

**4-ETOKSI-3-METOKSIFENOL DAN METIL-3,4-DIHIDROKSIBENZOAT,  
DUA SENYAWA TURUNAN FENOLIK DARI EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT  
UMBI GADUNG (*Dioscorea hispida* Dennst) DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
EKSTRAK ETIL ASETAT**

Nanik Siti Aminah<sup>1\*</sup>, Alfinda Novi Kristanti<sup>1</sup>, Qonitah Labibah<sup>2</sup>,  
Ana Firdausiyah<sup>3</sup>, Yoshiaki Takaya<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga

<sup>2</sup> Mahasiswa Magister Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga

<sup>3</sup> Mahasiswa S-1 Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga

<sup>4</sup> Faculty of Pharmacy,  
Meijo University

<sup>\*</sup>email: nanik-s-a@fst.unair.ac.id

Received 1 April 2018

Accepted 2 Mei 2018

### Abstract

Two phenolic compound namely 4-ethoxy-3-methoxyphenol and methyl-3,4-dihydroxybenzoic have been isolated from *Dioscorea hispida* Dennst. The isolation of phenolic compounds was done by maceration methods using methanol, followed by partition with n-hexane and ethyl acetate. The process of separation and purification used various chromatography techniques including vacuum liquid chromatography, column chromatography, and radial chromatography. The structure of isolated compounds were determined by spectroscopic methods including UV-Vis, IR, 1D and 2D NMR. The ethyl acetate extract was evaluated for DPPH free radical scavenging activity assay. The IC<sub>50</sub> of ethyl acetate extract was 415 ppm. The result of this assay indicated that ethyl acetate extract has a potential as an antioxidant.

**Keywords:** *Dioscorea hispida* Dennst, *Dioscoreaceae*, phenolic, 4-ethoxy-3-methoxyphenol, methyl-3,4-dihydroxybenzoic, and antioxidant

### Pendahuluan

Radikal bebas berupa molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Hal inilah yang menyebabkan radikal bebas bersifat tidak stabil. Agar stabil maka radikal bebas mencoba untuk menarik ataupun memberikan elektron yang dimilikinya ke molekul lain. Ketika radikal bebas menyerang suatu molekul maka molekul yang awalnya netral akan berubah menjadi radikal. Proses ini dapat menyebabkan reaksi berantai yang mengakibatkan kerusakan pada sel seperti penyakit hati dan jantung, penurunan kemampuan

kognitif, atau bahkan kanker (Kothari *et al.*, 2010).

Radikal bebas yang merusak tubuh dapat dinetralisir dengan menggunakan senyawa antioksidan. Antioksidan memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas tanpa menjadi radikal bebas itu sendiri. Ketika antioksidan menetralkan radikal bebas dengan menerima atau menyumbangkan elektron, antioksidan akan tetap stabil dan tidak akan berubah menjadi radikal bebas. Dengan kata lain, antioksidan menawarkan elektronnya untuk mencegah kerusakan sel (Middleton *et al.*, 1998). Tubuh manusia

sebenarnya menghasilkan senyawa antioksidan sebagai sistem pertahanan diri. Sayangnya tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan berlebih sehingga jika terjadi paparan radikal bebas maka tubuh akan membutuhkan asupan antioksidan dari luar (Sunarni *et al.*, 2005).

Salah satu tumbuhan di Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami yaitu umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst). Tanaman gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) dari famili Dioscoreaceae merupakan salah satu dari sekian banyak tanaman pangan yang ada di Indonesia. Umbi ini sudah tak asing lagi di kalangan masyarakat. Berdasarkan studi literatur, terdapat sebanyak 4 senyawa fenolik yang telah berhasil diisolasi diantaranya, asam klorogenat, metil protokatekuat, asam kafeat, dan *p*-hidroksibenzaldehid (Theerasin *et al.*, 2009). Senyawa-senyawa fenolik dari genus *Dioscorea* menunjukkan berbagai bioaktivitas seperti antioksidan, antiinflamasi, antitoksik, dan antikanker (Chiu *et al.*, 2013; Min *et al.*, 2011; Itharat *et al.*, 2014). Namun penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari *Dioscorea hispida* Dennst masih sangat terbatas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi struktur senyawa fenolik pada ekstrak etil asetat kulit umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst). Proses penelitian diawali dengan tahap maserasi menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst. Selanjutnya dilakukan metode ekstraksi cair-cair terhadap ekstrak metanol yang diperoleh dengan menggunakan *n*-heksana diikuti etil asetat dan dilanjutkan dengan pemisahan serta pemurnian senyawa fenolik dengan menggunakan berbagai teknik kromatografi. Setelah diperoleh senyawa murni maka selanjutnya dilakukan penentuan struktur senyawa fenolik menggunakan metode

spektroskopi yang meliputi UV-Vis, IR, 1D dan 2D NMR.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst menggunakan metode spektroskopi UV-Vis dengan pereaksi DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil) (Koleva *et al.*, 2002). Metode ini memberikan informasi mengenai reaktivitas peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel yang diuji. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap. Peredaman radikal bebas DPPH menyebabkan terbentuknya perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning terang (Sasikumar *et al.*, 2009).

## Metode Penelitian

### Alat dan bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) yang berasal dari Desa Besuki, Kecamatan Besuki, Kabupaten Tulungagung, Provinsi Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan adalah MeOH, EtOAc, *n*-heksana, CHCl<sub>3</sub>, aseton, silika gel 60 GF<sub>254</sub> ukuran 0.25 mm (Merck), silika gel G-60 ukuran 60-200 µm, silika gel 60 ukuran 0.200-0.500 mm (Merck 7733), silika gel 60 PF<sub>254</sub> (Merck 7749), pereaksi DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), natrium asetat, asam asetat glasial, asam askorbat dan aquades.

Peralatan yang digunakan meliputi bejana maserasi, corong pisah, *chamber*, lampu UV, kolom kromatografi, pH-meter, *rotary vacuum evaporator*, kromatotron, dan seperangkat alat destilasi. Untuk keperluan analisis dan identifikasi senyawa digunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, spektrofotometer FT-IR Shimadzu Tracer-100, dan spektrofotometer NMR BRUKER 600 MHz.

### Prosedur

#### Isolasi senyawa fenolik

Isolasi senyawa fenolik dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst (2,5 kg)

dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair dengan cara maserasi pada suhu kamar. Ekstraksi ini dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan pelarut MeOH. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarutnya dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental MeOH sebesar 243 g (9,72%). Ekstrak kental MeOH yang telah diperoleh diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana untuk menghilangkan kandungan lemak dan senyawa-senyawa non polar lainnya yang dapat mengganggu proses pemisahan senyawa fenolik. Hasil dari partisi yaitu terbentuknya dua lapisan, yakni lapisan atas berupa fraksi *n*-heksana dan lapisan bawah berupa fraksi MeOH. Ekstrak *n*-heksana yang didapat diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana yang berwarna cokelat sebanyak 16 g (0,64%). Ekstrak metanol yang didapatkan ditambah dengan EtOAc dan air. Partisi ini menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan atas berupa ekstrak EtOAc dan lapisan bawah berupa ekstrak MeOH. Ekstrak EtOAc yang didapat diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental EtOAc yang berwarna cokelat kehitaman sebanyak 17 g (0,68%).

Pemisahan senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak EtOAc (17 g) diawali dengan kromatografi cair vakum menggunakan eluen *n*-heksana : EtOAc yang kepolarannya ditingkatkan secara gradien menghasilkan enam fraksi utama yaitu A-F.

Pemisahan fraksi D (560 mg) dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen *n*-heksana:EtOAc = (9:1), (8:2), (7:3), (3:2), (1:1) menghasilkan subfraksi D<sub>1</sub>-D<sub>5</sub>.

Pemurnian pada sub-fraksi D<sub>5</sub> (274 mg) dilakukan dengan kromatografi radial menggunakan eluen *n*-heksana:EtOAc = (1:1), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9) menghasilkan tiga sub-fraksi yaitu D<sub>5.1</sub>-D<sub>5.5</sub>. Sub-fraksi D<sub>5.3</sub> menghasilkan spot

dengan noda tunggal sehingga didapatkan senyawa fenolik (1) sebanyak 2 mg yang berwujud padatan berwarna kuning. Uji kemurnian senyawa fenolik (1) dilakukan dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan yaitu CHCl<sub>3</sub> : aseton (9:1) (Rf=0,47), CHCl<sub>3</sub>:EtOAc (1:1) (Rf=0,5), serta *n*-heksana:aseton (8:2) (Rf=0,4).

Sub-fraksi D<sub>5.5</sub> (56,4 mg) dimurnikan dengan kromatografi radial menggunakan eluen CHCl<sub>3</sub>:EtOAc menghasilkan enam sub-fraksi yaitu D<sub>5.51</sub>-D<sub>5.56</sub>. Sub-fraksi D<sub>5.55</sub> dan D<sub>5.56</sub> digabung karena menghasilkan spot sama. Sub-fraksi ini menghasilkan spot dengan noda tunggal sehingga didapatkan senyawa fenolik (2) sebanyak 34,1 mg yang berwujud padatan berwarna kuning cerah. Uji kemurnian senyawa fenolik (2) dilakukan dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan yaitu CHCl<sub>3</sub> 100% (Rf=0,57), CHCl<sub>3</sub> : EtOAc (9:1) (Rf=0,85), serta *n*-heksana : EtOAc (8:2) (Rf=0,23).

#### Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst dilakukan menggunakan metode spektroskopi UV-Vis dengan pereaksi DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil).

Pada uji ini digunakan asam askorbat sebagai kontrol positif dan ekstrak etil asetat kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst sebagai sampel. Sebanyak 500 µL larutan uji variasi konsentrasi (10, 25, 50, 125, 250, dan 500 ppm) ditambahkan dengan 500 µL larutan buffer asetat 0,2 M (pH 5,5), 1000 µL metanol, dan 500 µL larutan DPPH 5 x 10<sup>-4</sup> M. Larutan uji diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur absorbansinya pada λ<sub>maks</sub> 517 nm. Data absorbansi yang diperoleh dianalisis untuk menentukan daya hambat sesuai persamaan 1 dengan A<sub>0</sub> merupakan absorbansi blanko dan A<sub>1</sub> merupakan absorbansi sampel ataupun kontrol positif.

Pengukuran absorbansi dilakukan secara duplo dan hasilnya dirata-ratakan.

$$DPPH (\%) = \frac{(A_0 - A_1) \times 100}{A_0} \quad (1)$$

Analisis data mengenai daya hambat *inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>) ditentukan berdasarkan analisis regresi linier % peredaman DPPH terhadap konsentrasi senyawa. Nilai IC<sub>50</sub> menyatakan besarnya konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk mengurangi sebesar 50% radikal DPPH [10,11].

### Hasil dan Pembahasan

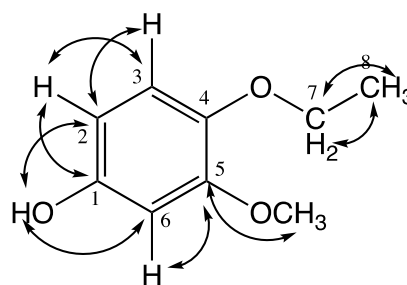
Senyawa fenolik (**1**) berwujud padatan berwarna kuning. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  (log  $\epsilon$ ): 260 (4,05). IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  3385, 2924, 2850, 1516, 1271 cm<sup>-1</sup>. Spektrum <sup>13</sup>C-NMR yang dilengkapi dengan DEPT 90 dan DEPT 135 memperlihatkan adanya 9 sinyal karbon yang terdiri dari dua sinyal karbon metil ( $\delta_{\text{C}}$  29,6 dan 55,9 ppm), tiga sinyal karbon metin ( $\delta_{\text{C}}$  118,5; 108,5 dan 114,2 ppm), satu sinyal karbon metilen ( $\delta_{\text{C}}$  56,3), serta tiga sinyal karbon kuarterner ( $\delta_{\text{C}}$  145,2; 146,7 dan 135,0 ppm).

Spektrum <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) memperlihatkan adanya tiga sinyal proton aromatik, yaitu sinyal *double doublet* pada  $\delta_{\text{H}}$  6,84 ppm dengan kopling *orto* ( $J = 7,8$  Hz) dan *meta* ( $J = 1,8$  Hz) terhadap proton aromatik lainnya. Kedua proton aromatik lainnya merupakan sinyal *doublet* pada  $\delta_{\text{H}}$  6,92 dan 6,91 ppm. Sinyal tersebut menandakan adanya tiga proton aromatik dan terikat pada cincin benzena. Sinyal proton lainnya memperlihatkan adanya sinyal *quartet* ( $\delta_{\text{H}}$  4,14 ppm) serta sinyal *triplet* ( $\delta_{\text{H}}$  1,28 ppm) yang menandakan adanya substituen etil. Selain itu, spektrum <sup>1</sup>H-NMR juga memperlihatkan sinyal *singlet* gugus metoksi ( $\delta_{\text{H}}$  3,93 ppm) dan sinyal *singlet* gugus hidroksi ( $\delta_{\text{H}}$  5,59 ppm).

Spektrum HSQC merupakan korelasi antara sinyal proton dari <sup>1</sup>H-NMR dengan sinyal karbon dari <sup>13</sup>C-NMR dalam satu ikatan. Analisis spektrum

HSQC memperlihatkan enam korelasi sinyal proton dengan sinyal karbon dalam satu ikatan, diantaranya : proton pada  $\delta_{\text{H}}$  6,84 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  118,5 ppm, proton pada  $\delta_{\text{H}}$  6,92 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  108,5 ppm, proton pada  $\delta_{\text{H}}$  6,91 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  114,2 ppm, proton pada  $\delta_{\text{H}}$  1,28 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  29,6 ppm, proton pada  $\delta_{\text{H}}$  4,14 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  56,3 ppm, dan proton pada  $\delta_{\text{H}}$  3,93 ppm berkorelasi dengan karbon  $\delta_{\text{C}}$  55,9 ppm.

Spektrum HMBC merupakan korelasi antara sinyal proton dari <sup>1</sup>H-NMR dengan sinyal karbon dari <sup>13</sup>C-NMR dalam dua atau tiga ikatan. Dalam hal ini hasil analisisnya dapat digunakan untuk menempatkan posisi substituen. Korelasi HMBC digambarkan seperti pada **Gambar 1**. Berdasarkan data spektrum <sup>13</sup>C-NMR, <sup>1</sup>H-NMR, HSQC, dan HMBC maka struktur senyawa fenolik (**1**) diprediksi sebagai senyawa fenol yang dikenal dengan nama 4-etoksi-3-metoksifenol. Analisis 1D dan 2D NMR untuk senyawa 4-etoksi-3-metoksifenol terdapat pada **Tabel 1**.



**Gambar 1.** Struktur senyawa 4-etoksi-5-metoksifenol hasil isolasi

Senyawa fenolik (**2**) berwujud padatan berwarna kuning cerah. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{maks}}$  (log  $\epsilon$ ) : 256 (4,05) dan 292,2 (4,05). Spektrum <sup>13</sup>C-NMR yang dilengkapi dengan DEPT 90 dan DEPT 135 memperlihatkan adanya 8 sinyal karbon yang terdiri dari satu sinyal karbon metil ( $\delta_{\text{C}}$  47,8 ppm), tiga sinyal karbon metin ( $\delta_{\text{C}}$  114,4; 116,4 dan 122,3 ppm), serta empat

sinyal karbon kuarterner ( $\delta_C$  122,9; 144,4; 149,7; dan 169,6 ppm).

Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, MeOH) memperlihatkan adanya tiga sinyal proton di daerah aromatik, yaitu sinyal *doublet* pada  $\delta_H$  7,45 ppm dengan kopling *orto* ( $J = 8,22$  Hz) dan *meta* ( $J = 2,04$  Hz) terhadap proton aromatik lainnya. Kedua

proton aromatik lainnya merupakan sinyal *doublet* pada  $\delta_H$  6,80 dan 7,43 ppm. Sinyal tersebut menandakan adanya tiga proton aromatik dan terikat pada cincin benzena. Sinyal proton lainnya memperlihatkan adanya sinyal *singlet* gugus metoksi ( $\delta_H$  3,33 ppm).

**Tabel 1** Data NMR senyawa 4-etoksi-3-metoksifenol hasil isolasi dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

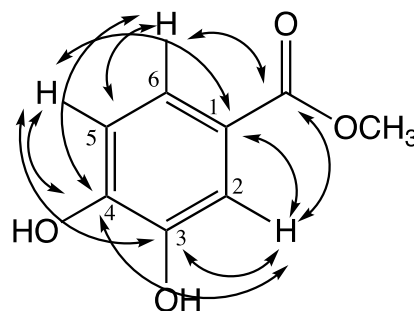
C	$\delta_H$ (ppm) (mult, $J$ dalam Hz), I	$\delta_C$ (ppm)	HMBC
1	-	145,2	-
2	6,84 ( <i>dd</i> , $J = 1,8$ dan $7,8$ Hz), 2H	118,5	C-1, C-3
3	6,92 ( <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz), 2H	108,5	C-2
4	-	135,0	-
5	-	146,7	-
6	6,91 ( <i>s</i> ), 1H	114,2	C-4, C-5
7	4,14 ( <i>q</i> ), 2H	56,3	C-8
8	1,28 ( <i>t</i> ), 3H	29,6	C-7
5-OCH <sub>3</sub>	3,93 ( <i>s</i> ), 3H	55,9	C-5
1-OH	8,57 ( <i>s</i> ), 1H	-	C-2, C-6

Spektrum HMBC merupakan korelasi antara sinyal proton dari  $^1\text{H-NMR}$  dengan sinyal karbon dari  $^{13}\text{C-NMR}$  dalam dua atau tiga ikatan. Dalam hal ini hasil analisisnya dapat digunakan untuk menempatkan posisi substituen. Korelasi sinyal proton pada  $\delta_H$  7,45 ppm (H-2) dengan empat sinyal karbon kuarterner yaitu  $\delta_C$  122,9; 144,4; 149,7; dan 169,6 ppm. Korelasi sinyal proton  $\delta_H$  6,80 ppm (H-5) dengan tiga sinyal karbon kuarterner yaitu  $\delta_C$  122,9; 144,4 dan 149,7 ppm. Korelasi sinyal proton  $\delta_H$  7,43 ppm (H-6) dengan dua sinyal karbon kuarterner yaitu  $\delta_C$  144,4 dan 169,6 ppm serta satu sinyal karbon metin pada  $\delta_C$  116,4 ppm. Korelasi HMBC digambarkan seperti pada **Gambar 2**.

Berdasarkan data spektrum  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-NMR}$  dan HMBC maka struktur senyawa fenolik (**1**) diprediksi sebagai senyawa fenol yang dikenal dengan nama 3,4-dihidroksibenzoat Analisis 1D dan 2D NMR untuk senyawa 3,4-dihidroksibenzoat terdapat pada Tabel 2.

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst dilakukan dengan metode pengukuran peredaman radikal bebas

DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini dipilih karena sederhana, cepat, mudah dan hanya memerlukan sedikit sampel (Koleva et al., 2002). Uji aktivitas tidak dilakukan terhadap isolat murni karena jumlah yang diperoleh sangat terbatas.



**Gambar 2.** Struktur senyawa metil-3-4-dihidroksibenzoat hasil isolasi

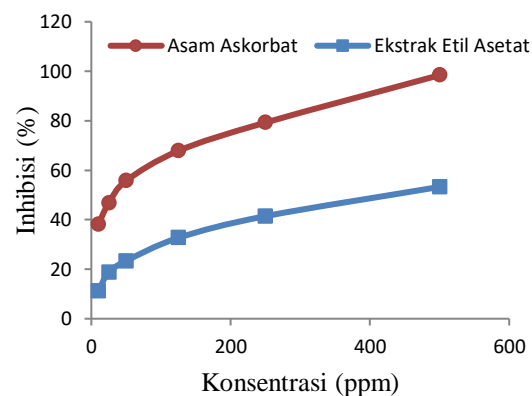
Hasil optimasi panjang gelombang yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa serapan maksimum DPPH berada pada panjang gelombang 520,5 nm dengan absorbansi sebesar 1,010. Nilai absorbansi ini ditetapkan sebagai absorbansi blanko.

**Tabel 2** Data NMR senyawa metil 3,4-dihidroksibenzoat hasil isolasi dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst (600 MHz, MeOH)

C	$\delta_H$ (ppm) (mult, I, J dalam Hz)	$\delta_C$ (ppm)	HMBC
1	-	122,9	-
2	7,45 ( <i>d</i> , 1H, <i>J</i> = 2,04 Hz)	116,4	C-1, C-3, C-4, C=O
3	-	144,4	-
4	-	149,7	-
5	6,80 ( <i>d</i> , 1H, <i>J</i> = 8,22 Hz)	114,3	C-1, C-3, C-4
6	7,43 ( <i>dd</i> , 1H, <i>J</i> = 8,22 dan 2,04 Hz)	122,3	C-2, C-4, C=O
C=O	-	169,6	-
-OCH <sub>3</sub>	3,33 ( <i>s</i> , 3H)	47,8	C=O

Uji ini menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif. Asam askorbat memiliki gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan gugus polihidroksi yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Kim *et al.*, 2005). Pembuatan kontrol positif dilakukan sama seperti halnya larutan sampel. Larutan sampel dibuat dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak etil asetat dalam 10 mL metanol. Kemudian larutan induk 1000 ppm ini diencerkan menjadi 500, 250, 125, 50, 25, dan 10 ppm. Masing-masing dimasukkan kedalam vial sebanyak 500  $\mu$ L kemudian ditambahkan 500  $\mu$ L larutan *buffer* asetat 0,2 M (pH 5,5), 1000  $\mu$ L metanol, dan 500  $\mu$ L larutan DPPH  $5 \times 10^{-4}$  M. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit untuk selanjutnya diukur absorbansinya. Selanjutnya dihitung nilai IC<sub>50</sub>. Dari perhitungan diperoleh bahwa asam askorbat memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 33 ppm sedangkan ekstrak etil asetat memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 415 ppm. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh asam askorbat tergolong dalam kategori sangat aktif sebagai antioksidan. Sedangkan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak etil asetat dari kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst kurang aktif, namun ia masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Hal ini sesuai dengan Molyneux (2004) yang

menyatakan bahwa suatu ekstrak masih berpotensi sebagai antioksidan apabila nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh  $\leq$  1000 ppm (Molyneux, 2004). Grafik perbandingan aktivitas antioksidan dari asam askorbat dan ekstrak etil asetat dapat dilihat pada **Gambar 3**.

**Gambar 3.** Grafik aktivitas antioksidan dari asam askorbat dan ekstrak etil asetat *Dioscorea hispida* Dennst

### Kesimpulan

Dua buah senyawa turunan fenolik berupa 4-etoksi-3-metoksifenol dan metil-3,4-dihidroksibenzoat berhasil diisolasi dari kulit umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst).

Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dari ekstrak etil asetat kulit umbi *Dioscorea hispida* Dennst memperlihatkan IC<sub>50</sub> sebesar 415 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut berpotensi sebagai antioksidan.

**Daftar Pustaka**

- Chiu, C. S., Deng, J. S., Chang, H. Y., Chen, Y. C., Lee, M. M., Hou, W. C., et al. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory properties of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb. var. *pseudojaponica* (Hayata) Yamam.) and its reference compounds. *Food Chemistry*, *141*, 1087-1096.
- Itharat, A., Thongdeeying, P., & Ruangnoo, S. (2014). Isolation and characterization of a new cytotoxic dihydrophenanthrene from *Dioscorea membranacea* rhizomes and its activity against five human cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, *156*, 130-134.
- Kim, J. S. (2005). Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamers fraction in rice bran. *Journal of Food Science*, *70*, 208-213.
- Koleva, I. I., Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. d., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extract for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, *13*, 8-17.
- Kothari, S., Thompson, A., Agarwal, A., & Plessis, S. S. (2010). Free radicals: their beneficial and detrimental effect on sperm function. *Indian Journal of Experimental Biology*, *48*, 425-435.
- Middleton, E., C. Kandaswami, & T.C. Theoharides. (1998). The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, *52*, 673-751.
- Min, M. A., Jiang, Z. Z., Ruan, J. L., & Zhang, L. Y. (2011). Toxicity of a diterpene lactone isolated from *Dioscorea bulbifera* on hepatocytes. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *9(4)*, 280-285.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, *26(2)*, 211-219.
- Noorhajati, H. (2014). Aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang trengguli (*Cassia fistula*) dengan uji DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IX*, *5(1)*, 467-471.
- Sasikumar, J. M., Maheshu, V., Jayadev, R. (2009). In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Berberis tinctoria* Lesh. root and root bark. *Journal of Herbal Medicine Toxicology*, *32(3)*, 53-58.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, *113*, 1202-1205.
- Sunarni, T. (2005). Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*, *2(2)*, 53-61.
- Theerasin, S., & Baker, A. (2009). Analysis and identification of phenolic compounds in *Dioscorea hispida* Dennst. *Asian Journal of Food And Agro-Industry*, *2(4)*, 547-560.