

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DEDAK SORGUM LOKAL  
VARIETAS COKLAT (*Sorghum bicolor*) HASIL EKSTRAKSI  
BERBAGAI PELARUT**

*Antioxidant Activity of Extracts Obtained by Applying Various Solvents to  
the Local Brown Sorghum (*Sorghum bicolor*) Bran*

Juwita Ratna Dewi, Teti Estiasih\*, dan Erni Sofia Murtini

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fak. Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran – Malang

\*Penulis korespondensi: Email [teties@yahoo.co.id](mailto:teties@yahoo.co.id)

**ABSTRACT**

*A completely randomized design experiment was conducted to determine the antioxidant activity of bran extracts obtained by applying various solvents to the local brown sorghum grain. Four types of technical grade of solvents were employed, namely aquadest, ethanol 96%, methanol 98% and acetone 98%. Each bran extract was obtained by shaking for 8 hrs in a single solvent, respectively. The extract was vacuum dried prior to use. The antioxidant activity of the extract was assessed by determining its ability for free radicals (DPPH) scavenging and for the ability for oxidation inhibition of a particular fatty acid with ferric thiocyanate.*

*The results indicated that the levels of phenols, tannin and anthocyanin, varied with the solvent and the methanol extract contained the highest level of total phenols (55.7%). The highest radical scavenging activity was found at a concentration of 400 ppm. The methanol extract (400 ppm) showed the highest EC<sub>50</sub> value (81,5 %), which was slightly lower than that of BHT. The order of oxidative inhibition, from the highest one, was the extracts of methanol > ethanol > acetone > aquadest. The value of the methanol extract was almost comparable the one of BHT. Both the scavenging activity and oxidative inhibition were correlated positively with the levels of tannin and other phenols, but negatively correlated with the anthocyanin content.*

*Keywords: brown sorghum, bran extracts, antioxidant activity*

**PENDAHULUAN**

Dedak sorgum merupakan hasil samping penyosohan biji sorgum dengan jumlah dedak yang diperoleh 12-15% dari berat biji sorgum. Sampai saat ini dedak sorgum merupakan limbah yang belum dimanfaatkan, padahal menurut Awika and Rooney (2004) dedak yang terdiri dari lapisan perikarp dan lapisan testa banyak mengandung senyawa fenol. Senyawa fenol dalam dedak sorgum ada 2 macam yaitu asam fenolat (asam benzoat dan turunan asam sinamat) dan flavonoid (tanin dan antosianin).

Fenol dapat berperan sebagai antioksidan alami. Peningkatan kesadaran

konsumen terhadap produk-produk alami telah mendorong industri pangan berbasis lemak dan minyak untuk menggunakan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan sintetis 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).

Proses ekstraksi diperlukan supaya senyawa fenol dalam dedak sorgum dapat dimanfaatkan. Berdasarkan penelitian antioksidan pada buah duwet (Lestario dkk, 2001) penggunaan jenis pelarut yang

berbeda berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Penggunaan pelarut yang diasamkan dengan HCl disarankan karena HCl dapat mendestruksi sel tumbuhan sehingga senyawa antioksidan yang terdapat dalam sel dapat terekstrak dengan baik.

Proses ekstraksi yang dilakukan harus efisien. Faktor penting pada proses ekstraksi adalah penggunaan pelarut yang memiliki kepolaran sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak. Pada dedak sorgum senyawa antioksidan yang akan diekstrak bersifat polar. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan berbagai macam jenis pelarut yang cenderung polar dengan tingkat kepolaran berbeda.

Senyawa antioksidan yang berbeda memiliki mekanisme kerja yang berbeda, sehingga pada penelitian ini dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode berbeda, yakni mekanisme penangkapan radikal bebas dan penghambatan peroksidasi. Jika diterapkan sebagai pangan fungsional, antioksidan berperan sebagai penangkap radikal bebas, namun jika diterapkan untuk mencegah kerusakan bahan pangan, antioksidan berperan sebagai penghambat peroksidasi.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah dedak sorgum lokal varietas coklat, etanol 96%, metanol 98%, aseton 98%, aquades,  $\text{KMnO}_4$  0,1 N, gelatin, kaolin powder, Na-indigotindisulfonat, Na oksalat

Bahan yang digunakan untuk analisis adalah minyak ikan, buffer fosfat, tween 80, etanol 75%, amonium tiosianat 30%, ferro klorida 0,02 M, HCl 35%, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), dan Folin-Ciocalteu.

Alat-alat yang digunakan adalah blender phillips, timbangan digital, *shaker*, spektrofotometer UV-VIS (Spectronic<sup>®</sup>20 Genesys<sup>™</sup>), penyaring vakum, *rotary*

*vacuum evaporator* (Buchi R114), pH-meter (Rex model pHs-3C, *color reader*) Minolta CR-10, peralatan, kertas saring.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Penyosohan dan pengecilan ukuran dedak sorgum

Penyosohan sorgum sebanyak 3 kali sampai endosperm terlihat. Pengecilan ukuran menggunakan blender pada kecepatan 2 selama 10 menit. Penyeragaman ukuran dengan ayakan 20 mesh. Penimbangan sebanyak 50 gram.

#### Proses ekstraksi dedak sorgum

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan 4 macam pelarut yaitu akuades, metanol, etanol 96, dan aseton. Pelarut yang ditambahkan sebanyak 200 ml (1:4). Ekstraksi dilakukan secara maserasi dan dishaker pada suhu ruang selama 8 jam. Penyaringan dengan penyaring vakum. Penguapan pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C tekanan 100 mbar sampai tidak ada pelarut yang menguap.

#### Pengujian aktivitas antioksidan metode FTC

Aktivitas antioksidan ekstrak dedak sorgum dari berbagai jenis pelarut pada konsentrasi 1000 ppm diukur kemampuannya dalam menghambat peroksidasi minyak ikan 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 minyak ikan 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°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  $\lambda$  500 nm. Persentase penghambatan ekstrak diukur setiap hari dengan rumus:

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

dengan  $A_0$ =absorbansi kontrol atau tanpa penambahan ekstrak dan  $A_1$ =absorbansi sampel.

#### Aktivitas penangkapan radikal bebas

Aktivitas penangkapan radikal bebas diukur dengan menggunakan metode Kim (2005). Larutan ekstrak dipersiapkan dengan melarutkan ekstrak pada konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, 400, 1600 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  $\lambda$  517 nm. Penurunan absorbansi menunjukkan peningkatan kemampuan penangkapan radikal DPPH. Kemampuan untuk menangkap radikal DPPH dihitung dengan persamaan:

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

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

#### Pengamatan dan Analisis

Pengamatan yang dilakukan pada dedak sorgum adalah analisis kadar tanin metode Lowenthal-Procter dalam Sudarmaji, dkk (1987), analisis kadar antosianin metode perbedaan pH (Giusti and Worldstad, 2001). Analisis ekstrak meliputi total fenol (Huang dan Yen, 2002), kadar tanin metode Lowenthal-Procter dalam Sudarmaji, dkk (1987), kadar antosianin metode perbedaan pH (Giusti and Worldstad, 2001), aktivitas antioksidan metode FTC (Duh *et al.*,

1999), dan penangkapan radikal bebas (Kim *et al.*, 2005).

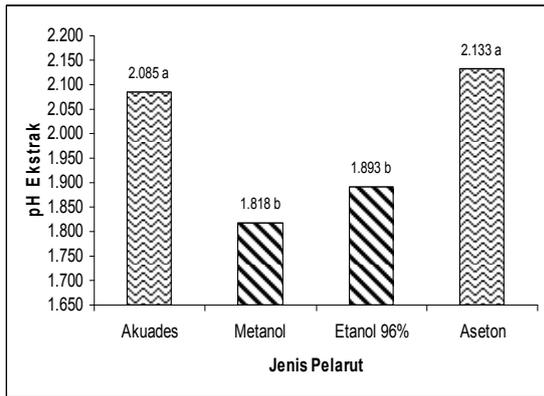
Data pengamatan dianalisis ragam dengan rancangan percobaan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktor yang terdiri dari 4 perlakuan (jenis pelarut yaitu akuades, metanol, etanol 96%, dan aseton). Uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan selang kepercayaan 5%. Juga dilakukan uji korelasi antara kadar tanin, total fenol, dan total antosianin dengan aktivitas antioksidan metode FTC dan DPPH.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Nilai pH Ekstrak

Nilai pH ekstrak metanol dan etanol lebih rendah daripada ekstrak akuades dan aseton hal ini dikarenakan pH pelarut metanol (3,21) dan etanol (5,32) sebelum ditambah dengan HCl pekat memiliki pH lebih rendah daripada pH pelarut akuades (6,58) dan aseton (5,69) sehingga pH ekstrak hasil ekstraksi dengan pelarut metanol dan etanol terukur lebih rendah karena dalam ekstrak masih terdapat residu pelarut dan HCl (Gambar 1).

Penggunaan jenis pelarut yang berbeda menyebabkan perbedaan tingkat keasaman (pH) yang berpengaruh terhadap kestabilan senyawa antioksidan. Pada kondisi asam tinggi senyawa antioksidan lebih stabil. Stabilitas dan aktivitas senyawa antioksidan ekstrak dengan pH rendah lebih besar daripada ekstrak dengan pH tinggi. Hal ini berhubungan dengan terjadinya regenerasi senyawa antioksidan primer (Pokorny *et al.*, 2001). Semakin rendah pH ekstrak berarti dalam ekstrak tersebut semakin banyak  $H^+$  bebas,  $H^+$  ini dapat meregenerasi senyawa antioksidan dengan cara berikatan dengan radikal fenoksi membentuk senyawa antioksidan kembali.

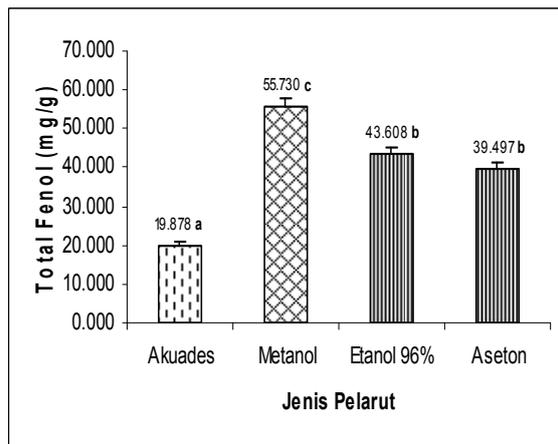


\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

Gambar 1. Nilai pH ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut

### Total Fenol

Total fenol ekstrak dedak sorgum dapat dilihat pada Gambar 2.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

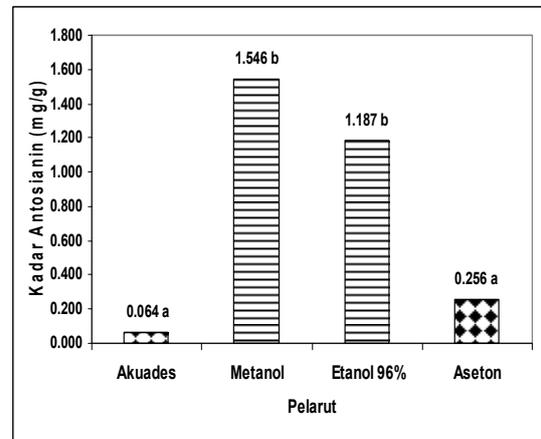
Gambar 2. Total fenol ekstrak dedak sorgum pada pelarut

Total fenol ekstrak dedak sorgum dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Total fenol ekstrak metanol paling besar yakni 55,730 mg/g. Hal ini berhubungan dengan kemampuan pelarut metanol dalam mengekstrak senyawa fenol. Menurut Hart (1983) metanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga dapat mengekstrak fenol dengan baik. Namun ekstrak akuades memiliki

total fenol paling kecil. Diduga akuades bersifat sangat polar sehingga tidak dapat mengekstrak senyawa fenol. 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 dengan senyawa yang lebih polar seperti karbohidrat.

### Total Antosianin

Rerata kadar antosianin ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut dapat dilihat pada Gambar 3.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

Gambar 3. Kadar antosianin ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut

Ekstrak metanol memiliki kadar antosianin tertinggi karena pelarut metanol memiliki pH paling rendah (3,21) diantara keempat pelarut yang digunakan dan antosianin dapat terekstrak dengan baik pada kondisi pH rendah serta lebih stabil. Harborne (1996) menjelaskan bahwa metanol yang ditambah dengan HCl 1% adalah pelarut yang sering disarankan untuk mengekstrak antosianin karena sifatnya yang polar dan asam. Antosianin adalah senyawa polar yang lebih mudah diekstrak dalam suasana asam.

Kadar antosianin ekstrak akuades paling rendah disebabkan proses ekstraksi antosianin tidak hanya dipengaruhi oleh

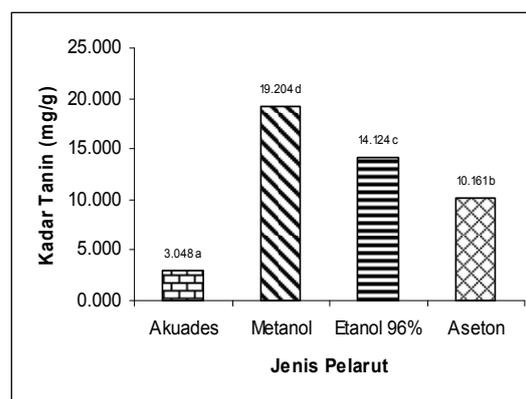
tingkat kepolaran pelarut tetapi juga dipengaruhi oleh pH pelarut. Walaupun akuades merupakan pelarut polar, namun akuades memiliki pH mendekati netral (6,58) sehingga akuades kurang efektif untuk mengekstrak antosianin. Menurut Widjaya (2003) sebagai glikosida, antosianin larut dalam air tetapi setelah mengalami hidrolisis, maka bentuk non glikosidanya (antosianidin) bersifat kurang larut air. Menurut Clifford (2000) antosianin yang terdapat pada sorgum adalah 3-deoksiantosianidin yang tersusun atas luteolinidin dan apigenidin. Senyawa ini diketahui lebih stabil pada kondisi asam dibandingkan antosianin yang terdapat pada buah, sayur, dan sereal lain.

Meskipun aseton merupakan salah satu pelarut yang disarankan untuk ekstraksi antosianin, namun dalam penelitian ini kadar antosianin ekstrak aseton rendah yaitu 0,256 mg/g. Hal ini diduga disebabkan terjadi reaksi antara aseton dengan antosianin yang terekstrak sehingga mengurangi jumlah antosianin yang terukur. Menurut Awika *et al* (2004) selama proses ekstraksi dengan pelarut aseton terjadi reaksi antara aseton-antosianin membentuk piranoantosianidin. Namun reaksi ini tidak terjadi pada pelarut metanol. Senyawa piranoantosianidin ini tidak terdeteksi pada pengukuran antosianin.

### Kadar Tanin

Kadar tanin tertinggi diperoleh ekstrak metanol, kemudian etanol 96%, aseton, dan akuades. Kadar tanin ekstrak metanol, etanol 96%, aseton dan akuades berbeda nyata (Gambar 4).

Akuades memiliki kadar tanin terendah yang menunjukkan bahwa akuades bukan merupakan pelarut yang tepat untuk mengekstrak tanin. Hal ini mungkin dikarenakan tanin sukar larut dalam akuades walaupun bersifat polar. Menurut Pokorny *et al* (2001) tanin merupakan senyawa yang kompleks dan jarang dikelompokkan kedalam kelompok senyawa fenolik larut air dengan berat molekul tinggi.



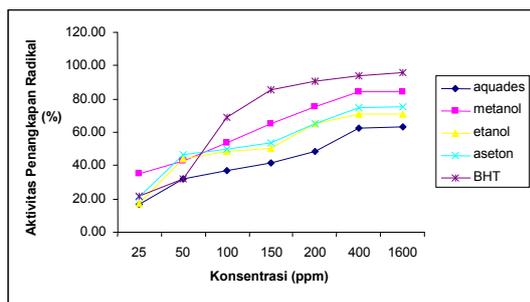
\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

Gambar 4. Kadar tanin ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut

### Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas pada Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi antioksidan diketahui berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi antioksidan, aktivitasnya semakin besar, namun pada konsentrasi tertentu aktivitas antioksidan akan mencapai fase stabil. Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut serta BHT sebagai standar dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, aktivitas penangkapan radikal bebas juga semakin besar. Hal ini hanya berlangsung sampai konsentrasi 400 ppm, kecuali BHT aktivitasnya tetap naik sampai konsentrasi 1600 ppm. Sesuai dengan analisis ragam, dari konsentrasi 400 ppm ke 1600 ppm besarnya aktivitas tidak berbeda nyata ( $\alpha=0,05$ ). Aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak tertinggi adalah konsentrasi 400 ppm, sedangkan konsentrasi lebih besar dari 400 ppm tidak akan memberikan efek penangkapan radikal lebih besar atau cenderung stabil.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

Gambar 5. Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut

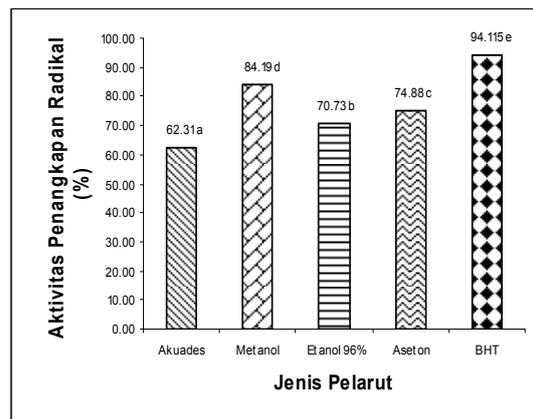
Kestabilan aktivitas penangkapan radikal ini diduga akibat terjadi sinergisme antar senyawa-senyawa antioksidan dalam ekstrak sehingga aktivitas penangkapan radikal tetap stabil dan tidak mengalami penurunan aktivitas atau berubah menjadi prooksidan. Menurut Gordon (1990) konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat mempengaruhi laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan.

#### Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas pada Konsentrasi Efektif

Konsentrasi efektif adalah konsentrasi dimana senyawa antioksidan memiliki % (persen) aktivitas penangkapan radikal tertinggi dari semua konsentrasi yang diuji. Dari konsentrasi yang diuji yaitu 25, 50, 100, 150, 200, 400, dan 1600 ppm, konsentrasi efektif dari ekstrak dedak sorgum adalah 400 ppm. Aktivitas penangkapan radikal pada konsentrasi efektif ekstrak dedak sorgum hasil ekstraksi dengan berbagai jenis pelarut dapat dilihat pada Gambar 6.

Pelarut yang berbeda berpengaruh nyata terhadap besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas. Ekstrak metanol memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas paling besar, disusul ekstrak aseton, etanol 96%, dan akuades.

BHT sebagai standar memiliki aktivitas penangkapan radikal paling besar. Hal ini berhubungan dengan tingkat kemurnian senyawa antioksidan. BHT yang merupakan antioksidan sintesis memiliki tingkat kemurnian lebih tinggi dari ekstrak, sehingga pada berat atau volume yang sama kandungan senyawa antioksidan BHT lebih besar dari ekstrak.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

Gambar 6. Aktivitas penangkapan radikal bebas (%) pada konsentrasi efektif 400 ppm

Ekstrak metanol memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas tertinggi. Dilihat dari kadar antosianin, tannin, dan total fenol dari ekstrak metanol adalah yang tertinggi dibandingkan dengan ketiga ekstrak lainnya sehingga ekstrak metanol memiliki aktivitas penangkapan radikal paling besar. Menurut Worldstad (2001) antosianin adalah salah satu senyawa flavonoid yang termasuk kedalam golongan senyawa polifenol yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. Menurut Hangerman *et al*, (1998) and Bors *et al* (2000) tanin dengan berat molekul besar memiliki aktivitas antioksidan yang besar. Selain itu tanin memiliki banyak cincin aromatik dan gugus hidroksil, dan tanin tidak dapat berubah menjadi prooksidan. *Procyanidin o-quinon* mampu menghasilkan senyawa oligomer melalui berbagai reaksi sehingga dapat mempertahankan gugus hidroksil.

Berbeda dengan *flavonoid-o-quinon* sederhana dapat berubah menjadi prooksidan dengan membentuk spesies oksigen reaktif akibat kegagalan siklus redoks. Riedl and Hangerman (2001) menyatakan bahwa meskipun tanin membentuk kompleks dengan protein, tanin dari sorgum masih memiliki aktivitas antioksidan, paling tidak sebesar 50% dari aktivitas antioksidan semula.

**Hubungan antara Aktivitas Penangkapan Radikal dengan Kadar Senyawa Antioksidan dalam Ekstrak Dedak Sorgum**

Hubungan antara aktivitas penangkapan radikal bebas dengan kadar antosianin, kadar tanin dan senyawa fenol non tanin dan non antosianin dapat dijelaskan dengan persamaan:

$$y = 54,8 + 1,79x_1 - 7,03x_2 + 0,00x_3 \quad r = 94,3\%$$

dengan:

y = aktivitas penangkapan radikal bebas (%)

x<sub>1</sub> = kadar tanin (mg/g)

x<sub>2</sub> = kadar antosianin (mg/g)

x<sub>3</sub> = kadar fenol lain (selain tanin dan antosianin) (mg/g)

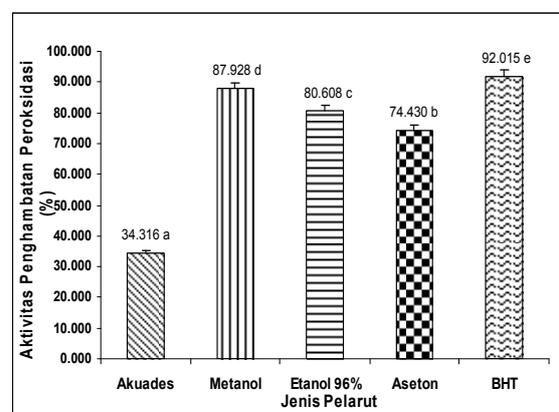
Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas 94,3% (koefisien korelasi) dipengaruhi oleh senyawa fenol selain tanin dan antosianin, kadar antosianin dan kadar tanin sedangkan 5,7% dipengaruhi oleh faktor lain.

Kadar antosianin dari ekstrak berkorelasi negatif dengan aktivitas penangkapan radikal bebas. Semakin besar kadar antosianin maka aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak akan semakin kecil. Diduga antosianin dalam ekstrak telah mengalami kerusakan karena pemanasan, cahaya, dan waktu ekstraksi yang terlalu lama yaitu selama 8 jam. Diduga selama proses ekstraksi antosianin teroksidasi sehingga mengalami kerusakan dan kemungkinan terjadi perubahan struktur antosianin. Akibatnya antosianin kehilangan kemampuan sebagai antioksidan karena

aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu struktur antosianin dan kemampuan untuk melakukan regenerasi.

**Aktivitas Penghambatan Peroksidasi Ekstrak Dedak Sorgum pada Berbagai Pelarut**

Gambar 7 menunjukkan aktivitas penghambatan peroksida berbagai pelarut pada hari ke-1 inkubasi. Aktivitas penghambatan peroksidasi ekstrak metanol > ekstrak etanol 96% > ekstrak aseton > ekstrak akuades.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada α=0,05

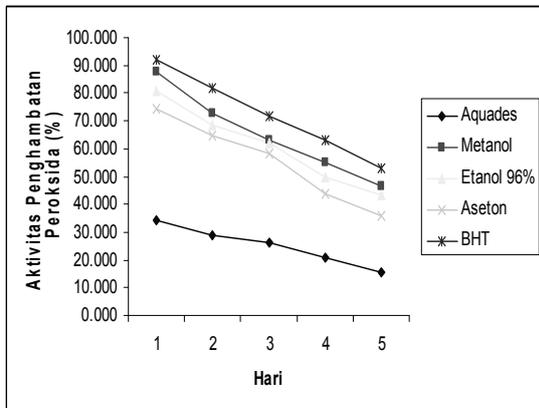
Gambar 7. Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida ekstrak dedak sorgum berbagai pelarut setelah 1 hari

Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak metanol yakni sebesar 87,93% yang berhubungan dengan kandungan senyawa antioksidan seperti fenol, tanin, dan antosianin. Sahidi (1997) berpendapat bahwa komponen fenol dari tanaman merupakan konstituen yang berperan aktif sebagai antioksidan. Antioksidan senyawa fenolik dapat menghentikan atau menghambat tahapan inisiasi dengan bereaksi dengan radikal asam lemak atau menghambat propagasi dengan bereaksi dengan radikal peroksi atau radikal alkoksi. Oleh karena itu semakin tinggi kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak seperti tanin, antosianin, dan asam-asam fenolat akan memberikan

efek penghambatan peroksidasi lebih besar.

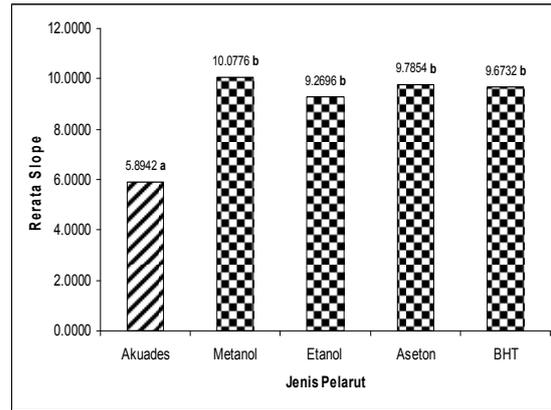
**Perubahan Aktivitas Penghambatan Peroksidasi Berdasarkan Lama Inkubasi**

Aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dari hari 1-5 inkubasi untuk semua ekstrak dapat dilihat pada Gambar 8. Selama 5 hari inkubasi terjadi kenaikan jumlah peroksida yang terbentuk akibat penurunan aktivitas antioksidan. Pada tahap awal oksidasi asam lemak tidak jenuh, terjadi autooksidasi membentuk radikal peroksida yang cukup banyak (Kim, 2005). Penurunan aktivitas antioksidan ini menyebabkan peningkatan laju pembentukan peroksida. Peningkatan laju pembentukan peroksida menyebabkan peningkatan jumlah  $FeCl_2$  yang teroksidasi menjadi  $FeCl_3$ . Hal ini mengakibatkan peningkatan pembentukan kompleks  $Fe(SCN)_3$  berwarna merah, sehingga absorbansi naik dan aktivitas penghambatan peroksida yang dihitung turun.



Gambar 8. Aktivitas penghambatan peroksida selama inkubasi

Selama 5 hari inkubasi pada suhu  $37^{\circ}C$  stabilitas antioksidatif keempat ekstrak berubah dilihat dari ketajaman penurunan kurva (Gambar 8). Nilai dan tingkat kecuraman kurva linier (Gambar 8) dapat dilihat pada Gambar 9.



\*Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

Gambar 9. Grafik rerata *slope* stabilitas senyawa antioksidan ekstrak dedak sorgum pada berbagai pelarut selama 5 hari inkubasi

Ekstrak metanol memiliki aktivitas penghambatan peroksidasi paling besar (Gambar 7) namun ekstrak metanol memiliki nilai *slope* paling besar. Senyawa antioksidan dalam ekstrak metanol dari segi jumlah dan jenis kemungkinan lebih banyak daripada ekstrak lainnya. Semakin banyak kandungan senyawa antioksidan dalam ekstrak, maka aktivitas pendonoran  $H^+$  untuk menghambat peroksidasi dan penangkapan radikal juga semakin tinggi.

Senyawa antioksidan yang telah mendonorkan  $H^+$  akan berubah menjadi radikal fenoksi yang tidak lagi memiliki aktivitas antioksidan. Fenomena ini menyebabkan ekstrak metanol memiliki kecuraman kurva yang paling besar, namun memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Begitu juga dengan ekstrak etanol 96% dan aseton karena kedua ekstrak ini secara statistik tidak berbeda nyata dengan ekstrak metanol.

Pada ekstrak akuades dari segi kuantitas, senyawa antioksidan yang terekstrak paling kecil, sehingga pembentukan radikal fenoksi sebagai hasil dari senyawa antioksidan yang telah mendonorkan  $H^+$  juga kecil. Hal ini menyebabkan ekstrak akuades memiliki aktivitas penghambatan peroksidasi paling

kecil, namun cenderung lebih stabil jika dibandingkan tiga ekstrak lainnya (memiliki *slope* paling kecil). Penurunan aktivitas penghambatan peroksidasi ekstrak akuades dapat dikatakan secara perlahan-lahan, sehingga ekstrak akuades merupakan ekstrak yang tepat jika akan diaplikasikan kedalam produk pangan.

#### **Korelasi antara Kadar Senyawa Antioksidan dengan Aktivitas Penghambatan Peroksidasi**

Hubungan antara kadar senyawa fenol non tanin dan non antosianin, tanin dan antosianin dengan aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dapat dijelaskan dengan persamaan:

$$y = 22,6 + 0,255x_1 - 11,9x_2 + 4,20x_3$$
$$r = 96,07 \%$$

dengan:

y = aktivitas penghambatan peroksidasi (%)

$x_1$  = kadar senyawa fenol non tanin dan non antosianin (mg/g)

$x_2$  = kadar antosianin (mg/g)

$x_3$  = kadar tanin (mg/g)

Dengan r sebesar 96,07% berarti aktivitas penghambatan pembentukan peroksida dipengaruhi oleh senyawa fenol non tanin dan non antosianin, antosianin, dan tanin sebesar 96,07 % sedangkan 3,93% dipengaruhi oleh faktor lain selain ketiga senyawa tersebut.

Kadar antosianin ekstrak berkorelasi negatif dengan aktivitas penghambatan pembentukan peroksida. Kemungkinan disebabkan antosianin mengalami kerusakan akibat suhu, cahaya, atau pH selama proses ekstraksi. Iversan (1999) mengemukakan bahwa stabilitas antosianin dipengaruhi oleh oksigen, pH, suhu, cahaya, ion logam (timah, besi, aluminium, dan magnesium), enzim, dan asam askorbat.

#### **KESIMPULAN**

Jenis pelarut berpengaruh terhadap kadar fenol, antosianin, dan tanin yang terekstrak. Ekstrak metanol memiliki kadar senyawa fenol, antosianin dan tanin

paling tinggi, sedangkan ekstrak akuades memiliki kadar senyawa fenol, antosianin dan tanin paling rendah.

Aktivitas penangkapan radikal ekstrak dedak sorgum dicapai pada konsentrasi 400 ppm dan mulai stabil pada konsentrasi 1600 ppm. Aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak metanol > etanol 96% > aseton > akuades. Kandungan senyawa tanin dalam ekstrak memiliki pengaruh paling besar, sedangkan antosianin berkorelasi negatif dengan aktivitas penangkapan radikal.

Selama 5 hari inkubasi aktivitas penghambatan peroksidasi dari keempat ekstrak terus mengalami penurunan. Aktivitas penghambatan tertinggi diperoleh pada konsentrasi ekstrak 400 ppm pada hari 1 inkubasi. Aktivitas penghambatan peroksidasi adalah ekstrak metanol > etanol 96% > aseton > akuades. Tanin merupakan senyawa yang paling berpengaruh terhadap penghambatan peroksidasi, sedangkan antosianin menunjukkan korelasi negatif. Stabilitas senyawa antioksidan ekstrak akuades cenderung lebih stabil.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Amarowicz, R., M. Naczek, and F. Shahidi. 2000. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77(9): 957-961
- Anonymous. 2006. Solvent. <http://en.wikipedia.org/wiki/solvent>. Tanggal Akses 20 April 2006
- Awika, J.M., L.W. Rooney, 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. a review. *Phytochemistry*. 65: 1199-1221.
- Awika, J.M., L.W. Rooney, and X. Wu. 2004. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. of Agric. Food Chem.* 51, 6657-6662
- Bors, W. and K. Stettmaier. 2000. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidin and gallate ester.

- Archives of Biochemistry and Biophysics 374, 347-355.
- Duh P., Y. Tu, and G. Yen. 1999. antioxidant activity of water extract of harnng jyr (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm Wiss U Technol* 32:269-77.
- Giusti, M.M and R.E Worlsted,. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy. John Willey and Sons, Inc. <http://Ipi.oregonstate.edu/ss01/A nthocyanin.html>. Tanggal Akses 3 Maret 2006
- Gordon, M.H 1990. The Mechanism Of Antioxidants Action In Vitro. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London.
- Hangerman, A.E., K.M. Riedl., G.A. Jones, K.N. Sovik, N.T. Ritchard, P.W. Hartzfeld, and T.K. Riechel. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannin) as biological antioxidant. *J. of Agric. Food Chem.* 46: 1887-1892
- Hart, H. 1983. *Kimia Organik*. Houghton Mifflin Co. Michigan State University. USA. Alih bahasa Dr. Suminar Achmadi Ph.D. Erlangga. Jakarta.
- Hatano T., H. Kagawa, Yasuhara, and T. Okuda. 1998. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem Pharm Bull* 36:2090-7.
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia*. Penerjemah Patma Winata, K dan Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Huang, C. Y and C.C. Yen. 2002. Antioxidant activity of phenolic compound isolated from *Mesona procumbens* Hensl. *J. Agric. Food Chem.* 50:2993-2997
- Iversan, C. K. 1999. Black currant nectar: effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *J. Food Sci* 64(1):37-41
- Kim, O.S. 2005. Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamers fraction in rice bran. *J. Food Sci.* 70(3): 208-213
- Lalas, S. and J. Tsaknis. 2002. Extraction and identification of natural antioxidant from the seed of *Moringa oleifera* tree variety of Malawi. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79(7): 677-697.
- Lestario, L.N., P. Hastuti., S. Raharjo, dan Tranggono. 2001. Sifat antioksidatif ekstrak buah duwet (*Synzigium cumini*). *J. Agritech* 25(1):24-31
- Pokorny, J., N. Yanishleva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food*. Woodhead Publishing Ltd. England
- Riedl, K.M and A.E. Hagerman. 2001. Tannin-protein complexes as radical scavenger and radical sinks. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4917-4923
- Rohman, A. dan S. Riyanto. 2005. Aktivitas antioksidan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, L). *J. Agritech* 25(3): 131-136
- Sahidi F., and P.K.J. Warnasundara. 1997. Phenolic antioxidant. *Crit Rev J. Food Sci. Nutrition*
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 1987. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Sujarwadi, E.T. 1996. *Kajian Pengaruh Jumlah Pelarut dan Lama Ekstraksi Rimpang Kencur Terhadap Rendemen dan Mutu Oleoresi Kencur*. Skripsi. Fateta-IPB. Bogor.
- Trevor, D.S.C. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB Bandung
- Widjaya, C.H. 2003. *Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh*. Healthy Choice. Edisi IV.