

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI PATI UMBI GEMBILI (*Dioscorea Esculenta L.*) PADA TIKUS HIPERKOLESTROLEMA

D Oktaviani, A Yuniastuti, W Christijanti

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang
Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229.

*Email: dian.okta56@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan pati umbi gembili pada tikus hiperkolestrolema. Dalam penelitian ini menggunakan sampel tikus sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok C- (kelompok tikus normal), kelompok C+ (kolesterol 2%), kelompok perlakuan yang diberi kolesterol 2% dan pati umbi gembili dengan dosis yaitu kelompok P1 (dosis 100 mg/kg BB), kelompok P2 (dosis 150 mg/kg BB), kelompok P3 (dosis 200 mg/kg BB). Tikus di induksi kolesterol 2% selama 15 hari, kemudian diberi perlakuan dengan menginjeksikan larutan pati umbi gembili secara oral selama 15 hari. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji one way Anova dan uji lanjut LSD. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pati umbi gembili yang optimal dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada dosis 150 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB.

Kata kunci: Hiperkolestrolema, radikal bebas, pati umbi gembili, antioksidan

1. PENDAHULUAN

Di masa sekarang, gaya hidup dari masyarakat mengalami perkembangan dengan mengkonsumsi makanan cepat saji. Masyarakat beralih ke makanan cepat saji karena cepat, mudah diolah, harga terjangkau dan praktis. Junk food mengandung banyak sodium, kolesterol, dan lemak jenuh (Umarudin et al., 2012). Mengkonsumsi makanan cepat saji dengan frekuensi yang cukup sering, serta mengandung kadar kolesterol yang tinggi dapat meningkatkan kelebihan kolesterol sehingga kelebihannya selain di simpan dalam tubuh juga di simpan dalam darah (Feroniasanti, 2016).

Kolestrol tidak selalu menjadi racun bagi tubuh, karena kolestrol menjadi unsur penting dalam mengatur proses kimiawi pada tubuh (Setyaningrum & Sugiharto, 2015). Hiperkolestrolema merupakan kondisi saat jumlah kolesterol dalam darah tinggi (Rahma et al., 2014). Saat kondisi hiperkolestrolema terjadi peningkatan kadar LDL (Rahma et al., 2014). Radikal bebas dapat menyerang LDL sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid yang dapat merusak sel (Yang et al., 2013). Partikel LDL kaya akan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA = *polyunsaturated Fatty Acid*). Radikal bebas akan cepat bereaksi dengan ikatan tak jenuh seperti pada LDL (Simanjuntak., 2011).

Radikal bebas merupakan senyawa dengan elektron yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif (Simanjuntak, 2011). Untuk mencegah terjadinya akumulasi radikal bebas yang tinggi, maka diperlukan senyawa antioksidan untuk menetralkan pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh (Arnanda & Nuwarda, 2019). Saat radikal menyerang maka tubuh akan memproduksi antioksidan seperti SOD, GSH-Px, dan CAT (Pontang et al., 2014). Radikal bebas dapat memicu terbentuknya *stres oksidatif*. Kondisi ini terjadi jika jumlah radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan antioksidan yang ada dalam tubuh (Haerani et al., 2018). Oleh karena itu, diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk mengatasinya.

Gembili (*Dioscorea esculenta L.*) merupakan umbi dari keluarga *Dioscoreaceae* yang memiliki kandungan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan melalui serangkaian reaksi metabolisme sekunder. Gembili dapat diolah menjadi produk pangan yang bersumber dari pati (Prabowo et al., 2014). Pati merupakan polisakarida dengan fraksi linier berupa amilosa dan fraksi bercabang berupa amilopektin. Pengolahan pati menjadi produk pangan karena pati dapat berinteraksi dengan berbagai senyawa secara tidak langsung maupun langsung (Haerlina, 2010). Senyawa bioaktif pada gembili dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu melindungi sel-sel tubuh dari efek buruk radikal bebas (Mar'atirrosyidah & Estiasih, 2015).

2. METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *randomized pretest-posttest control group design* yang dilakukan dilaboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Penelitian ini menggunakan sampel tikus putih Galur wistar (*Rattus novergicus*) jantan berumur 2 - 3 bulan, serta berat badan 150 - 200 gram. Kelompok dibagi menjadi kelompok kontrol yaitu normal (C-), kolesterol 2% (C+) serta kelompok perlakuan yang diberi kolesterol 2% dan pati umbi gembili dengan dosis P1 (100 mg/kg BB), P2 (150 mg/kg BB), P3 (200 mg/kg BB).

2.1 Pembuatan pati umbi gembili

Umbi dicuci, dikupas dan direndam dengan air. Umbi dihaluskan, ditambah air perbandingan 1:2 dan disaring. Suspensi pati selama 8 jam didiamkan hingga mengendap dan ditiriskan. Selanjutnya proses pengeringan endapan pati dibawah sinar matahari dan didinginkan pada suhu kamar. Agar menjadi halus pati diayak. Pembuatan larutan pati sesuai dosis dengan penambahan aquabidest.

2.2 Uji fitokimia

2.2.1 Pengujian senyawa steroid, terpenoid, saponin, fenolik, flavonoid

4 gram pati ditambah 10 ml kloroform dan dikocok. 10 ml aquades ditambahkan dan diamkan hingga membentuk adanya 2 lapisan. Pada plat tetes tambahkan 5 tetes lapisan kloroform, diamkan hingga kering, dan tambah 5 tetes asam anhidrat serta 1 tetes asam sulfat pekat. Senyawa terpenoid jika berubah warna menjadi merah atau pink. Senyawa steroid jika berubah warna menjadi biru atau hijau. 1 ml lapisan air dikocok kuat dan diamkan, senyawa saponin jika terdapat busa selama 5 menit. 1 ml lapisan air ditambah 10 tetes FeCl₃ 2%, senyawa fenolik jika berubah warna menjadi hijau atau ungu. 1 ml lapisan air ditambah 10 tetes HCl pekat serta sedikit serbuk magnesium, senyawa flavonoid jika berubah warna menjadi merah.

2.2.2 Pengujian senyawa alkaloid

0,5 gram pati ditambah 1 ml HCl 2 N dan 9 ml aquadest dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat diambil dan tambah 2 tetes pereaksi mayer. Adanya senyawa alkaloid jika berubah warna menjadi putih atau kuning.

2.2.3 Pengujian senyawa tanin

10 gram pati ditambah 25 ml aquades dipanaskan kedalam penangas air suhu 80°C selama 3 menit, didinginkan dan disaring. 5 ml filtrat diambil dan tambah 2 - 3 tetes larutan FeCl 3%. Adanya senyawa tanin jika berubah warna menjadi biru kehitaman.

2.3 Perlakuan hewan percobaan

25 ekor tikus diaklimatisasi selama 7 hari diberi pakan dan minum. Semua kelompok tikus kecuali tikus normal diinjeksikan 1 ml kolesterol 2% secara oral selama 15 hari. Selanjutnya kelompok tikus perlakuan diinjeksikan larutan pati umbi gembili dengan dosis yang sudah ditentukan selama 15 hari. Pada hari ke 16 dan 31 sebanyak 1,5 ml darah diambil dari *plexus sinus orbitalis*, diletakkan ke eppendorf berisi EDTA dan disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

2.4 Pengukuran aktivitas antioksidan dengan DPPH

DPPH dilarutkan dengan metanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,02 mM. Homogenkan 0,4 ml plasma darah ditambah 0,4 ml metanol dan 0,4 larutan DPPH 0,2 mM. Selanjutnya selama 60 menit disimpan pada ruang gelap dan disentrifuge selama 10 menit. Larutan kontrol yang digunakan adalah campuran larutan 0,6 ml DPPH dan 0,6 ml metanol. Blanko yang digunakan adalah 1,2 ml larutan metanol. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada λ 517 nm (Yuliatmoko & Kusnandar, 2008). Aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ pengikat radikal} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

2.5 Analisis data

Data diuji terlebih dahulu dengan pengujian normalitas dan homogenitas. Selanjutnya dilakukan uji Anova One way dengan tingkat kepercayaan 95%. Jika data berbeda signifikan

dilanjutkan analisis antar kelompok dengan Uji LSD. Analisis statistik dibantu dengan program SPSS.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil uji fitokimia

Dilakukan uji fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa - senyawa kimia secara kualitatif (Simorangkir et al., 2017). Pengujian dilakukan pada beberapa senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, terpenoid, steroid. Hasil uji fitokimia pada pati umbi gembili disajikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

Kandungan Fitokimia	Hasil uji
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Tanin	+
Saponin	-
Fenolik	-
Terpenoid	-
Steroid	-

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa secara kualitatif senyawa yang terkandung dalam pati umbi gembili meliputi flavonoid, tanin dan alkaloid. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antioksidan. Umbi gembili memiliki senyawa bioaktif antara lain diosgenin, dioscorin, flavonoid, alkaloid, tanin (Prabowo et al., 2014).

3.2 Hasil aktivitas antioksidan plasma darah tikus

Tikus hiperkolestroemia diberi pati umbi gembili dengan dosis 100, 150, dan 200 mg/kg BB selama 15 hari didapatkan hasil kadar aktivitas antioksidan tikus yang disajikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 2. Rerata kadar aktivitas antioksidan tikus hiperkolestroemia

Kelompok	Perlakuan	Rerata Aktivitas Antioksidan (%)		Delta
		Pre Test	Post Test	
C-	Normal	25,01	33,26	7,25 ^{ab}
C+	Kolesterol 2%	18,83	24,68	5,85 ^a
P1	Kolesterol 2% + Pati Gembili 100 mg/kg BB	19,96	29,70	9,74 ^b
P2	Kolesterol 2% + Pati Gembili 150 mg/kg BB	18,87	32,83	13,96 ^c
P3	Kolesterol 2% + Pati Gembili 200 mg/kg BB	17,15	36,60	19,05 ^d

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Pada uji homogenitas data rerata selisih kadar aktivitas antioksidan menunjukkan data homogen dengan nilai signifikan 0,72. Pada uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal yang disajikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 3. Data rerata kadar aktivitas antioksidan berdistribusi normal

Kelompok	Nilai signifikansi
Kontrol negatif (C-)	0,302
Kontrol positif (C+)	0,626
Perlakuan 1 (P1)	0,941
Perlakuan 2 (P2)	0,471

Perlakuan 3 (P3)	0,879
------------------	-------

Didapatkan hasil uji one way anova dengan nilai signifikan 0,000 yang menunjukkan perbedaan bermakna. Hasil uji LSD kelompok C- tidak berbeda bermakna dengan kelompok C+, P1 dan berbeda makna dengan kelompok P2, P3. Berdasarkan penelitian ini, sebelum diinjeksikan larutan pati (pre test) pada kelompok C- (normal) memiliki rerata kadar tertinggi yaitu 25,01% dibandingkan dengan kelompok lainnya yang diberi kolesterol 2%. Pemberian kolesterol dapat meningkatkan jumlah LDL. LDL memiliki sifat mudah teroksidasi oleh radikal bebas (Ighodaro & Akinloye, 2017). Saat terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh makan tubuh akan mengeluarkan lemak dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Pada proses ini membutuhkan NADPH, sitokrom P-450 yang merupakan katalis dalam proses oksidasi serta oksigen yang dapat berubah menjadi radikal. Hal ini menyebabkan adanya peningkatan jumlah radikal dalam tubuh (Arauna et al., 2013)

Rerata kadar aktivitas antioksidan kelompok P1, P2 dan P3 meningkat setelah pemberian larutan pati umbi gembili. Aktivitas antioksidan berasal dari senyawa yang terdapat pada pati umbi gembili. Melalui reaksi penghambatan oksidasi radikal mampu ditahan dengan mengubah radikal yang bersifat reaktif menjadi tidak reaktif dan lebih stabil. Kerusakan sel dapat terjadi karena adanya senyawa radikal yang tidak stabil (Marianti et al., 2013).

Rerata selisih kadar pada kelompok C+ tidak berbeda bermakna dengan kelompok C- dan berbeda bermakna dengan kelompok P1, P2, dan P3. Pemberian kolesterol 2% pada kelompok C+ dilakukan selama 15 hari. Hari ke 16 hingga ke 30 hanya diberi pakan dan minum. Pada keadaan ini kelompok C+ sudah memproduksi antioksidan endogen. Saat radikal menyerang maka tubuh akan memberikan pertahanan berupa antioksidan. Antioksidan endogen meliputi enzim SOD, GSH-Px, dan CAT (Pontang et al., 2014). Antioksidan mampu mencegah proses peroksidasi lipid (Santosa & Baharuddin., 2020).

Kelompok P1 tidak berbeda bermakna dengan kelompok C- dan berbeda bermakna dengan kelompok C+, P2, dan P3. Hal ini menunjukkan larutan pati umbi gembili dengan dosis 100 mg/kg BB mampu menangkal radikal bebas dan mempertahankan aktivitas antioksidan tubuh, namun belum mampu meningkatkan aktivitas antioksidan tubuh. Radikal bebas yang ada di tubuh manusia berasal dari 2 sumber yaitu dari dalam tubuh (endogen) dan luar tubuh (eksogen). Dari dalam tubuh berasal dari proses metabolisme. Radikal bebas dapat memicu terbentuknya *stres oksidatif* (Haerani et al., 2018).

Senyawa tanin bekerja sebagai antioksidan sekunder dengan menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam besi (Fithriani., 2015). Tanin dapat menekan proses peroksidasi lipid sehingga mencegah terjadinya hiperkolestrolema (Noer et al., 2018). Senyawa alkaloid juga berguna sebagai antioksidan dengan cara menghentikan proses oksidasi. Senyawa flavonoid sebagai antioksidan primer bekerja dengan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas (Yuhernita & Juniarti., 2011). Selain itu, flavonoid dapat mengurangi kerusakan akibat peroksidai lipid dengan cara berikatan pada logam Cu dan Fe, dimana logam tersebut merupakan katalis dari proses pembetulan radikal hidroksil (*OH). Flavonoid dapat meningkatkan pembentukan antioksidan endogen, seperti SOD, GPx, serta CAT (Murray, 2009).

Metode DPPH berguna untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan cara menangkap radikal DPPH. Metode DPPH digunakan karena efektif, akurat, praktis, sederhana dan cepat. Radikal DPPH memiliki warna ungu dan bersifat stabil. Antioksidan yang terdapat pada pati umbi gembili mendonorkan atom hidrogen pada radikal DPPH sehingga radikal DPPH menjadi kurang reaktif. Mekanisme tersebut menyebabkan perubahan warna radikal DPPH menjadi kuning (Handayani et a., 2014).

4. SIMPULAN

Pemberian pati umbi gembili (*Dioscorea esculenta*) pada tikus hiperkolesterolemia secara oral selama 15 hari menunjukkan peningkatan aktivitas aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Arauna, Y., Aulanni'am, & Oktavianie, D. A. (2013). Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia yang

- Diterapi dengan Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*). *Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya, Malang*, 1–8.
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2019). Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M Dari Senyawa Glutation Dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka*, 17(2), 236-243.
- Feroniasanti, Y. M. Lauda., (2016), Survey Pola Konsumsi Makanan Cepat Saji Dan Pemeriksaan Kadar Kolesterol Siswa 3 SMU Di Yogyakarta, *Jurnal Penelitian*, 19(2), 186-191.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R., (2015), Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina Sp.*, *Chlorella Sp.*, dan *Nannochloropsis Sp.* *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 10(2), 101-109.
- Haerani, A., Chaerunisa, A., Yohana, & Subarnas, A. (2018). Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka*, 16(2), 135-151.
- Haerlina. (2010). Karakterisasi Sifat Fisik, Kimia, dan Fungsional Bahan Pati Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) Termodifikasi secara Ikatan Silang dengan Natrium Tripolifosfat. *Agrotek*, 4(1), 60-67.
- Handayani, Virsa., Ahmad, Aktsar Roskiana., & Miswati Sudir., (2014), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (*Etilingera Elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86-93.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A., (2018), First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Marianti, A., Utami, N. R., & Christijanti, W., (2013), Aktivitas antioksidan madu floral terhadap profil lipid darah tikus putih hiperlipidemik. *Saintekol: Jurnal Sains dan Teknologi*, 11(1), 1-8.
- Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., (2009), Biokimia Harper Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E., (2018), Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggau (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19-29.
- Pontang, G. S., Johan, A., & Subagio, H. W., (2014), Efek Pemberian Chlorophyllin terhadap Kadar Nitric Oxide dan Malondialdehida Tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 3(1), 26-31.
- Prabowo, Aditya Yoga., Estiasih, Teti., & Indria Purwantiningrum., (2014), Umbi Gembili (*Dioscorea Esculenta* L.) Sebagai Bahan Pangan Mengandung Senyawa Bioaktif : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(3), 129-13.
- Rahma, Sitti., Natsir, Rosdiana., Dan Peter Kabo., (2014), Pengaruh Antioksidan Madu Dorsata Dan Madu Trigona Terhadap Penghambatan Oksidasi LDL Pada Mencit Hiperkolesterolemia. *Jst Kesehatan*, 4(4), 377-384.
- Santosa, W. N., & Baharuddin, B., (2020), Penyakit Jantung Koroner dan Antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(2), 98-103.
- Setyaningrum, Anifatul Dicka Wahyu., & Sugiharto., (2015), Efektivitas Cuka Apel Dan No Ekstrak Kulit Manggis Dalam Menurunkan Kolesterol Akibat Latihan Fisik. *Journal of Sport Science and Fitness*, 4(4), 38-43.
- Simanjuntak, Kristina., (2011), Pengaruh Diet Tinggi Lipid Terhadap Timbulnya Penyakit. *Bina Widya*, 22(4), 191-199.
- Simorangkir, M., Subakti, R., Barus, T., & Simanjuntak, P., (2017), Analisis Fitokimia Metabolit Sekunder Ekstrak Daun dan Buah Solanum blumei Nees ex Blume lokal. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 9(1), 244-248.
- Umarudin., R. Susanti., & Ari Yuniastuti., (2012), Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri Terhadap Profil Hiperkolesterolemi Lipid Tikus Putih. *Unnes J Life Sci*, 1(2), 78-85.
- Wahdaningsih, Sri., Setyowati, Erna Prawita., & Subagus Wahyuono., (2011), Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila Glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 156-160.

- Yang J., Siming Dong., Qichen Jiang., Tengjiao Kuang., Wenting Huang., & Jiaxin Yang., (2013), Changes in Expression of Manganese Superoxide Dismutase, Copper and Zinc Superoxide Dismutase and Catalase In *Brachionus Calyciflorus* During The Aging Process, *Plos One Journal*, 8(2), 1-9.
- Yuhernita., & Juniarti., (2011), Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara Journal of Science*, 15(1), 48-52.
- Yuliatmoko, W., & Kusnandar, F. (2008). Efek Konsumsi Minuman Bubuk Kakao Lindak Bebas Lemak terhadap Aktivitas Antioksidan Flavonoid pada Plasma Manusia. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*, 9(2), 102-113.