

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK UMBI AKAR GINSENG JAWA (*Talinum triangulare* Willd.)

[Antioxidant Activity of Javanese Ginseng (*Talinum triangulare* Willd.)
Root Extracts]

Teti Estiasih¹⁾ dan Dwi Andiyas Kurniawan²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Universitas Brawijaya

²⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Universitas Brawijaya

Diterima 15 September 2006 / Disetujui 8 Mei 2007

ABSTRACT

Antioxidant activity of the javanese ginseng root was investigated. The root extracts were prepared by solvent extraction using methanol, ethanol (96%), ethanol (70%), acetone, and hexane. Total antioxidant activity of the extracts was measured by ferric thiocyanate method, whereas radical scavenging capacity and reducing power were measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and the reducing potential methods, respectively.

The result showed that the highest total antioxidant activity was observed in acetone and methanol extracts. It appeared that the ability of these extracts for partitioning at the interface of the emulsion in the tested oxidation system was the highest among other extracts, therefore it had the best activity to inhibit oxidation. The highest radical scavenging capacity measured by EC_{50} was observed in acetone extract. The type of phenolic compounds of this extract appeared to be responsible for the highest radical scavenging capacity. Different phenomena occurred for reducing power. Methanol extract had the highest reducing power and the least were found with the hexane and acetone extract. It was suggested that each extracts comprised different types of phenolic based on different polarity of solvents used for extraction.

The antioxidant compounds of javanese ginseng root extracts were primary antioxidant based on the ability to scavenge free radical. It could be concluded that acetone was the best solvent for antioxidant extraction of the javanese ginseng root. However, all tested antioxidant mechanisms in this research showed that vitamin E (1000 ppm) used as control had better activity than javanese ginseng root extracts (1000 ppm) for all types of solvent. Javanese ginseng extracts might contain other compounds which were not responsible for antioxidant activity, therefore at the same concentration the activity were lower than that of vitamin E.

Key words: total antioxidant activity, radical scavenging capacity, reducing power, javanese ginseng.

PENDAHULUAN

Oksidasi lemak merupakan proses degeneratif yang dimediasi oleh radikal bebas dan menyebabkan ketengikan dan penurunan nutrisi produk pangan (Kim et al., 2001; Watanabe et al., 2005). Untuk mencegah proses oksidasi tersebut diperlukan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lemak (Kochhar dan Rossell, 1990). Peningkatan kesadaran konsumen terhadap produk-produk alami telah mendorong industri pangan berbasis lemak dan minyak untuk menggunakan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan sintesis seperti BHT dan BHA sebagai antioksidan yang paling luas digunakan walaupun mempunyai keuntungan seperti stabilitas tinggi, praktis, dan murah, tetapi mulai diragukan keamanannya karena disinyalir bersifat sebagai promotor karsinogenesis (Lalas dan Tsaknis, 2002).

Pada saat ini terdapat tendensi penggunaan senyawa alami dalam buah-buahan, sayuran, sereal, dan herba sebagai antioksidan (Kim, 2005). Salah satu herba yang berpotensi mempunyai aktivitas antioksidan adalah umbi akar ginseng jawa. Nama lain dari ginseng

jawa (*Talinum triangulare* Willd.) adalah ginseng talinum, kolesom dan talesom. Ginseng ini menyerupai ginseng panax dari Korea dan dimanfaatkan umbinya untuk bahan jamu. Menurut Wijoyo (1999), umbi ginseng jawa mengandung senyawa flavonoid, antrakuinon, saponin (golongan terpenoid), tanin, dan senyawa fenolat. Senyawa tersebut berperan dalam menghambat proses oksidasi melalui reaksi dengan radikal bebas, mengkelat katalis logam, dan mengikat oksigen singlet dalam produk pangan maupun sistem biologis (Kim, 2005).

Duke (1992) telah mengidentifikasi lebih dari 200 senyawa yang berbeda dalam ginseng Amerika Utara (*North American ginseng, Panax quinquefolius*), dan komponen bioaktif utama dalam ginseng adalah golongan saponin triterpena yang sering disebut ginsenosida (Popovich dan Kitts, 2004). Ekstrak ginseng Amerika Utara berperan efektif sebagai pengkelat ion logam dan penangkap radikal bebas dalam medium akueus atau lemak (Kitts et al., 2000), dan mempunyai afinitas yang lebih tinggi untuk menangkap radikal bebas dibandingkan ginseng dari Asia (Hu dan Kitts, 2001). Ginsenosida dapat melindungi lipoprotein densitas rendah dan DNA dari oksidasi yang dimediasi ion kupri

secara *in vitro* (Hu dan Kitts, 2001), sehingga mempengaruhi status antioksidan dalam tubuh (Popovich et al., 2005).

Aktivitas antioksidan terdiri dari beberapa mekanisme diantaranya mencegah reaksi berantai, mencegah pembentukan peroksida, mencegah pengambilan atom hidrogen, mereduksi, dan menangkap radikal (Su et al., 2004; Kim, 2005). Beberapa pendekatan digunakan untuk mengkaji sifat anti dan pro-oksidan suatu senyawa (Lampi et al., 1999).

Pengujian pencegahan pembentukan peroksida biasa diuji dalam sistem emulsi asam linoleat dalam air (Duh et al., 1999). Pengujian ini menunjukkan aktivitas antioksidan total (Kim, 2005). Menurut Cuvelier et al. (2003) dalam sistem emulsi kecepatan oksidasi dan peran antioksidan dipengaruhi oleh kemampuan partisi pada fase minyak, air, atau antar permukaan. Pengujian aktivitas antioksidan total biasa menggunakan metode ferri-tiosianat yang mengukur jumlah peroksida yang terbentuk dalam sistem emulsi selama inkubasi (Singh et al., 2005).

Pengujian kapasitas penangkapan radikal biasa diukur dengan menggunakan suatu senyawa radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang bersifat stabil dan dapat menerima elektron atau radikal hidrogen menjadi suatu senyawa yang secara diamagnetik stabil (Soares et al., 1997). Lebih lanjut Duh et al., (1999) menyatakan bahwa kemampuan radikal DPPH untuk direduksi atau distabilisasi oleh antioksidan diukur dengan mengukur penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Oleh karena itu DPPH biasa digunakan untuk mengkaji kapasitas penangkapan radikal.

Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa sebagai antioksidan (Kim, 2005). Dalam sistem dimana terdapat ion ferri (Fe^{3+}) daya reduksi menunjukkan sifat sebagai prooksidan. Ion ferri (Fe^{3+}) dapat diubah oleh suatu antioksidan menjadi ion ferro (Fe^{2+}) melalui reaksi reduksi. Ion ferro merupakan prooksidan yang aktif dengan mengkatalisis dekomposisi hidroperoksida menjadi radikal bebas (Paiva-Martins dan Gordon, 2002; Cuvelier et al., 2003).

Menurut Singh et al., (2005), golongan fenolik berperan penting terhadap aktivitas antioksidan. Dari penelitian Wijoyo (1999) telah diketahui ginseng jawa mengandung senyawa golongan fenolik. Sejauh ini belum diteliti jenis pelarut yang sesuai untuk ekstraksi senyawa fenolik atau antioksidan dalam ginseng jawa dan kaitannya dengan mekanisme antioksidatifnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas antioksidan dengan berbagai metode dari ekstrak ginseng jawa dengan menggunakan pelarut organik dengan polaritas yang berbeda. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, maka perbedaan polaritas pelarut akan menyebabkan perbedaan senyawa yang terekstrak yang diduga mempunyai aktivitas antioksidan yang berbeda pula.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan adalah umbi akar ginseng jawa (*Talinum triangulare* Willd.) berumur 1 tahun yang diperoleh dari Ngantang, Malang. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, etanol 96%, etanol 70%, heksana, aseton (teknis), akuades, standar vitamin E komersial merek Natur-E, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan asam galat (Sigma Co.), polioksietilen sorbitan monostearat (tween 20) teknis, amonium tiosianat, ferri klorida, kalium ferrisianida, asam trikloroasetat, kloroform, metanol, akuades, buffer fosfat, etanol 70%, asam klorida (p.a. dari Merck), dan asam linoleat (Sigma Co.).

Alat yang digunakan adalah pengering kabinet, blender kering, ayakan 40 mesh, alat gelas, rotavapor (Buchi), dan spektrofotometer (Spectronic 21).

Metode

Pembuatan bubuk umbi akar ginseng jawa

Umbi akar ginseng jawa dicuci bersih dan diiris setebal ± 1 mm, kemudian dikeringkan dengan pengering kabinet suhu $50^{\circ}C$ selama 3 jam. Penggilingan dilakukan dengan blender kering dan kemudian diayak dengan ukuran 40 mesh.

Ekstraksi dengan berbagai pelarut

Bubuk umbi akar ginseng jawa kering diekstrak secara perkolasi selama 5 jam pada suhu $50^{\circ}C$ dengan pelarut metanol, etanol 96%, etanol 70%, aseton, dan heksana (teknis). Kemudian dilakukan penyaringan vakum dengan kertas saring kasar. Pelarut diuapkan dengan menggunakan rotavapor suhu $50^{\circ}C$ sampai tidak ada pelarut yang menguap.

Analisis total fenol

Total fenol berbagai ekstrak berbagai jenis pelarut dianalisis dengan metode Folin-Ciocalteu (Povlitaite and Venskutonis, 2000) dengan asam galat sebagai standar.

Aktivitas antioksidan total

Aktivitas antioksidan ekstrak umbi akar ginseng jawa dari berbagai jenis pelarut pada konsentrasi 1000 ppm diukur kemampuannya dalam menghambat peroksidasi asam linoleat dalam sistem emulsi. Metode yang digunakan adalah metode Duh et al., (1999) dan Yen et al., (2003). Ekstrak dilarutkan dalam pelarut sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi. Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dicampur dengan 2,5 ml emulsi asam linoleat dan 2 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7. Emulsi asam linoleat diperoleh dengan cara mencampurkan 0,2804 g asam linoleat, 50 ml buffer fosfat dan 0,2804 g tween 20. Campuran reaksi kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 5

hari. Setiap hari diambil 0,1 ml campuran reaksi dan kemudian ditambah 4,7 ml etanol 70%; 0,1 ml amonium tiosianat; dan 0,1 ml ferri klorida 0,02 M dalam HCl 3,5%. Bilangan peroksida diukur untuk mengetahui tingkat oksidasi dengan cara mengukur absorbansi pada λ 500 nm. Persentase penghambatan ekstrak diukur setiap hari dengan rumus:

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

dimana A_0 =absorbansi dari kontrol atau tanpa penambahan ekstrak dan A_1 =absorbansi dari sampel.

Kapasitas penangkapan radikal bebas

Kapasitas penangkapan radikal bebas diukur dengan menggunakan metode Kim (2005). Larutan ekstrak dipersiapkan dengan melarutkan ekstrak umbi akar ginseng jawa pada konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400, 800 dan 1000 ppm dalam kloroform:metanol (2:1) sebanyak 4 ml. Sebanyak 4 ml larutan ekstrak dalam kloroform:metanol (2:1) dicampur dengan 1 ml larutan DPPH 0,2 mM dalam metanol. Campuran direaksikan selama 30 menit sebelum absorbansinya diukur pada λ 517 nm. Penurunan absorbansi menunjukkan peningkatan kemampuan penangkapan radikal DPPH. Kemampuan untuk menangkap radikal DPPH dihitung dengan persamaan:

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

Dimana A_0 =absorbansi dari kontrol atau tanpa penambahan ekstrak dan A_1 =absorbansi dari sampel.

EC_{50} ekstrak umbi akar ginseng jawa dengan berbagai pelarut ditentukan pada penelitian ini. EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal sebanyak 50%.

Daya reduksi

Daya reduksi pada berbagai konsentrasi ekstrak (25, 50, 100, 200, 400, 800 dan 1000 ppm) ditentukan dengan menggunakan metode Oyaizu (1986) yang dimodifikasi oleh Gülcin et al., (2003). Larutan ekstrak dibuat dengan berbagai konsentrasi yang diuji menggunakan pelarut buffer fosfat. Larutan ekstrak sebanyak 0,1 ml ditambah dengan 0,25 ml buffer fosfat (0,2 M; pH 6,6) dan 0,25 ml kalium ferrisianida 1%. Campuran diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Kemudian ditambahkan 0,25 ml asam trikloroasetat dan disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 1700 rpm dan suhu 25°C. Sebanyak 0,25 ml supernatan dicampur dengan 0,25 ml akuades dan 0,05 ml ferri klorida 0,1%. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan daya reduksi.

Analisis statistik

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yaitu jenis pelarut dengan tiga ulangan. Data yang diperoleh meliputi kadar total fenol, aktivitas antioksidan total pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm, EC_{50} , dan daya reduksi pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm, dianalisis dengan analisis ragam dengan faktor yang dikaji jenis pelarut. Vitamin E komersial (merek Natur E) digunakan sebagai pembanding pada konsentrasi yang sama dengan ekstrak umbi akar ginseng jawa. Jika terdapat pengaruh yang signifikan dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan.

Uji korelasi dilakukan antara kadar total fenol dan aktivitas antioksidan pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm yang dikaji pada penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan total pada hari ke-5 inkubasi, kapasitas penangkapan radikal bebas, dan daya reduksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar total fenol

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik (Pratt dan Hudson, 1990). Senyawa fenolik ini bersifat multifungsional dan berperan sebagai antioksidan karena mempunyai kemampuan sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, atau pengubah oksigen singlet menjadi bentuk triplet (Su et al., 2004). Berdasarkan hal tersebut kadar total fenol dari ekstrak ginseng jawa pada penelitian ini diukur dan dikorelasikan dengan mekanisme antioksidan yang dikaji yaitu kemampuan penghambatan peroksidasi (aktivitas antioksidan total), kapasitas penangkapan radikal bebas, dan daya reduksi.

Rerata kadar total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa dapat dilihat pada Gambar 1. Kadar total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa dipengaruhi oleh jenis pelarut. Fenol merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga kelarutannya paling tinggi dalam pelarut polar. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik sehingga kadarnya dalam ekstrak menjadi tinggi. Nilai polaritas berdasarkan konstanta dielektrik berturut-turut dari yang paling polar sampai non polar yaitu metanol (33), etanol (24), aseton (21), dan heksana (2,0) (Anonymous, 2005). Diantara berbagai pelarut yang diuji, ekstrak metanol, etanol (96%), dan aseton menunjukkan kadar total fenol tertinggi.

Menurut Gamez-Meza et al., (1999) dalam Widyawati (2005), hasil ekstrak senyawa fenol meningkat seiring dengan bertambahnya polaritas pelarut. Selanjutnya menurut Przybylski et al., (2001), metanol merupakan pelarut yang paling baik dalam mengekstrak senyawa fenol. Dari hasil penelitian ini diduga senyawa fenolik yang terdapat dalam umbi akar ginseng jawa terdiri dari berbagai jenis dengan kisaran polaritas yang

luas karena dapat larut dalam metanol (polar), etanol 96% (semipolar), dan aseton (semipolar).

Kadar total fenol ekstrak etanol 70% lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol 96%. Kandungan air dalam pelarut etanol 70% cukup tinggi (30%). Menurut Trevor (1995) ekstraksi senyawa fenol dengan pelarut organik lebih baik menggunakan pelarut yang sedikit polar tetapi tidak bercampur dengan air untuk memisahkan golongan senyawa ini dari senyawa yang lebih polar seperti karbohidrat.

Total fenol vitamin E komersial yang digunakan sebagai pembanding lebih tinggi dibandingkan total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa, karena vitamin E termasuk ke dalam golongan senyawa fenolik.

Kadar total fenol ekstrak etanol 70% lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol 96%. Kandungan air dalam pelarut etanol 70% cukup tinggi (30%). Menurut Trevor (1995) ekstraksi senyawa fenol dengan pelarut organik lebih baik menggunakan pelarut yang sedikit polar tetapi tidak bercampur dengan air untuk memisahkan golongan senyawa ini dari senyawa yang lebih polar seperti karbohidrat. Diduga pati dalam umbi akar ginseng jawa ikut terekstrak sehingga mempengaruhi kadar total fenol yang terukur.

Total fenol vitamin E komersial yang digunakan sebagai pembanding lebih tinggi dibandingkan total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa. Hal ini menunjukkan bahwa kemurnian ekstrak masih rendah.

Aktivitas antioksidan total

Pengujian aktivitas antioksidan pada asam linoleat merupakan sistem pengujian yang digunakan untuk mewakili sistem pangan (Duh et al., 1999). Dengan metode ini kemampuan penghambatan peroksida sebagai produk oksidasi primer oleh ekstrak umbi akar ginseng jawa pada konsentrasi 1000 ppm dari berbagai pelarut selama inkubasi diukur. Sebagai pembanding digunakan vitamin E komersial pada konsentrasi 1000 ppm. Semakin lama waktu inkubasi terjadi penurunan aktivitas antioksidan total untuk semua jenis ekstrak dengan pelarut berbeda (Gambar 2). Penurunan tersebut disebabkan pembentukan peroksida yang semakin intensif dan jumlah antioksidan yang tersedia tidak cukup untuk menghambat proses peroksidasi tersebut.

Diduga senyawa yang berperan terhadap kemampuan penghambatan peroksidasi lemak dalam ekstrak umbi akar ginseng jawa adalah golongan senyawa fenol. Hasil analisis korelasi menunjukkan bahwa hubungan antara kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan total berkorelasi nyata ($\alpha=0,05$) dengan nilai koefisien korelasi $r=0,87$.

Kemampuan penghambatan peroksidasi oleh ekstrak umbi akar ginseng jawa tergantung dari jenis pelarut yang digunakan yang ditunjukkan aktivitas antioksidan pada hari ke-5 inkubasi (Gambar 3). Selain kuantitas, jenis fenol mempengaruhi kemampuan penghambatan peroksidasi. Menurut Su et al., (2004),

aktivitas antioksidan senyawa fenolik dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil aromatik. Semakin banyak gugus hidroksil aromatik, kemampuan penghambatan reaksi berantai pada proses oksidasi lemak semakin efektif dengan cara mendonorkan atom H atau berperan sebagai akseptor radikal bebas. Faktor lain yang mempengaruhi adalah ukuran molekul yaitu semakin besar ukuran molekul kemampuan menghambat proses oksidasi semakin menurun.

Dari berbagai ekstrak tersebut aktivitas antioksidan total tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak aseton dan metanol. Aseton merupakan pelarut yang bersifat semipolar sedangkan metanol bersifat polar (Anonymous, 2005). Senyawa yang terekstrak dalam aseton merupakan senyawa yang bersifat semipolar yang cenderung terakumulasi pada antar permukaan dalam sistem emulsi pada proses pengujian. Senyawa yang terekstrak dalam metanol bersifat polar dengan polaritas yang lebih rendah dibandingkan air sebagai fase kontinyu dalam sistem pengujian sehingga diduga cenderung ada pada antar permukaan.

Menurut Cuvelier et al., (2003), pada sistem emulsi kecepatan oksidasi lemak dan perilaku antioksidan berbeda dengan sistem minyak curah karena tergantung dari partisi antioksidan pada antar permukaan. Penggunaan pengemulsi tween 20 dalam sistem emulsi diduga dapat meningkatkan partisi senyawa antioksidan dari ekstrak umbi akar ginseng jawa. Menurut Schwarz et al., (2000), aktivitas antioksidan α tokoferol lebih tinggi dalam minyak curah dibandingkan bentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Penambahan pengemulsi pada sistem emulsi o/w meningkatkan aktivitas antioksidan α tokoferol.

Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak umbi akar ginseng jawa hasil ekstraksi dengan pelarut yang berbeda adalah jenis senyawa yang terekstrak. Dari fenomena ini dapat diketahui bahwa senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dalam umbi akar ginseng jawa merupakan senyawa yang cenderung bersifat polar dan semipolar.

Dibandingkan standar vitamin E komersial pada konsentrasi yang sama (1000 ppm), ekstrak umbi akar ginseng jawa dari semua jenis pelarut yang diuji lebih rendah kemampuannya dalam menghambat proses peroksidasi. Kadar total fenol vitamin E lebih tinggi dari kadar total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa yang menunjukkan kemurnian ekstrak yang rendah, sehingga pada konsentrasi yang sama senyawa antioksidan dalam ekstrak lebih rendah dari senyawa antioksidan dalam vitamin E komersial.

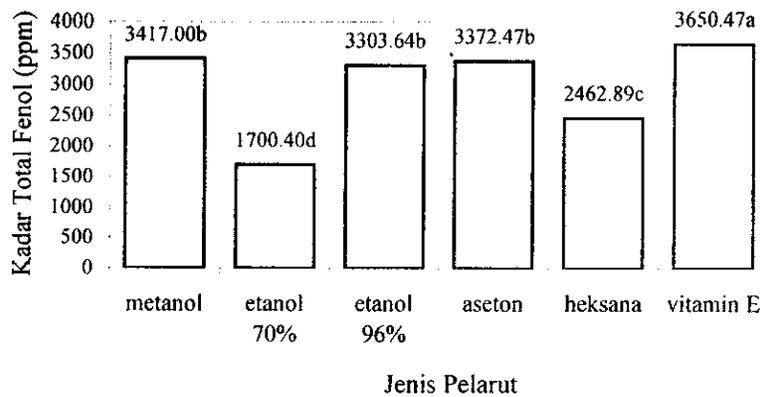
Kapasitas penangkapan radikal bebas

Menurut Prakash (2001), elektron yang tidak berpasangan pada DPPH memiliki kemampuan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu. Perubahan warna ungu menjadi kuning terjadi karena perubahan DPPH menjadi DPPH-H (Xu dan Hu, 2004). Antioksidan berperan mendonorkan

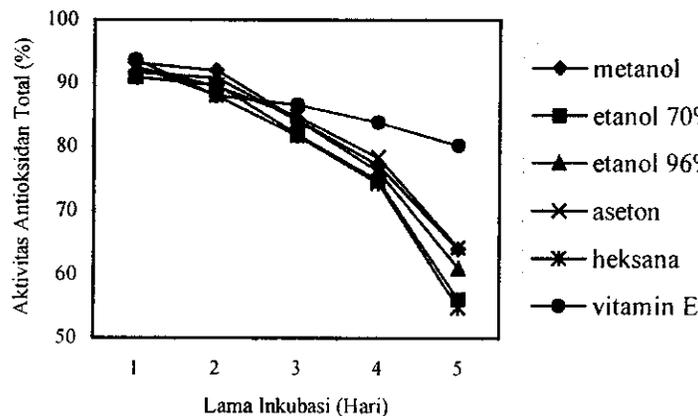
atom H sehingga terbentuk DPPH-H tereduksi. Kapasitas penangkapan radikal bebas ditunjukkan dengan persentase berkurangnya warna ungu dari DPPH (Kim, 2005). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ini menunjukkan kapasitas ekstrak umbi akar ginseng jawa sebagai antioksidan primer.

Ekstrak umbi akar ginseng jawa dengan pelarut yang berbeda menunjukkan kapasitas penangkapan radikal bebas yang berbeda seperti ditunjukkan Gambar 4. Semakin tinggi konsentrasi

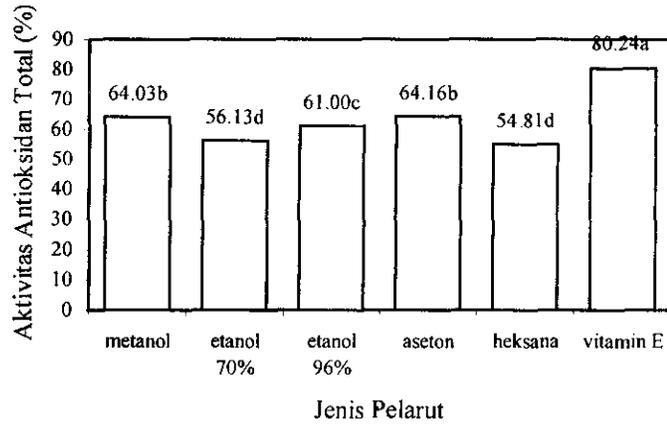
ekstrak yang diuji kapasitas penangkapan radikal bebas semakin meningkat yang menunjukkan senyawa antioksidan dalam ekstrak umbi akar ginseng jawa sebagai antioksidan primer. Kapasitas penangkapan radikal masih efektif sampai konsentrasi 1000 ppm dan belum berubah menjadi prooksidan karena menurut Pokorny et al., (2001) pada konsentrasi tinggi senyawa fenolik dapat berubah menjadi prooksidan.



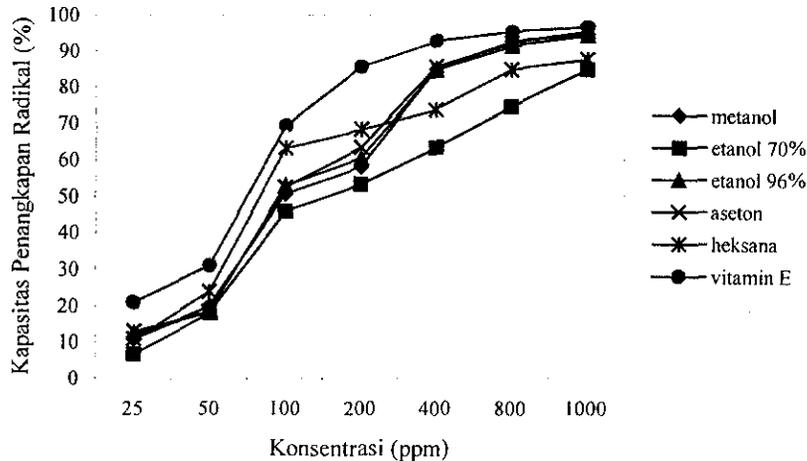
Gambar 1. Kadar total fenol ekstrak umbi akar ginseng jawa dengan ekstraksi menggunakan berbagai jenis pelarut (Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$)



Gambar 2. Aktivitas antioksidan total ekstrak umbi akar ginseng jawa pada konsentrasi 1000 ppm hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut selama inkubasi



Gambar 3. Aktivitas antioksidan total ekstrak umbi akar ginseng jawa pada konsentrasi 1000 ppm hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut pada hari kelima inkubasi (Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$)



Gambar 4. Kapasitas penangkapan radikal bebas ekstrak umbi akar ginseng jawa pada berbagai konsentrasi hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut

Kapasitas penangkapan radikal bebas vitamin E lebih tinggi dibandingkan ekstrak umbi akar ginseng jawa untuk semua konsentrasi yang diuji. Pokorny et al., (2001) menyatakan bahwa vitamin E adalah senyawa fenolik alami yang berfungsi sebagai penangkap radikal. Hasil penelitian dari Kim (2005) menyebutkan bahwa fraksi dari vitamin E memiliki efek penangkapan radikal DPPH sebesar 95,17% pada konsentrasi 160 ppm yang menunjukkan pada konsentrasi rendah vitamin E telah memberikan efek penangkapan radikal yang tinggi.

Lebih lanjut Yamauchi et al., (2002) menunjukkan bahwa mekanisme antioksidatif α tokoferol, bentuk vitamin E yang paling aktif dalam sistem biologis, adalah menghambat peroksidasi lemak tidak jenuh dengan cara menangkap radikal peroksil. Alfa tokoferol secara efisien mentransfer atom H pada radikal peroksil. Radikal α tokoferoksil bereaksi dengan radikal peroksil kedua membentuk produk non radikal.

Reaksi penangkapan radikal peroksil menghasilkan tokoferon dan epoksitokoferon sebagai produk oksidasi primer.

Menurut Wijoyo (1999), senyawa fenolik yang terkandung dalam umbi akar ginseng jawa termasuk ke dalam golongan flavonoid. Flavonoid dapat berperan sebagai penangkap anion superoksida dan radikal hidroksi. Kandaswami dan Middleton (1996) menyebutkan bahwa flavonoid bereaksi dengan radikal peroksil dengan cara mendonorkan atom hidrogen menyebabkan terminasi reaksi radikal berantai.

Senyawa fenolik dalam ekstrak umbi akar ginseng jawa berperan terhadap aktivitas penangkapan radikal yang menunjukkan perannya sebagai antioksidan primer. Hubungan antara kadar total fenol dengan kapasitas penangkapan radikal bebas pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm menunjukkan hubungan yang signifikan ($\alpha=0,05$) dengan koefisien korelasi $r=0,99$.

Nilai EC_{50} ekstrak aseton paling rendah diantara ekstrak lainnya (Gambar 5) yang menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak aseton paling tinggi. Karena persamaan regresi linear ekstrak heksana dan standar vitamin E secara statistik tidak signifikan ($\alpha=0,05$), persamaan regresi yang diperoleh tidak dapat digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} , sehingga data EC_{50} untuk ekstrak heksana dan vitamin E tidak diperoleh.

Kadar total fenol tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol, etanol 96%, dan aseton, tetapi kapasitas penangkapan radikal bebas dilihat dari EC_{50} untuk ekstrak metanol dan etanol 96% lebih rendah dari ekstrak aseton. Diduga jenis senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak ginseng jawa berperan terhadap kemampuan penangkapan radikal bebas, dan masing-masing ekstrak kemungkinan mempunyai jenis senyawa fenolik yang berbeda dan kapasitas antioksidan yang juga berbeda. Menurut Su et al., (2004), antioksidan fenolik dengan gugus hidroksil aromatik lebih banyak mempunyai kemampuan mendonorkan atom H lebih baik. Efektivitas senyawa antioksidan dipengaruhi oleh banyak faktor terutama energi aktivasi, konstanta kecepatan reaksi, potensi oksidasi-reduksi, stabilitas terhadap radikal intermediat, dan kelarutannya.

Daya reduksi

Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa sebagai antioksidan. Daya reduksi diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Kim, 2005). Singh et al., (2005) menambahkan bahwa daya reduksi berkaitan dengan kemampuan senyawa antioksidan mendonasikan atom hidrogen. Senyawa radikal merupakan suatu spesies molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan atau mempunyai struktur molekul yang terbuka sehingga bersifat reaktif (Anonymous, 2006). Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal berubah menjadi lebih stabil.

Menurut Hart (1983), fenol merupakan senyawa yang mudah dioksidasi sehingga bersifat sebagai pereduksi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa korelasi antara kadar total fenol dengan daya reduksi tidak signifikan ($r=0,05$) dengan koefisien korelasi $r=0,30$ yang menunjukkan bahwa senyawa fenol kurang berperan terhadap kemampuan reduksi ekstrak umbi akar ginseng jawa. Bila dibandingkan dengan kapasitas penangkapan radikal, senyawa fenol yang ada dalam ekstrak umbi akar ginseng jawa lebih berperan dalam

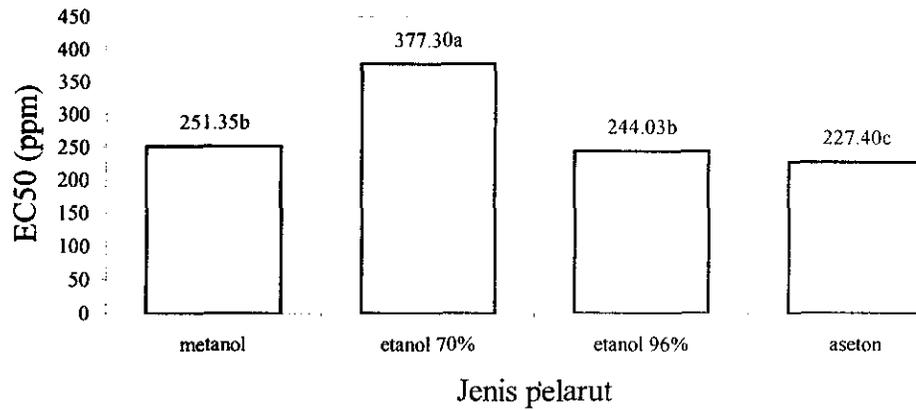
menangkap radikal bebas dibandingkan mendonorkan elektron yang menunjukkan perannya sebagai antioksidan primer.

Daya reduksi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam sistem pengujian (Gambar 6) yang ditunjukkan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 700 nm. Antioksidan mampu mereduksi radikal bebas yang mempunyai energi potensial yang lebih tinggi (Best, 2004 dalam Rohman dan Riyanto, 2005). Menurut Hart (1983), daya reduksi berkaitan dengan kemampuan melepaskan atom H untuk bereaksi dengan radikal bebas sehingga terbentuk radikal antioksidan. Radikal antioksidan ini distabilisasi melalui proses resonansi dalam struktur cincin aromatiknya.

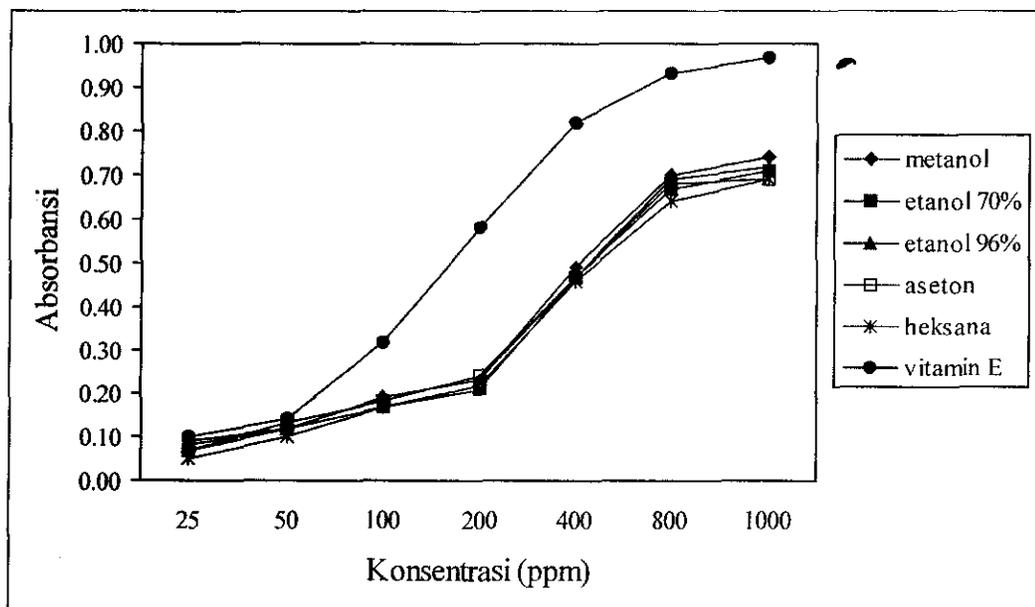
Daya reduksi setiap ekstrak umbi akar ginseng jawa dari berbagai pelarut dibandingkan pada konsentrasi uji 1000 ppm (Gambar 7). Standar vitamin E mempunyai daya reduksi lebih tinggi dibandingkan ekstrak umbi akar ginseng jawa. Vitamin E mempunyai kemampuan mereduksi paling tinggi karena vitamin E (tokoferol) mempunyai nilai potensial radikal +480 mV lebih tinggi dibandingkan potensial radikal antioksidan lain seperti askorbat (+282 mV) (Best, 2004 dalam Rohman dan Riyanto, 2005). Bila dibandingkan dengan ekstrak umbi akar ginseng jawa kemurnian ekstrak lebih rendah dari vitamin E sehingga pada konsentrasi uji yang sama jumlah senyawa yang berperan sebagai antioksidan lebih rendah.

Ekstrak metanol menunjukkan daya reduksi tertinggi sedangkan ekstrak aseton dan heksana mempunyai daya reduksi terendah. Fenomena ini berbeda dengan fenomena kemampuan penghambatan peroksidasi yang ditunjukkan aktivitas antioksidan total (ekstrak aseton dan metanol paling tinggi) dan kapasitas penangkapan radikal bebas berdasarkan EC_{50} (EC_{50} ekstrak aseton paling rendah). Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa untuk ekstrak yang sama mekanisme antioksidan dapat berbeda. Kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang tinggi tidak selalu menunjukkan kemampuan mereduksi radikal DPPH dan penghambatan peroksidasi yang juga tinggi.

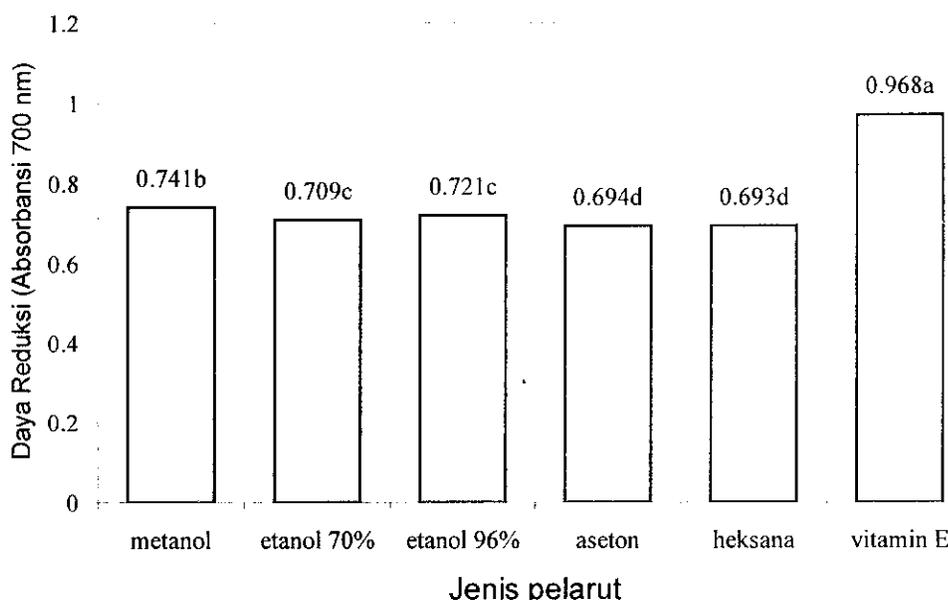
Kemungkinan nilai potensial radikal dari ekstrak aseton dan heksana lebih rendah dari ekstrak metanol sehingga kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} menjadi lebih rendah. Menurut Paiva-Martins dan Gordon (2002) dalam sistem pangan yang mengandung Fe^{3+} , kemampuan antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dapat mengakibatkan percepatan proses oksidasi. Ion Fe^{2+} bersifat sebagai katalis oksidasi pada proses dekomposisi peroksida menjadi radikal bebas.



Gambar 5. EC₅₀ ekstrak umbi akar ginseng jawa hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut (Huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha=0,05$). Keterangan: persamaan regresi linear untuk vitamin E dan ekstrak heksana tidak signifikan ($\alpha=0,05$) sehingga tidak dapat digunakan untuk penentuan EC₅₀.



Gambar 6. Daya reduksi ekstrak umbi akar ginseng jawa hasil ekstraksi berbagai pelarut pada berbagai konsentrasi



Gambar 7. Daya reduksi ekstrak umbi akar ginseng jawa hasil ekstraksi berbagai pelarut pada konsentrasi 1000 ppm (Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak umbi akar ginseng jawa hasil ekstraksi berbagai pelarut mempunyai aktivitas antioksidan yang berbeda. Aktivitas antioksidan total dan kapasitas penangkapan radikal ekstrak umbi akar ginseng jawa berkaitan erat dengan kadar total fenol. Aktivitas antioksidan total diperoleh dari ekstrak aseton dan metanol, kapasitas penangkapan radikal bebas tertinggi berdasarkan EC_{50} diperoleh dari ekstrak aseton, sedangkan daya reduksi tertinggi terdapat pada ekstrak metanol. Senyawa antioksidan dalam umbi akar ginseng jawa termasuk ke dalam antioksidan primer. Dibandingkan standar vitamin E, aktivitas antioksidan ekstrak umbi akar ginseng jawa lebih rendah pada konsentrasi uji yang sama.

Saran

Diperlukan penelitian yang lebih mendalam untuk mengidentifikasi jenis senyawa antioksidan yang terdapat pada umbi akar ginseng jawa. Karena pada penelitian ini hanya dieksplorasi sebagian mekanisme antioksidan, mekanisme lain perlu dikaji lebih lanjut seperti peran sebagai antioksidan sinergistik, kemampuan penangkapan spesies oksigen reaktif, regenerasi antioksidan primer, dan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vivo*. Selain itu perlu juga diteliti penggunaan pelarut lain yang belum digunakan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. Solvent. <http://en.wikipedia.org/wiki/Solvent>. 10:12, 3 April 2005
- Anonymous. 2006. Radical (Chemistry). <http://en.wikipedia.org/wiki/Radical>. 17:07, 19 May 2006
- Cuvelier, M.E., L. Lagunes-Galvetz, and C. Buset. 2003. Do antioxidants improve the oxidation stability of oil-in-water emulsions? *JAOCS* 80(11): 1101-1105.
- Duh, P., Y. Tu, and G. Yen. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harng Iyur (*Chrysanthemum morifolium Ramat*). *Lebensm Wiss U Technol* 32: 269-277.
- Duke, J.A. 1992. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs, and other economic plants. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Gülcin, I., M. Oktay, E. Kirecci, and Ö.I. Kufrevioglu. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activity of anise (*Pimpinella anisum*) seed extracts. *Food Chem.* 83: 371-382.
- Hart, H. 1983. Kimia Organik. Houghton Mifflin Co. Michigan State University, USA. Alih bahasa S. Achmadi. Erlangga. Jakarta

- Hu, C. and D. Kitts. 2001.** Free Radical Scavenging Capacity as Related to Antioxidant Activity and Ginsenoside Composition of Asian and North American ginseng extracts. *JAOCS* 78: 249-255.
- Kandaswami, C. and E. Middleton, Jr. 1996.** Flavonoids as Antioxidants. In F. Shahidi (ed.). *Natural Antioxidants-Chemistry, Health Effects, and Application.* AOCS Press, USA.
- Kim, O.S. 2005.** Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of the E Vitamer Fraction in Rice bran. *J. Food Sci.* 70(3): 208-213.
- Kitts, D., A.N. Wijewickreme, and C. Hu. 2000.** Antioxidant Properties of a North American Gginseng Extract. *Mol. Cell Biochem* 203: 1-10.
- Kochar, S.P. dan B. Rossell. 1990.** Detection Estimation and Evaluation of Antioxidants in food System. In B.J.F. Hudson (ed.). *Food Antioxidants.* Elsevier Applied Science. London
- Lalas, S. and J. Tsaknis. 2002.** Extraction and Identification of Natural Antioxidant from the Seed of *Moringa oleifera* tree Variety of Malawi. *JAOCS* 79(7): 677-697.
- Lampi, A.M., L. Kataja, A. Kamal-Eldin, and P. Vieno. 1999.** Antioxidant Activity of α and γ tocopherols in the Oxidation of Rapeseed Oil Triacylglycerols. *JAOCS* 76(6): 749-755.
- Paiva-Martins, F. and M.H. Gordon. 2002.** Effects of pH and Ferric Ions on the Antioxidant Activity of Olive Polyphenols in Oil-in-water Emulsions. *JAOCS* 79(6): 571-576.
- Pokorny, J., Yanishlieva, and M.Gordon. 2001.** Antioxidants in Food. Woodhead Publishing Ltd. England.
- Popovich, D.G. and D. Kitts. 2004.** Generation of Ginsenosides Rg3 and Rh2 from North American Ginseng. *Phytochemistry* 65: 337-351.
- Popovich, D.G., C. Hu, T.D. Durance, and D. Kitts. 2005.** Retention of Ginsenosides in Dried Ginseng Root: Comparison of Drying Methods. *J.of Food Sci.* 70(6): S355-S358.
- Povilaityte, V. and P.R. Venskutonis. 2000.** Antioxidative Activity of Purple Peril, Moldavian, Dragonhead, and Roman Chamomile Extracts in Rapeseed oil. *JAOCS* 77(9): 951-956.
- Prakash, A. 2001.** Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress* Vol.19 No.2, Minnesota
- Pratt, D.E. dan B.J.F. Hudson. 1990.** Natural Antioxidants not Exploited Commercially. In B.J.F. Hudson (ed.). *Food Antioxidants.* Elsevier Applied Science, London
- Prybylski, R., Y. Lee, and N. Eskin. 2001.** Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Buckwheat Seed Components. In J. Pokorny, Yanishlieva. and M. Gordon (eds.). *Antioxidants in Food.* Woodhead Publishing Ltd. England
- Rohman dan Riyanto. 2005.** Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L). *Agritech* .25(3): 131-136
- Schwarz K., S-W. Huang, J. B. German, B. Tiersch, J. Hartmann, and E.N. Frankel. 2000.** Activities of Antioxidants Are Affected by Colloidal Properties of Oil-in-water and Water-in-oil Emulsions and Bulk Oils. *J. Agric. Food Chem.* 48 (10): 4874-4882.
- Singh, D., P. Marimuthu, C.S. de Heluani, and C. Catalan. 2005.** Antimicrobial and Antioxidant Potentials of Essential Oil and Acetone Extract of *Myristica fragrans* Houtt. (aril part). *J.of Food Sci.* 70(2): M141-M148.
- Soares, J.R., T.C.P. Dins, A.P. Cunha, and L.M. Ameida. 1997.** Antioxidant Activity of Some Extract of *Thymus zygis*. *Free Rad. Res.* 26: 469-478.
- Su, Y-L, J-Z. Xu, C.H. Ng, L.K.K. Leung, Y. Huang, and Z-Y. Chen. 2004.** Antioxidant Activity of Tea Theaflavins and Methylated Catechin in Canola Oil. *JAOCS* 31(3): 269-274.
- Trevor, D.S.C. 1995.** Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB Bandung
- Widyawati. 2005.** Potensi Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn) Sebagai Penangkap Radikal Bebas DPPH. *Agritech* 25(3):137-142
- Wijoyo, T.H.N. 1999.** Profil Kromatografi Lapis Tipis Kandungan Umbi Akar *Talinum paniculatum* Gaertn dan *Talinum triangulare* Willd. Fakultas Farmasi. UGM, Yogyakarta
- Xu, J. And Q. Hu. 2004.** Effect of Foliar Application of Selenium on the Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Selenium-enriched Rice. *J. Agric. Food. Chem.* 52:1759-1763
- Yamauchi, R., H. Noro, M. Shimoyamada, and K. Kato. 2002.** Analysis of Vitamin E and Its Oxidation Products by HPLC with Electrochemical Detection. *Lipids* 37: 515-522.
- Yen, G.C., Y.C. Chang, and S.W. Su. 2003.** Antioxidant Activity and Active Compound of Rice Koji Fermented with *Aspergillus candidus*. *Food Chem.* 83: 49-54.