1 cm, dengan panjang gelombang antara 290 dan 320 nm. Serapan larutan uji menunjukkan pengaruh bahan aktif tabir surya yang menyerap maupun yang memantulkan sinar UV dalam larutan. Selanjutnya dibaca absorbansi setiap interval 5 dari panjang gelombang 290 nm sampai panjang gelombang 320 nm.

#### Preparasi sampel untuk pengujian antioksidan

Sampel beras analog ditimbang masing-masing 0,1 g digerus dan dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 50% sebanyak 10 mL selama 2 jam. Selanjutnya ekstrak sampel dipindahkan dalam tabung reaksi yang lain dan disimpan pada suhu ruang dan ruangan tanpa cahaya sebelum digunakan untuk pengujian lanjutan.

#### Penentuan kandungan total fenolik

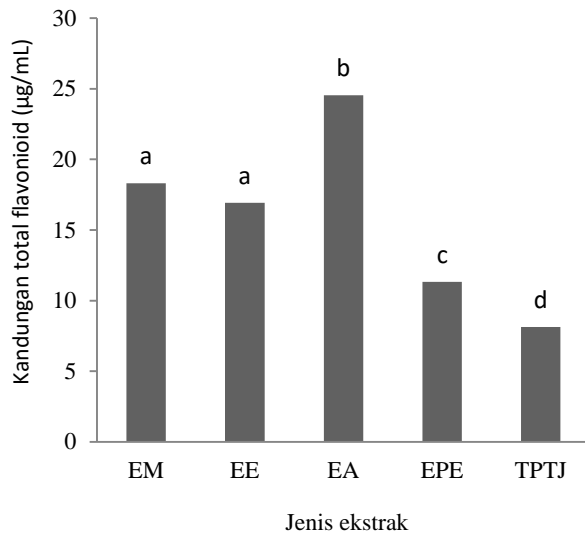
Kandungan total fenolik dari beras analog ditentukan dengan metode Jeong dkk. (2005). Sampel ekstrak beras analog sebanyak 0,1 ml

ditambahkan dengan 0,1 ml reagen Folin-Ciocalteu (50%) dalam tabung reaksi kemudian campuran ini divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% ditambahkan dan divortex. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak. Kandungan total fenolik dihitung menggunakan persamaan regresi linier kurva standar asam galat sebagai berikut:

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan total flavonoid

Ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan masing-masing pelarut seperti metanol, etanol dan aseton untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan tingkat polaritasnya. Ekstraksi menggunakan aseton dapat melarutkan senyawa yang semi polar, sedangkan metanol dan etanol dapat melarutkan senyawa yang polar dan penggunaan petroleum eter akan melarutkan senyawa-senyawa yang kurang polar. Adapun tujuan keempat pelarut ini adalah untuk mencari komponen yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dan efek fotoprotektif yang terdapat dalam tepung komposit dengan tingkat perbedaan polaritas. Menurut Zhao dkk. (2006) bahwa pelarut polar dan semi polar seperti metanol, etanol dan aseton merupakan pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi senyawa fenolik antioksidan dari bahan alam. Analisis senyawa flavonoid diukur berdasarkan membentuk kompleks dengan logam  $\text{Al}^{3+}$  pada gugus hidroksi (cincin A) dan keton (cincin C) yang bertangga dan orto-hidroksi (cincin B) yang dapat menghasilkan warna kuning, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kuat intensitas warna kuning maka kandungan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak akan semakin tinggi (Meda dkk., 2005).



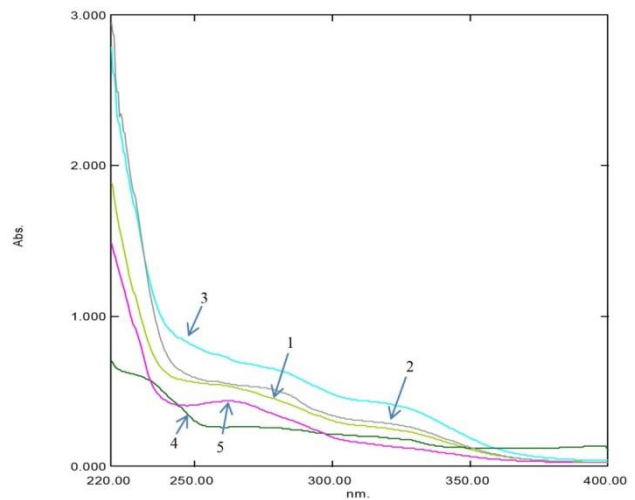
Gambar 1. Kandungan total flavonoid tepung komposit dengan berbagai pelarut. (EM, ekstrak methanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton; EPE, ekstrak petroleum eter dan TPTJ, tanpa penambahan tepung jagung).

Hasil analisis kandungan total flavonoid terhadap tepung komposit dapat disajikan pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan kandungan tertinggi total flavonoid ditemukan pada ekstrak aseton (EA) sebesar 24,63 µg/mL dan diikuti oleh ekstrak metanol (EM, 18,31 µg/mL), ekstrak etanol (EE, 16,92 µg/mL), ekstrak petroleum eter (EPE, 11,34 µg/mL) dan terendah terdapat pada ekstrak tanpa penambahan tepung jagung (TPTJ) sebesar 8,14 µg/mL. Hasil analisis kandungan total flavonoid menunjukkan bahwa EA memiliki warna yang lebih kuning dan nilai absorbansi lebih tinggi dibandingkan dengan EM, EE, EPE dan TPTJ sehingga kandungan total flavonoid lebih banyak terdapat pada EA. Menurut Marby (1970) dan Markham (1988) flavonoid aglikon seperti isoflavan, flavanon dan flavon serta flavonol cenderung lebih larut dalam pelarut semipolar seperti aseton. Selain itu, efek penambahan tepung jagung dapat memberikan kontribusi pada peningkatan kandungan senyawa flavonoid dalam tepung komposit tersebut. Beberapa penelitian melaporkan bahwa biji jagung memiliki kelimpahan fitokimia seperti asam ferulat, asam kumarat, lutein, zeaxantin, kriptoxantin, karotenoid, tokoferol, asam askorbat, flavonoid, antosianin dan merupakan kontributor pada antioksidan (Shahidi & Nacz, 1995; Hossain dkk., 2006; Ibrahim dkk., 2009; Žilić dkk., 2012). Senyawa flavonoid mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkal radikal bebas, pengkhelat

logam, penstabilan singlet oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz dkk., 2005).

### Spektra UV

Gambar 2. menunjukkan spectra absorpsi dari ekstrak EM, EE, EA, EPE dan TPTJ diukur dalam pelarut etanol dengan daerah panjang gelombang 200-400 nm untuk senyawa fenolik. Karakteristik komponen fenolik dalam ekstrak etanol dari tepung komposit diidentifikasi dengan spektrometri ultraviolet (UV). Oleh karena itu, variasi komponen ekstrak etanol dari tepung komposit dalam empat perbedaan pelarut seperti metanol, etanol, aseton dan petroleum eter untuk polar, semi polar and non-polar dalam ekstrak etanol. Seperti ditunjukkan Gambar 2 dalam spektra dalam ekstrak etanol sangat tergantung terhadap polaritas dari pelarut pengestraksi. Ekstrak methanol, etanol, aseton dan petroleum eter menunjukkan absorbansi maksimum berturut-turut adalah pada 326, 325, 326 dan 268 sedangkan TPTJ menunjukkan absorpsi maksimum pada 262 nm.



Gambar 2. Spektra absorpsi of 2,5 mg/mL, 1. ekstrak metanol (EM), 2. ekstrak etanol (EE), 3. ekstrak aseton (EA), 4. ekstrak petroleum eter (EPE) dan 5. ekstrak etanol tanpa penambahan tepung jagung (TPTJ)

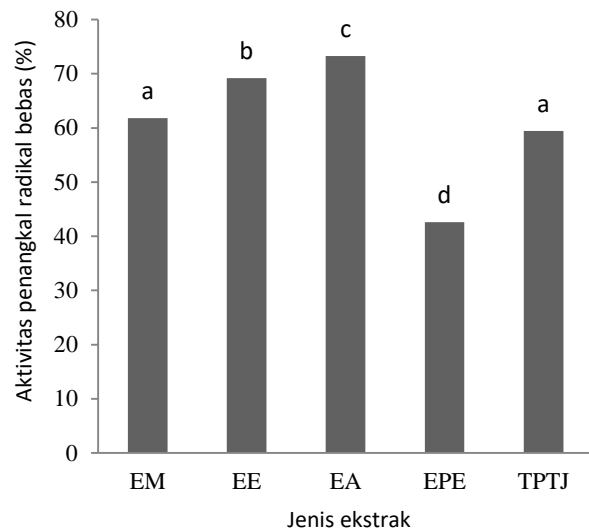
Hasil ini membuktikan bahwa spektra UV dari ekstrak EM, EE dan EA menunjukkan kemampuan untuk mengekstrak komponen fenolik. Selain itu, pada spektra UV dari ekstrak aseton merupakan pelarut yang lebih efektif untuk memperoleh komponen fenolik dari sampel tepung komposit. Ini dapat disebabkan kehadiran sejumlah besar senyawa fenolik terutama

golongan flavonoid yang lebih mudah larut dalam pelarut aseton daripada metanol, etanol dan petroleum eter. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2, Data ini dapat dilihat bahwa aseton memiliki dua puncak absorpsi pada daerah 326 dan 280 nm dengan nilai absorbansi pada daerah 0,40 to 0,64. Dua puncak ini biasanya ditunjukkan pada pita I (326 nm) and pita II (280 nm). Menurut Markham (1988), senyawa flavonoid memiliki daerah panjang gelombang pada 300-330 nm dan 275-295 nm adalah flavanon and dihidroflavonol. Golongan flavanon memiliki dua puncak yang biasanya ditunjukkan pada pita I (300-350 nm) dan pita II (270-295 nm). Kelompok dihidroflavonol mempunyai dua puncak yang biasanya ditunjukkan pada pita I (300-320 nm) dan pita II (270-295 nm) (Sujata, 2005). Dari Gambar 2 juga ditemukan bahwa spectra UV dari ekstrak aseton mempunyai karakteristik pita absorpsi pada daerah UVA dan UVB dan mampu berperan sebagai efek fotoprotektif. Menurut Sayre dkk. (1979), kemampuan komponen aktif pada ekstrak untuk menyerap radiasi tersebut berhubungan dengan aktivitas tabir surya dan mengindikasikan bahwa ekstrak aseton mengandung senyawa flavonoid dan berpotensi sebagai komponen aktif tabir surya.

#### Aktivitas penangkal radikal bebas

Pengukuran aktivitas antioksidan tepung komposit menggunakan radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) sebagai media pengujian aktivitas penangkal radikal bebas. Metode uji radikal DPPH merupakan metode yang sederhana dan mudah untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Fagliano, 1999). Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas ini dilakukan dengan mereaksikan larutan ekstrak dengan larutan DPPH dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Metode penangkalan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas ini menangkap satu elektron dari senyawa antioksidan (Pokorny dkk., 2001). Senyawa yang beraksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). Oleh sebab itu, semakin cepat penurunan absorbansi tersebut maka ekstrak lebih

berpotensi sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas penangkalan radikal DPPH dari tepung komposit pada berbagai pelarut disajikan pada Gambar 3.

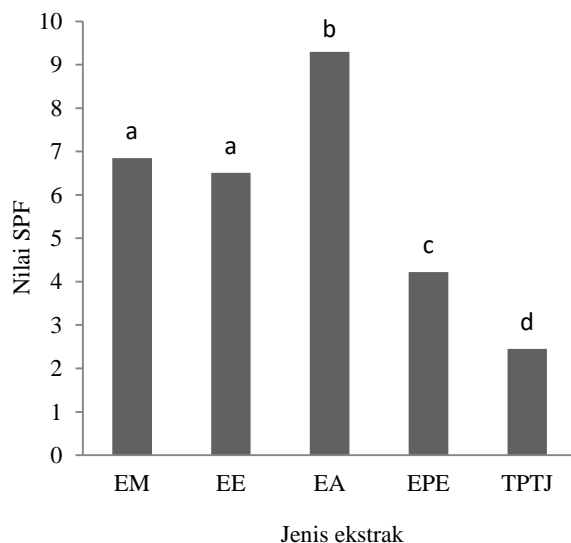


Gambar 3. Aktivitas penangkal radikal bebas tepung komposit dari berbagai pelarut. (EM, ekstrak methanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton; EPE, ekstrak petroleum eter dan TPTJ, tanpa penambahan tepung jagung).

Hasil analisis penangkal radikal bebas pada ekstrak aseton (EA) menunjukkan aktivitas paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak methanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak petroleum eter (EPE) dan terendah ditemukan pada ekstrak etanol tanpa penambahan tepung jagung (TPTJ). Gambar 3 menunjukkan bahwa EA menunjukkan perbedaan secara signifikan sebagai penangkal radikal daripada EM, EE, EPE dan TPTJ ( $p < 0,05$ ). Hal ini mungkin dikarenakan ekstraksi aseton dapat mempengaruhi kelarutan senyawa fenolik dalam tepung komposit. Selain itu, kandungan senyawa fenolik dalam pelarut aseton juga dipengaruhi penambahan tepung jagung dibandingkan dengan ekstrak pelarut lain sehingga memiliki kemampuan kuat untuk mendonorkan elektron kepada radikal DPPH. Secara umum ekstrak EM, EE, EA, TPTJ menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas lebih besar dari 50% sedangkan ekstrak EPE memberikan aktivitas paling rendah. Ini berarti senyawa fenolik yang terdapat dalam pelarut aseton merupakan donor elektron yang baik dan mampu bereaksi dengan radikal DPPH sehingga radikal DPPH kehilangan warna (tereduksi) dengan satu molekul dari komponen yang dapat mendonasikan atom hidrogen dari senyawa antioksidan atau reduktan (Pokorny dkk., 2001; Molyneux, 2004).

### Penentuan SPF secara *in vitro*

Penentuan efek fotoproteksi dilakukan dengan penentuan nilai SPF secara *in vitro* menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 290 sampai 320 nm (sesuai panjang gelombang UV-B). Nilai SPF dari kelima ekstrak tepung komposit dengan keempat jenis pelarut pada konsentrasi 2,5 mg/mL disajikan pada Gambar 4. Dari Gambar 4, dapat diketahui bahwa ekstrak dengan pelarut aseton memiliki nilai SPF yang paling tinggi yaitu 9,30 diikuti dengan ekstrak metanol, etanol, petroleum eter dan terendah terdapat pada ekstrak TPTJ. Data ini mengindikasikan bahwa ekstrak aseton (EA) memiliki kemampuan sebagai proteksi terhadap sinar matahari khususnya UV-B. Nilai SPF untuk ekstrak EA termasuk kelompok maksimal. Menurut Wasitaadmatja (1997), pembagian tingkat kemampuan tabir surya sebagai berikut: minimal, bila SPF antara 2-4; sedang, bila SPF antara 4-6; ekstra, bila SPF antara 6-8; maksimal, bila SPF antara 8-15; ultra, bila SPF lebih dari 15. Nilai SPF pada tabir surya yang beredar di pasaran berkisar antara 15-30 dan kemampuan tabir surya yang dianggap baik berada di atas 15. Senyawa aktif tabir surya yang terdapat dalam ekstrak EA diduga kuat adalah kelompok senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa ini terbukti mampu melindungi kulit dari kerusakan akibat efek induksi dari radiasi UV (Bonina, 2005).



Gambar 4. Perbandingan nilai SPF tepung komposit dari berbagai pelarut. Keterangan: EM, ekstrak methanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton; EPE, ekstrak petroleum eter dan TPTJ, tanpa penambahan tepung jagung.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai SPF dari perbedaan pelarut terdapat antara 2,45 dan 9,30. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4 bahwa tinggi dan rendah nilai SPF berhubungan dengan absorbansi dari data UV dalam perbedaan pelarut. Ekstraksi pelarut pada 290-320 nm menunjukkan bahwa aseton lebih efektif dalam pengekstraksi bahan aktif sebagai bahan tabir surya daripada pelarut metanol, etanol dan petroleum eter. Ini dapat disebabkan pelarut aseton memiliki perbandingan terbesar senyawa polar seperti flavonoid yang paling baik pengekstraksinya pada pelarut polar seperti aseton. Beberapa peneliti telah menemukan bahwa ekstrak dari pelarut semi polar dari tanaman obat dan pangan memiliki nilai SPF paling tinggi (Khazaeli & Mehrabani, 2008; Santhanam dkk., 2013; Oliveira-Junior, 2013; Silva dkk., 2014). Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa kandungan flavonoid yang tinggi dapat mempengaruhi nilai SPF, sebab senyawa flavonoid mampu menyerap sinar pada rentan panjang gelombang UV-B.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton dari kombinasi tepung pisang goroho, jagung Manado kuning dan sagu baruk memiliki kandungan total flavonoid tertinggi dibandingkan ekstrak metanol, etanol dan petroleum eter. Hasil ini sejalan dengan aktivitas penangkal radikal bebas yang diberikan oleh ekstrak aseton. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak aseton mempunyai aktivitas fotoprotektif paling tinggi daripada ekstrak metanol, etanol dan petroleum eter pada nilai SPF (*sun protection factor*).

### DAFTAR PUSTAKA

- Ames, B.N. & Shigenaga, M.K. 1993. *Oxidants are a major contributor in cancer and aging*. Dalam B. Haliwell and O.I. Aruoma (Eds). DNA and Free radicals, Ellis Horwood Ltd., West Sussex, U.K.
- Adom, K.K. & Liu, R.H. 2002. Antioxidant activity of grains *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(21), 6182-6187.
- Bacchetti, T., Masciangelo, S., Micheletti, A. & Ferretti, G. 2013. Carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity of five local Italian corn (*Zea Mays* L.) kernels.

- Journal of Nutrition and Food Science*. 3(6), 1-4.
- Bonina, F., Lanza, M., Montenegro, L. & Puglisi, C. 1996. Flavonoid as potential protective agents against photooxidative skin damage. *International Journal of Pharmaceutics*. 145(1), 87-94.
- Davies, H., Bignell, G.R. & Cox, C. 2002. Mutation of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 417(6892), 949-954.
- Eberhardt, M.V., Lee, C.Y. & Liu, R.H. 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*. 405(6789), 903-904.
- Fagliano, V. 1999. Method for Measuring Antioxidant Activity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Capacity of Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(3), 1035-1040.
- F'guyer, S., Afaq, F. & Mukhtar, H. 2003. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine*. 19(2), 56-72.
- Gaulejac, N. S-C, Provost, C. & Vivas, N. 1998. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(2), 425-431.
- Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Gonzàles-Paramàs, A.M., Santos-Buelga, C., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B. & Battino, M. 2012. Photoprotective potential of strawberry (*Fragaria × ananassa*) extract against UV-A irradiation damage on human fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(9), 2322-2327.
- Hall, R., Streilein R, Murray J, Burch M, Iannacchione M, Pinnell S. 2008. A topical antioxidant solution containing vitamins C and E with ferulic acid protects human skin from UV-induced gene induction of inflammatory mediators. *Journal of Investigative Dermatology*. 128, S210
- Hossain, M.A, Islam, A., Jolly, Y.N. & Kabir M.J. 2006. New flavonol glycoside from the seeds of *Zea mays*. *Indian Journal of Chemistry*. 45(5), 1319-1321.
- Ibrahim, K.E. & Juvik, J.A. 2009. Feasibility for improving phytonutrient content in vegetable crops using conventional breeding strategies: Case study with carotenoids and tocopherols in sweet corn and broccoli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4636-4644.
- Kaempe, H.S., Suryanto, E. & Kawengian S.E.S. 2013. Potensi ekstrak fenolik buah pisang goroho (*Musa spp.*) terhadap gula darah tikus (*Rattus norvegicus*). *Chemistry Progress*. 6(1), 6-9
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N. & Soyer, Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetable grown in Turkey. *Turkey Journal Agricultural*. 29(4), 297-303.
- Landeng, P.J., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2017. Komposisi proksimat dan potensi antioksidan dari biji jagung Manado kuning. *Chemistry Progress*. 10(1), 36-44.
- Mansur, J.S., Breder, M.N.R., Mansur, M.C.A. & Azulay, R.D. 1986. Determinacio do Fator de Protecçlo Solar por Espectrofotometria. *An. Bras Dermatol Rio De Jeinero*, 61(3), 121-124.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. dan Thomas, H.B., 1970, *The System Identification of Flavonoid*. Spinger-Varlag, New York.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoida*. Terjemahan Padmawinata, K. ITB Press, Bandung.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91(3), 571-577.
- Molyneux, P. 2004. The Use of stable free radical Diphenylpicrylhyrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219.
- Momuat LI, Suryanto E, Rantung O, Korua A. dan Datu H. 2015. Perbandingan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan antara sagu baruk segar dan sagu baruk kering. *Chemistry Progress*. 8(1), 20-29.
- Momuat, L.I. & Suryanto, E. 2016. Pengaruh lama perendaman terhadap aktivitas antioksidan dari empelur sagu baruk (*Arenga microcharpha*). *Chemistry Progress*. 9(1), 25- 34
- Pokorny, J., N. Yanishlieva dan M. Gordon. 2001. *Antioxidant in food: Practical application*. CRC Press, Boca Raton.
- Rapola, J.M., Virtamo, J., Ripatti, S., Huttunen, J.K., Albanes, D. Taylor, P.R. & Heinonen, O.P. 1997. Randomised trial of



- alphatocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction. *Lancet*. 349(9067), 1715-1720.
- Saija, A., Tomatino, A., Trombetta, D., Giacchi, M., De Pasquale, A. & Bonina, F., 1998, Influence of different penetration enhancers on *in vitro* skin permeation and *in vivo* photoprotective effect of flavonoid. *International Journal of Pharmaceutics*, 175, 85-94.
- Sayre, R.M., Agin, P.P., Levee, G.J. & Marlowe, E., 1979, A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens. *Photochemistry and Photobiology*, 29(3), 559-566.
- Shahidi, F. & Naczk, M. 1995. *Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications*. Technomic Publication Company, Inc., Lancaster.
- Shahidi, F. 1997. *Natural antioxidants*, Departemen of Biochemistry Memorial University of Newfoundland St. John's, Newfoundland. AOCS Press. Canada.
- Shekar, M., Shetty, S., Lekha, G. & Mohan, K. 2012. Evaluation of *in vitro* antioxidant property and radio protective effect of the constituent medicinal plants of a herbal sunscreen formulation. *International Journal of Pharmaceutical Practice Research*. 2(2), 90-96
- Sujata, V.B. 2005. *Chemistry of Natural Products*. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Surh, Y-J. 2003. Cancer chemopreventive with dietary phytochemicals. *Nature Review Cancer*. 3(10), 768-780.
- Suryanto, E., Momuat, L.I., Taroreh, M. & Wehantouw, F. 2011a. Potensi senyawa polifenol antioksidan dari pisang goroho (*Musa sapient Sp.*). *AGRITECH*. 31(4), 289-296.
- Suryanto, E., Momuat, L.I., Taroreh, M. & Wehantouw, F. 2011b. Pengaruh lemon kalamansi (*Citrus microcarpa*) terhadap komposisi kimia dan fitokimia antioksidan dari tepung pisang goroho (*Musa sapient Sp.*). *Chemistry Progress*. 4(1), 11-19.
- Suryanto, E., Momuat, L.I., Yudistira, A. & Wehantouw, F. 2013. The evaluation of singlet oxygen quenching and sunscreen activity of corn cob. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 24(3), 274-283.
- Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V. & Vančetovic, J. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays L.*) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(5), 1224-1231.
- Walters, C., Keeney, A., Wigal, C.T., Johnstom C.R. dan Cornelius, R.D., 1997, The spectrophotometric analysis and modeling of sunscreens. *Journal of Chemistry Education*. 74(1), 99-102
- Wasitaadmatdja, S.M. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Zhao, H., Dong, J., Lu, J., Chen, J., Li, Y., Shan, L., Lin, Y., Fan, W. & Gu, G. 2006. Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(19), 7277-7286.