

Analisis Kadar Glukomanan Dan Asam Oksalat Beserta Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus oncophyllus*)

Dwi Sri Utaminingsih¹, Muhtadi²*

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: muhtadi@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:

Iles-Iles

(*Amorphophallus oncophyllus*);

Antibakteri; Asam

Oksalat; DPPH; Kadar

Glukomannan.

Iles-iles atau (*Amorphophallus oncophyllus*) merupakan jenis talas-talas dari genus *Amorphophallus* famili *Araceae*, dianggap sebagai tanaman liar yang banyak tumbuh di Indonesia. *Iles-iles* telah dilaporkan memiliki kandungan glukomanan yang cukup tinggi, memiliki kandungan asam oksalat, beserta memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid dan alkaloid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar glukomanan, kadar asam oksalat, dan menguji potensi aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol umbi *iles-iles*. Penetapan kadar glukomanan dilakukan dengan metode DNS, kadar asam oksalat dianalisis dengan metode titrasi permanganometri, uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, sedangkan uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar glukomanan sebesar $7237,50 \pm 1264,47$, kadar asam oksalat yang diperoleh sebesar $18,21 \pm 0,37$, hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai (IC_{50}) sebesar $53,41 \pm 5,14$. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya rerata diameter hambatan pada konsentrasi 1,5 mg/sumuran, 2,5 mg/sumuran, dan 3,5 mg/sumuran secara berturut-turut sebesar $10,33 \pm 0,57$ mm, $9 \pm 1,732$ mm, dan $10,66 \pm 1,15$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli*, tetapi tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Iles-iles* memiliki kadar glukomanan, asam oksalat, beserta memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Senyawa yang berpotensi sebagai agen antioksidan dan antibakteri adalah flavonoid dan alkaloid.

1. PENDAHULUAN

Iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) adalah golongan *Araceae* asli Indonesia yang banyak tumbuh di pulau Jawa (1). Sebagian besar masyarakat Indonesia menganggap tanaman *iles-iles* mudah dibudidayakan tanpa penanganan khusus dan dianggap sebagai tanaman liar,

karena *iles-iles* dapat hidup berdampingan dengan tanaman lain seperti dibawah rumpun bambu, jati, sepanjang tepi sungai, dan di lereng-lereng gunung, sehingga untuk budidaya umbi *iles-iles* tidak membutuhkan lahan yang luas dan khusus (2). Namun di Indonesia *iles-iles* belum banyak dimanfaatkan dan dibudidayakan.

Iles-iles sangat potensial untuk dimanfaatkan dan dibudidayakan karena di dalam umbi iles-iles terdapat kandungan glukomanan. Penelitian sebelumnya telah melaporkan kandungan glukomanan di dalam umbi iles-iles sebesar 14%-35%. Glukomanan merupakan biomaterial serbaguna yang berbentuk gel, merupakan polisakarida yang mengandung glukosa dan manosa (3). Glukomanan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sebagai bahan pengental dalam industri pangan, sebagai bahan baku dalam industri kertas, sebagai pengikat dalam pembuatan tablet (4). Glukomanan bersifat agak alkali sehingga dapat dimanfaatkan pada industri kosmetik, untuk membersihkan noda dan debu berminyak. Kandungan nutrisi lain yang terdapat dalam umbi iles-iles yaitu protein, lemak, vitamin, dan mineral (5). Pemanfaatan umbi iles-iles terkendala oleh kandungan asam oksalat, dimana asam oksalat ketika dikonsumsi akan menyebabkan rasa gatal dan iritasi, selain itu juga dapat menyebabkan batu ginjal karena asam oksalat akan menyebabkan kristalisasi dalam ginjal, sehingga asam oksalat perlu dihilangkan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi (6). Berdasarkan penelitian (7), kandungan asam oksalat yang terdapat pada umbi iles-iles sekitar 18,89% yang ditetapkan kadarnya dengan metode titrasi permanganometri.

Metabolit sekunder golongan flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa yang terdapat pada umbi iles-iles yang dapat berperan sebagai agen antioksidan dan memiliki aktivitas antibakteri (8). Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap dan menstabilkan radikal bebas (9). Iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) merupakan tanaman yang 1 famili dengan suweg (*Amorphophallus paeoniifolius*) yaitu *Araceae*. Penelitian sebelumnya telah melaporkan aktivitas antioksidan yang terdapat pada kelompok umbi *Amorphophallus paeoniifolius* ditunjukkan dengan % aktivitas antioksidan DPPH sebanyak 68,8% dengan persentase inhibisi sebesar 74% (10). Antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu, dimana

bakteri tersebut dapat menyebabkan timbulnya penyakit tertentu misalnya *Escherichia coli* yang merupakan penyebab diare dan *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab penyakit kulit (11). Berdasarkan penelitian (12) aktivitas antibakteri yang terdapat pada kelompok umbi *Amorphophallus paeoniifolius* ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 7-9 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Tujuan dilakukan penelitian ini guna untuk mengetahui kadar glukomanan dan kadar asam oksalat dari ekstrak etanol umbi iles-iles serta untuk mengetahui seberapa besar potensi aktivitas antioksidan dan antibakteri, sehingga diharapkan dapat memberikan manfaat dan peluang dalam dunia ekonomi, industri dan kesehatan maupun penelitian lebih lanjut.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-VIS (UV Mini Shimadzu), kuvet (Hellma), *water bath* (Six-Well Thermostatic), *Laminar Air Flow* (CV. Srikandi Laboratory), autoklaf (Hirayama HVE-50), *incubator shaker* (New Brunswick Scientific), alat-alat kaca (Pyrex), *pipette volume* (Iwaki), *micropipette* (Socorex).

Bahan yang digunakan yaitu umbi iles-iles, etanol p.a, etanol 96%, 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) (Merck), Dimetil Sulfoksida (DMSO) (Merck), NaCl 0,9% (Merck), standar oksalat (Merck), kalium bromat (Merck), DPPH (Sigma-Aldrich), etanol p.a (Merck), NH₄Cl (Merck), H₂SO₄ pekat (Merck), HCl (Merck), Fe (II) (Merck), KI (Merck), FeCl₃ (Merck), media *nutrients agar (NA)* (Merck), media *Brain Heart Infusion (BHI)* (Merck), *ampicillin* (Merck). Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2.2 Pengambilan Sampel Umbi Iles-iles

Umbi iles-iles diperoleh dari daerah Purwodadi Grobogan Jawa Tengah berumur \pm 2 tahun, umbi diperoleh pada bulan September tahun 2021.

2.3 Determinasi Tanaman

Determinasi umbi iles-iles dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

2.4 Pembuatan Tepung Iles-iles

Umbi iles-iles yang masih segar dikupas, dicuci dengan air yang mengalir lalu dipotong tipis-tipis, dan ditiriskan, dikeringkan dengan sinar matahari selama 3 hari. Jika sudah dalam keadaan kering selanjutnya diblender, diayak dengan ayakan hingga diperoleh tepung iles-iles.

2.5 Penetapan Kadar Glukomanan dengan Metode DNS

2.5.1 Ekstraksi Glukomanan Iles-Iles

Tepung iles-iles ditimbang sebanyak 50 gram, dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dilarutkan dengan etanol 50% sebanyak 750 mL. Ditambahkan natrium bisulfit, sebanyak 25 mL dengan tujuan untuk menurunkan oksalat dengan cara memecah ikatan disulfida protein sebagai impurities (13). Dilakukan pengadukan secara konstan dengan menggunakan magnetic stirrer selama 4 jam. Disaring endapan dan dikeringkan dengan menggunakan oven selama 2 hari hingga diperoleh bobot konstan.

2.5.2 Pembuatan 3,5-dinitro salicylic acid (DNS)

3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) terdiri dari dua campuran larutan yaitu larutan A dan B. Larutan A dibuat dengan cara mencampurkan 0,7 gram fenol, 1,5 mL natrium hidroksida 10%, 5 mL aquadest, dan 0,7 gram natrium bisulfit. Larutan B dibuat dengan cara mencampurkan 22,5 gram kalium natrium tartrat, 30 mL natrium hidroksida (10%) dan 88 mL larutan 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) (1%). Larutan A dan larutan B kemudian dicampur hingga homogen selanjutnya disimpan dalam botol reagen coklat pada suhu kamar.

2.5.3 Pembuatan Dapar Asam Formiat-Natrium Hidroksida

Dibuat dengan 1 mL asam formiat dicampur dengan dengan 60 mL aquades ke dalam labu takar 250 mL, ditambahkan 50 mL larutan NaOH 0,5%, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

2.5.4 Pembuatan Larutan Stok Glukosa Standar

Dibuat konsentrasi 1000 ppm dengan cara 100 mg glukosa monohidrat dilarutkan dalam 100 mL aquadest.

2.5.5 Penentuan Waktu Optimalisasi Reaksi Glukosa dengan DNS

Dari larutan stok diambil 600 μ l, dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah larutan DNS sebanyak 1,5 mL dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan dalam air mendidih dengan variasi waktu 5, 10, 15, 20 menit, didinginkan dan ditambah aquades hingga volume total. Ditentukan absorbansi tertinggi dari waktu inkubasi 5, 10, 15, 20 menit, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 478 nm.

2.5.6 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dari larutan stok diambil 600 μ l, ditambah 1,5 mL 3,5-dinitrosalicylic acid, dimasukkan dalam labu takar 25 mL dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit, didinginkan, ditambah dengan aquades hingga volume total. Absorbansi dibaca pada range 300-700 nm.

2.5.7 Pembuatan Kurva Baku Glukosa

Dibuat variasi konsentrasi 0,0012 % b/v, 0,0016 % b/v, 0,0020 % b/v, 0,0024 % b/v, 0,0028 % b/v, dengan cara larutan stok glukosa standar diambil 300 μ l; 400 μ l; 500 μ l; 600 μ l; 700 μ l, ditambah 1,5 mL 3,5-dinitrosalicylic acid, dimasukkan dalam labu takar 25 mL dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit, didinginkan, ditambah dengan aquades hingga volume total. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 484 nm.

2.5.8 Pembuatan Ekstrak Glukomanan (To)

Tepung glukomanan sebanyak 0,2 gram dilarutkan dengan 50 mL buffer asam formiat-NaOH (ph 5), diaduk selama 4 jam

dengan magnetic stirrer. Diencerkan dengan buffer asam formiat NaOH hingga 100 mL. Larutan disaring, hasil filtrate diambil 4 mL, ditambah 1,5 mL 3,5-dinitrosalicylic acid, dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit, didinginkan, ditambah dengan aquades hingga volume 25 mL. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 484 nm.

2.5.9 Pembuatan Glukomanan Hidrolisat (T)

Larutan ekstrak glukomanan (T₀) diambil 10 mL, ditambah 5 mL H₂SO₄ 3M, campuran dihidrolisis dengan cara dipanaskan selama 90 menit pada air mendidih, didinginkan dan ditambah 5 mL NaOH 6 M. Campuran dihomogenkan dan ditambah aquades hingga volume 25 mL. Campuran diambil sebanyak 4 mL, dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah 1,5 mL 3,5-dinitrosalicylic acid, dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit, didinginkan, ditambah dengan aquades hingga volume total. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 484 nm.

2.5.10 Analisis Hasil

Nilai absorbansi yang dihasilkan digunakan untuk menghitung kadar glukomanan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar glukomannan (\%)} = \frac{0,9 \times 5000 (5T - T_0)}{m}$$

Keterangan :

ϵ : Factor koreksi $\epsilon = 0.9$

T : Ekstrak glukomanan hidrolisat.

T_0 : Ekstrak glukomanan.

m : Jumlah tepung yang diekstraksi /dimurnikan (mg) (14).

2.6 Penetapan Kadar Oksalat

2.6.1 Ekstraksi Sampel

Tepung iles-iles sebanyak 2,00 gram dilarutkan dalam 10 mL HCl 6 M dan 190 mL aquades, dipanaskan dengan hot plate selama 1 jam dengan suhu 100°C, ditambah dengan aquades hingga volume total 250 mL, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh diambil 125 mL untuk diencerkan dengan aquades hingga volume total 250 mL.

2.6.2 Pengukuran Kadar Oksalat pada Sampel dengan Metode Permanganometri

Filtrat yang didapatkan dipipet sebanyak 50 mL, ditambahkan H₂SO₄ 2 N. Campuran tersebut dipanaskan sampai suhu 70°C, lalu dititrasi dengan KMnO₄. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya warna larutan merah muda. Titrasi direplikasi sebanyak tiga kali.

2.6.3 Analisis Hasil

Kadar asam oksalat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar \% oksalat} = \frac{\text{mL titran} \times N \text{ titran} \times BE \text{ Oksalat}}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

(Wardani and Handrianto, 2019). (2)

Keterangan :

$$BE \text{ Oksalat} = \frac{BM \text{ Kalsium Oksalat}}{Ekivalen \text{ Kalsium Oksalat}} = \frac{128,097}{2} = 64,05$$

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

2.7.1 Ekstraksi Sampel

Dilakukan dengan metode sokletasi, Tepung iles-iles ditimbang sebanyak 25 gram, dibungkus dan dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Ditambahkan 156 mL etanol 96%, ekstraksi dilakukan pada suhu 60°C selama 2 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan water bath hingga diperoleh ekstrak kental. (1)

2.7.2 Pembuatan Larutan Blanko

Larutan Blanko dibuat dengan etanol p.a dan larutan DPPH

2.7.3 Pembuatan Kontrol DPPH

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 100 ppm ditambahkan 1 mL etanol p.a, lalu diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit, Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 516 nm.

2.7.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan cara dibuat larutan induk dengan konsentrasi 500 ppm, dari larutan induk dibuat variasi konsentrasi 12,5 µg/mL, 25 µg/mL, dan 50 µg/mL. Diambil sebanyak 1 mL untuk setiap konsentrasi,

lalu ditambahkan etanol sebanyak 2 mL dan 1 mL larutan DPPH. Larutan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 516 nm. Besarnya aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀.

Perhitungan % Antioksidan :

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi Kontrol}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

(15).

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

2.8.1 Ekstraksi Sampel

Dilakukan dengan metode sokletasi, ditimbang tepung iles-iles sebanyak 25 gram, lalu dibungkus dan dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Ditambahkan 156 mL etanol 96%, proses ekstraksi dilakukan pada suhu 60°C selama 2 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan water bath hingga diperoleh ekstrak kental.

2.8.2 Penyiapan Sampel Uji

Ditimbang ekstrak umbi iles-iles sebanyak 250 mg, 300 mg dan 350 mg dan dibuat konsentrasi 1,5 mg/sumuran, 2,5 mg/sumuran, 3,5 mg/sumuran. Ekstrak iles-iles dilarutkan dengan DMSO.

2.8.3 Penyiapan Bakteri

Diambil bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari inkubator, diambil bakteri dengan ose dan digoreskan pada media nutrient agar, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Diambil bakteri 1 koloni dan disuspensikan ke dalam 5 mL media BHI cair lalu dimasukkan ke dalam shaker incubator selama 2 jam. Diambil suspensi bakteri sebanyak 500 µL, dimasukkan dalam tabung reaksi steril dan ditambahkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 10 mL (0,9 gram NaCl dalam 100 mL), dibuat setara dengan standar Mc Farland yaitu 0,5x10⁸ CFU/ mL.

2.8.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri yang sudah setara dengan Mc Farland yaitu 0,5x10⁸ CFU/ mL diambil dengan mikropipet sebanyak 100 µL, diteteskan pada permukaan media MH,

lalu diratakan dengan menggunakan spreader glass. Pada media MH dibuat sumuran dengan diameter 6 mm yang sudah diberikan bakteri, Pada setiap cawan petri dibuat 3 sumuran, ekstrak umbi iles-iles dimasukkan pada setiap sumuran dengan konsentrasi 1,5 mg/sumuran, 2,5 mg/sumuran, 3,5 mg/sumuran masing-masing sebanyak 50 µL. Kontrol positif yang digunakan adalah ampisilin, sedangkan untuk kontrol negative yang digunakan DMSO (12).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan tanaman yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah tanaman yang dimaksud, dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan dapat dihindari. Tanaman iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil determinasi tanaman *Amorphophallus oncophyllus* sebagai berikut : 1b - 26 - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13a, Familia *Araceae*, 1b - 26 - 3b - 5a - 6b - 12. Genus *Amorphophallus*. 1a- 2a-3b - Sa - 6a - 7a. Berdasarkan hasil determinasi di atas dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Amorphophallus oncophyllus*. Hasil determinasi lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran.

3.2. Ekstraksi Sampel

Hasil rendemen tepung iles-iles yang diperoleh sebesar 63,60. Rendemen merupakan persentase perbandingan antara berat tepung iles-iles dengan berat bersih umbi iles-iles, dimana semakin besar jumlah rendemen maka semakin efisien pula proses pengeringan yang dilakukan (16). Hasil rendemen tepung umbi iles-iles dapat dilihat pada tabel 1:

Tabel 1. Hasil Rendemen Tepung Iles-Iles

Berat Tepung Iles-Iles (gram)	Berat Umbi Iles-Iles (gram)	Randemen (%)
1,59	2,50	63,60

Ekstraksi glukomanan bertujuan untuk memisahkan glukomanan dari

komponen-komponen lain seperti lemak, mineral, protein yang terdapat pada tepung iles-iles. Ekstraksi glukomanan menggunakan NaHSO₃ dan etanol 50% dengan perbandingan 1:15. NaHSO₃ digunakan dengan tujuan untuk menurunkan kadar asam oksalat sebagai impurities. Perbandingan solven 1:15, dimana semakin optimum pelarut yang digunakan maka dapat meningkatkan penetrasi pelarut kedalam tepung iles-iles sehingga glukomanan yang terambil semakin banyak. Proses pengadukan selama 4 jam bertujuan untuk mempermudah lepasnya komponen di permukaan partikel dan akan larut dalam etanol (17).

Ekstraksi sampel pada uji aktivitas antioksidan dan antibakteri dilakukan dengan metode sokletasi. Metode sokletasi dipilih karena pelarut yang digunakan lebih sedikit, efisiensi bahan karena hasil ekstrak yang diperoleh lebih banyak, waktu pengerjaannya cepat dan sampel diekstraksi secara sempurna karena dilakukan secara berulang-ulang. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%, karena etanol mempunyai sifat polar, sehingga dapat melarutkan metabolit sekunder seperti flavonoid dan alkaloid (18).

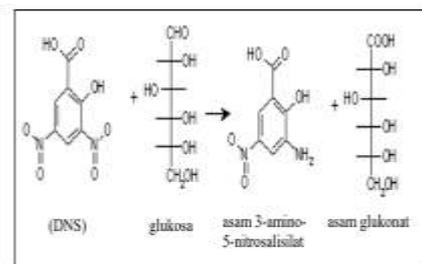
Menurut (Yuliani and Dienina, 2015) flavonoid terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula yang menyebabkan flavonoid dan alkaloid mudah larut dalam pelarut polar sehingga etanol merupakan pelarut yang tepat karena dalam pengerjaannya ekstrak sampel dapat larut dengan etanol. Ekstrak yang diperoleh dari hasil sokletasi dipekatkan dengan *waterbath* selama 2 hari. Hasil rendemen ekstrak etanol iles-iles dihitung berdasarkan perbandingan berat ekstrak total yang diperoleh dengan berat serbuk simplisia yang diekstraksi, lalu dikalikan 100 % (19). Berat tepung yang diekstraksi yaitu 50,00 gram dan jumlah total ekstrak kental yang diperoleh adalah 4,71 gram. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 9,42%. Hasil rendemen ekstraksi iles-iles dengan sokletasi ditunjukkan pada tabel 2 :

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Iles-Iles dengan Sokletasi

Bobot Serbuk (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
50	4,71	9,42

3.3. Uji Penetapan Kadar Glukomanan dengan Metode DNS

Pada penelitian penetapan kadar glukomanan dianalisis dengan menggunakan metode 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS). Prinsip reaksi DNS dengan glukosa yaitu reaksi gula pereduksi dengan reagen DNS merupakan reaksi redoks dimana gugus aldehid yang bertindak sebagai pereduksi akan teroksidasi menjadi karboksil, sedangkan DNS yang bertindak sebagai oksidator akan direduksi membentuk asam 3- amino-5-nitrosalisilat. Reaksi berlangsung pada suasana basa sehingga glukosa akan teroksidasi menjadi asam glukonat, sehingga larutan DNS yang awalnya berwarna kuning bereaksi dengan gula pereduksi akan menimbulkan warna kuning kecoklatan. (20). Reaksi DNS dengan glukosa ditunjukkan pada gambar 1:



Gambar 1. Reaksi Glukosa dengan

Pada penetapan kadar glukomanan ditentukan waktu optimum antara glukosa dengan reagen DNS. Penentuan waktu optimasi untuk menentukan selang waktu berapa warna yang terbentuk stabil dan baik untuk dianalisis. Waktu optimasi ditentukan dari nilai absorbansi tertinggi dari variasi waktu pemanasan 5; 10; 15; dan 20 menit.. Waktu optimum reaksi glukosa dengan reagen DNS terhadap nilai absorbansi yang dapat dilihat pada tabel 3:

Tabel 3. Hasil Optimasi Waktu Reaksi Glukosa dengan DNS

Waktu (Menit)	Absorbansi
5	0,358
10	0,436
15	0,507
20	0,493

Berdasarkan tabel 3, pada menit ke-5 hingga menit ke-15 terjadi peningkatan absorbansi, sedangkan pada menit ke-20 terjadi penurunan absorbansi. Jadi pada waktu menit ke-15 merupakan waktu optimum kestabilan warna pembentukan reaksi glukosa dengan reagen DNS yang baik untuk dianalisis. Sehingga untuk pengukuran kadar selanjutnya dilakukan pada menit ke-15. Setelah penentuan waktu optimasi dilakukan penentuan lamda max, bertujuan untuk mendapatkan nilai absorbansi maksimum yang dapat memberikan sensitivitas pengukuran yang paling baik. Pengukuran dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-VIS diukur serapannya pada panjang gelombang antara range 300-700 nm.



Gambar 2. Persamaan Kurva Baku

Hasil pengukuran lamda max yang diperoleh yaitu 484 nm. Kurva baku dibuat konsentrasi 0,0012 % b/v, 0,0016 % b/v, 0,0020 % b/v, 0,0024 % b/v, 0,0028 % b/v, persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $y = 0,251,5 x + 0,042$. Jumlah glukosa dalam ekstrak dan hidrolisat pada tepung glukomanan didapat dengan membandingkan absorbansi dengan kurva absorbansi glukosa seperti pada (gambar 2) dan kadar glukomanan diperoleh dengan menghitung pada persamaan (3).

$$\text{Kadar glukomanan (\%)} = \frac{0,9 \times 5000 (5T - T_0)}{m} \quad (3)$$

Dimana, f = factor koreksi (0,9), T = glukomanan hidrolisat (mg), T₀ = ekstrak glukomanan (mg), dan m = jumlah tepung yang diekstraksi /dimurnikan (mg). Hasil kadar glukomanan illes-iles dapat dilihat pada tabel 3 :

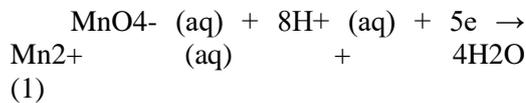
Rerata kadar glukomanan yang diperoleh pada penelitian yaitu $7237,50 \pm 1264,47$. Penelitian sebelumnya (4), telah melaporkan kandungan glukomanan di dalam umbi illes-iles yang diekstraksi dengan etanol 96% menghasilkan kadar glukomanan sekitar 14-35%. Hasil glukomanan yang diperoleh sangat tinggi, hal ini disebabkan karena tidak dilakukan pembacaan absorbansi blanko, sehingga menyebabkan hasil yang bias pada pembacaan dengan spektrofotometri UV-VIS. Tinggi rendahnya kadar glukomanan dipengaruhi oleh proses penggilingan dan perendaman, dimana cara tersebut efektif untuk menghilangkan kandungan selain glukomanan yang terdapat dalam umbi seperti pati, protein, lemak. Semakin lama perendaman maka semakin banyak pula kontak antara tepung illes-iles dengan pelarut, sehingga dapat meningkatkan kadar glukomanan yang diperoleh (17). Umur umbi atau masa panen umbi juga mempengaruhi tinggi rendahnya kadar glukomanan, ketika tanaman mengalami masa dorman yaitu pada saat daunnya telah kering dan rebah, kandungan glukomanannya tinggi dibandingkan pada saat sebelum rebah, hal ini disebabkan karena setelah daun mengalami pertumbuhan yang maksimal, glukomanan tidak digunakan untuk proses metabolisme, sehingga terakumulasi pada umbi hingga mencapai fase dormansi. Hasil penetapan kadar glukomanan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penetapan Kadar Glukomanan Dengan Metode DNS

Replikasi	Absorbansi		Bobot sampel (gram)		Kadar Glukomanan (%)	Rerata Kadar \pm SD
	T	To	T	To		
1.	0,371	0,324	0,16	0,14	5850,00	7237,50 \pm 1264,47
2.	0,379	0,232	0,17	0,09	7537,50	
3.	0,397	0,212	0,18	0,08	8325,00	

3.4. Uji Penetapan Kadar Asam Oksalat dengan Metode Titrasi Permanganometri

Penetapan kadar asam oksalat pada umbi iles-iles dilakukan dengan metode Titrasi Permanganometri. Keuntungan metode titrasi permanganometri yaitu tidak memerlukan indikator sehingga lebih efektif dibandingkan metode titrasi lainnya seperti titrasi redoks, titrasi asam basa yang membutuhkan indikator. Prinsip metode titrasi permanganometri yaitu reaksi reduksi oksidasi, dimana $KMnO_4$ bertindak sebagai oksidator, asam oksalat sebagai reduktor, Ion MnO_4^- yang berwarna ungu akan direduksi asam oksalat menjadi ion Mn^{2+} menjadi tidak berwarna, adanya kelebihan ion permanganat menghasilkan warna merah muda. Adapun reaksi reduksi-oksidasi $KMnO_4$:



Tepung iles-iles dipreparasi terlebih dahulu dengan dilarutkan dalam HCl 6 M dan aquades, dimana HCl akan bereaksi dengan kalsium oksalat menghasilkan asam oksalat yang larut dalam aquadest. Proses pemanasan bertujuan untuk melarutkan ion oksalat yang terdapat pada tepung iles-iles. karena ion oksalat dapat larut dalam HCl (21). Larutan oksalat ditambahkan dengan H_2SO_4 sebelum dilakukan titrasi untuk membentuk suasana asam, karena titrasi permanganometri harus dilakukan dalam suasana asam, dimana asam oksalat merupakan asam lemah yang sulit untuk membentuk suasana asam. Titrasi dihentikan saat terbentuk warna merah muda dalam ≥ 30 menit, dapat dilihat pada Gambar 3 :



Gambar 3. Terbentuknya warna merah muda saat TAT

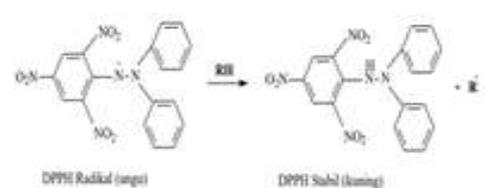
Rerata kadar oksalat yang diperoleh pada penelitian ini yaitu $18,21 \%b/b \pm 0,37$. Menurut (7) kadar oksalat yang terdapat pada umbi iles-iles berkisar 18,89%, yang ditetapkan kadarnya dengan metode titrasi permanganometri. Batas aman konsumsi oksalat yaitu 0,60-1,25 gram/hari selama 6 minggu berturut-turut (Wardani and Handrianto, 2019). Hasil kadar oksalat yang diperoleh cukup tinggi, sehingga perlu dilakukan optimasi kembali agar kadar oksalat yang diperoleh lebih rendah dan memenuhi batas aman konsumsi oksalat. Kadar asam oksalat dinyatakan dalam (%b/b) yang ditampilkan pada tabel 5:

Tabel 5. Hasil Penetapan Kadar Asam Oksalat dengan Metode Permanganometri

Volume titran (mL)	Kadar Oksalat (%b/b)	Rerata Kadar
5,94	17,97	18,21 ± 0,37
6,16	18,64	
5,96	18,03	

3.5. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dianalisis dengan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode untuk menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan senyawa 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil atau DPPH sebagai sumber radikal bebasnya. Prinsip dari metode DPPH yaitu donor atom hidrogen dari sampel yang mengandung senyawa antioksidan ke pada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil yaitu DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) sehingga terjadi perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning (22). Reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH terlihat seperti pada gambar 4 :



Gambar 4. Reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH

Metode DPPH dipilih karena sederhana, cepat, peka dan memerlukan

sampel yang sedikit (Lung and Destiani, 2018). Pembacaan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 516 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dan diulangi tiga pengulangan serta dilakukan perhitungan % aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀. IC₅₀ merupakan kemampuan ekstrak sampel dalam menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dari persamaan regresi linear. Berdasarkan hasil analisis regresi linier hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol umbi iles-iles dengan persen peredaman absorbansi DPPH maka akan diperoleh persamaan regresi linier, dari persamaan regresi linier dapat menentukan harga IC₅₀. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol umbi iles-iles metode sokletasi dengan senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil atau DPPH dapat dilihat pada tabel 6.

Berdasarkan tabel 6, hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol umbi iles-iles memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 53,41 ± 5,14. Hasil uji aktivitas antioksidan pada sampel lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif asam askorbat dengan rerata nilai IC₅₀ yang diperoleh 3,69 µg/mL ± 0,04. Hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh kurang akurat karena % penangkapan radikal bebasnya kurang dari 50% sehingga data IC₅₀ berdasarkan data ekstrapolasi. Pada uji aktivitas antioksidan dibuat 3 konsentrasi, apabila sudah mempunyai aktivitas antioksidan maka dapat dibuat menjadi 5 konsentrasi seperti kontrol positif yaitu asam askorbat. Penelitian yang dilakukan sejalan dengan penelitian (10) yang telah melaporkan bahwa kelompok umbi *Amorphophallus* memiliki aktivitas antioksidan. Metabolit sekunder golongan flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa yang terdapat pada umbi iles-iles yang berperan sebagai agen antioksidan (8)

3.6. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

Pada uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Media

yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA), Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO, sedangkan kontrol positifnya yaitu ampisilin, kontrol positif berguna sebagai pembandingan atau tolak ukur dalam menentukan kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri. Zona hambat yang dihasilkan ampisilin terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 27 mm, sedangkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 38 mm.

Uji daya hambat ekstrak etanol umbi iles-iles dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, yang menunjukkan adanya zona hambat yang bervariasi. Pada bakteri *Escherichia coli* memberikan rerata diameter hambatan yang terbentuk pada konsentrasi 1,5 mg/sumuran, 2,5 mg/sumuran, dan 3,5 mg/sumuran secara berturut-turut sebesar 10,33 ± 0,57 mm, 9 ± 1,732 mm, dan 10,66 ± 1,15 mm. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak etanol umbi iles-iles tidak dapat memberikan daya hambat yang ditandai dengan tidak adanya daerah bening disekitar media. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol umbi iles-iles ditunjukkan pada tabel 6 :

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL) Sampel	Rerata IC ₅₀ ± SD
Iles-iles	59,20	53,41 ± 5,14
	51,68	
	49,35	
Asam askorbat	3,74	3,69 ± 0,04
	3,69	
	3,66	

Berdasarkan tabel 7, hasil uji aktivitas antibakteri bahwa ekstrak etanol umbi iles-iles memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitar media, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Metabolit sekunder golongan flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa yang terdapat pada umbi iles-iles yang berperan sebagai agen antibakteri (8). Aktivitas ekstrak etanol umbi iles-iles dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram

negatif *Escherichia coli* lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, yang dapat dilihat pada tabel 7. Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas

satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya (23).

Tabel 7. Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etanol Umbi Iles-Iles

Konsentrasi (mg/sumura n)	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		Rerata Zona Hambat ± SD (mm)	
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1,5					10,33 ± 0,57	-
2,5	27	0	38	0	9 ± 1,73	-
3,5					10,66 ± 1,15	-

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol umbi iles-iles memiliki kandungan glukomanan sebesar 7237,50 ± 1264,47, untuk kandungan asam oksalat sebesar 618,21 %b/b± 0,37. Ekstrak etanol umbi iles-iles memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri, aktivitas antioksidan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 53,41 ± 5,14. Aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol umbi iles-iles ditunjukkan dengan rerata diameter hambatan yang terbentuk pada konsentrasi 1,5 mg/sumuran, 2,5 mg/sumuran, dan 3,5 mg/sumuran secara berturut-turut sebesar 10,33 ± 0,57 mm, 9 ± 1,732 mm, dan 10,66 ± 1,15 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*, tetapi tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ungkapan terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan pelayanan Pendidikan, Fakultas Farmasi UMS yang telah melayani Pendidikan dan fasilitas laboratorium untuk pelayanan penelitian ini.

REFERENSI

1. Sutrisno A. Proses Penurunan Kadar Kalsium Oksalat Menggunakan Penepung "Stamp Mill" untuk Pengembangan Industri Kecil Tepung Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *J Pangan*. 2011;20(4):331–40.
2. Ulfa DAN, Nafi'ah R. Pengaruh Perendaman NaCl Terhadap Kadar Glukomanan dan Kalsium Oksalat Tepung Iles-Iles (*Amorphophallus variabilis* Bi). *Cendekia J Pharm STIKES Cendekia Utama Kudus*. 2018;2(2):124–33.
3. Wigoeno YA, Azrianingsih R, Roosdiana A. Analisis Kadar Glukomanan pada Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Menggunakan Refluks Kondensor. *J Biotropika*. 2013;1(5):231–5.
4. Koswara S. Pengolahan Umbi Porang (Iles-iles). 2013;
5. Ekowati G, Yanuwadi B, Azrianingsih R. Sumber Glukomanan Dari Edible Araceae Di Jawa Timur. *J-Pal*. 2015;6(1):32–41.
6. Sitompul MR, Suryana FS, Mahfud M, Bhuana DS. Ekstraksi Asam Oksalat Pada Umbi Porang (*Amorphophallus*

- Oncophyllus) dengan Metode Mechanical Separation. *J Tek ITS*. 2018;7(1):135–7.
7. Suyanto, Isworo T. Evaluasi Sifat Fisik dan Kimia Glukomanan dari Iles-Iles (*Amorphophallus oncophyllus*). 2015;2(2):1–7.
 8. Makiyah A, Husin UA, Sadeli R. Efek Imunostimulasi Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Tikus Putih Strain Wistar yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. *Maj Kedokt Bandung*. 2016;48(2):68–77.
 9. Gagola C, Suryanto E, Wewengkang D. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Kayu (*Manihot esculenta*) Daging Putih dan Daging Kuning yang Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud. *J Ilm Farm*. 2014;3(2):127–33.
 10. Angayarkanni J, Ramkumar KM, Priyadharshini U, Ravendran P. Antioxidant potential of *Amorphophallus paeoniifolius* in relation to their phenolic content. *Pharm Biol*. 2010;48(6):659–65.
 11. Rosyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N, Astuti MD. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Katsuri (*Mangifera casturi*). *ALCHEMY*. 2010;1(2):65–9.
 12. Kadali VN, Ramesh T, Pola SR, Sandeep B V. Assessment of antibacterial activity of *Amorphophallus paeoniifolius* tuber and its peel extracts. *Trop Plant Res*. 2016;3(1):172–5.
 13. Akbar MR, Yunianta. Pengaruh Lama Perendaman Na₂S₂O₅ Dan Fermentasi Ragi Tape Terhadap Sifat Fisik Kimia Tepung Jagung. *J Pangan dan Agroindustri*. 2014;2(2):91–102.
 14. Fatmawati S, Nurgraheni B, Setyani DK. Ekstraksi Berbantu Ultrasonik dan Penetapan Kadar Glukomanan Dalam Umbi Porang (*Amorphophallus oncophyllus* Prain ex Hook.f.). *Media Farm Indones*. 2013;11(2):1075–83.
 15. Herman. Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan Obat Kalimantan Timur. *J Trop Pharm Chem*. 2013;2(2):100–4.
 16. Haryati SD, Darmawati S, Wilson W. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Pros Semin Nas Publ Hasil-Hasil Penelit dan Pengabd Masy Univ Muhammadiyah Semarang*. 2017;3(2):348–52.
 17. Pasaribu GT, Hastuti N, Efiyanti L, Waluyo TK, Pari G. Optimasi Teknik Pemurnian Glukomanan Pada Tepung Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). *J Penelit Has Hutan*. 2020;37(7):197–203.
 18. Nurhasnawati H, Handayani F, Samarinda AF. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.). *J Ilm Manuntung*. 2017;3(1):91–5.
 19. Novaryatiin S, Pratiwi AM, Ardhany SD. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Anterior J*. 2018;18(1):92–7.
 20. Rismawati Y, Bahri S, Prismawiryanti. Produksi Glukosa dari Jerami Padi (*Oryza sativa*) Menggunakan Jamur *Trichoderma* sp. *Kovalen*. 2016;2(September):67–76.
 21. Wardani, Handrianto P. Pengaruh Perendaman Umbi Porang Dalam Larutan Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Penurunan Kadar Kalsium Oksalat. *IPTEK J Proc*. 2019;(4):1–4.
 22. Pangestu NS, Nurhamidah N, Elvinawati E. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Jatropha gossypifolia* L. *Alotrop*. 2017;1(1):15–9.
 23. Mpila D., Fatimawali, Wiyono WI. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro. *Pharmacon*. 2012;1(1):13.