

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FENOL TOTAL PADA EKSTRAK KULIT BUAH PISANG (*Musa acuminata* Colla)

Rosida, Diyan Ajeng RA
Akademi Farmasi Jember
Email: rosidahari@gmail.com

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang dipilih. Flavonoid merupakan senyawa fenolat (hidroksil fenolik) yang mampu bertindak sebagai antioksidan dan umumnya terdapat pada tanaman. Salah satu limbah tanaman yang mempunyai kandungan flavonoid adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menetapkan kadar flavonoid total dan melakukan pengujian aktivitas antioksidan kulit buah pisang menggunakan *diphenyl picryl hydrazil hydrate* (DPPH) sebagai radikal bebas. Metode ekstraksi yang digunakan adalah remaserasi dengan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan katekin sebagai standar dan pengujian DPPH menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan kandungan flavonoid total ekstrak etanol kulit buah pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ %b/b, aktivitas antioksidan tertinggi dalam IC_{50} terhadap DPPH sebesar 70,41 mg/L.

Kata Kunci: kulit buah pisang, flavonoid total, aktivitas antioksidan, IC_{50}

I. PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas uv yang berlebih, suhu, bahan kimia dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh terpapar radikal bebas. Bila radikal bebas berlebihan akan menciptakan ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya, maka terbentuk stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Leong & Shui, 2001).

Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi radikal bebas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa antioksidan seperti fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman daripada antioksidan sintesis, seperti *butylated hydroxytoluene*. Antioksidan asam fenolat, polifenol, flavonoid menghambat radikal peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxy*, menghambat mekanisme oksidatif, sehingga mencegah penyakit degeneratif, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati. Flavonoid memiliki kemampuan anti-inflamasi dan antioksidan yang terbukti mampu menghambat proses stress oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif.

Salah satu buah yang mempunyai kandungan flavonoid adalah pisang (*Musa acuminata*). Buahnya banyak disukai untuk di konsumsi secara langsung sebagai buah atau diolah menjadi produk konsumsi. Namun hal ini tidak diimbangi dengan pengolahan limbah dari kulit buah pisang yang sangat banyak jumlahnya. Limbah kulit buah pisang mewakili sekitar 30% dari buah. Hal ini merupakan masalah lingkungan karena mengandung sejumlah besar nitrogen, fosfor dan kadar air yang tinggi sehingga rentan terhadap perkembangan mikroorganisme (Gonzales *et al.*, 2009).

Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminat* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen *et al.*, 2003; Someya *et al.*, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Berdasarkan penelitian kami sebelumnya bahwa pemberian ekstrak kulit buah pisang secara topikal mampu mempercepat perbaikan kondisi pasca luka bakar. Hal ini ditandai dengan penurunan konsentrasi lipid peroksidase, peningkatan ekspresi VEGF dan kolagen.

Berdasarkan potensi yang dimiliki kulit buah pisang sebagai antioksidan alami dan mengandung banyak komponen yang senyawa bioaktif (flavonoid, fenol), maka perlu dipelajari lebih lanjut kandungan flavonoid total dan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH secara spektrofotometri.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan penelitian adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) yang diperoleh dari daerah Genteng, Banyuwangi dan dideterminasi di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi; Katekin ex. Sigma; etanol teknis; plat silica gel 60 F₂₅₄ ex. E. Merck; Difenilpikril Hidrazil Hidrat (DPPH) ex. Sigma; Pelarut untuk Spektrofotometer ex. E. Merck; Freeze dryer Heidolph; rotavapor Heidolph; Spektrofotometer Hitachi U1800.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratories in vitro yang bertujuan untuk menetapkan kadar katekin dan menguji aktivitas antiradikal bebas DPPH sebagai kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah pisang dari daerah Genteng-Banyuwangi. Sebagai variable tergantung adalah kadar katekin dan perendaman radikal bebas DPPH; variable bebas adalah ekstrak etanol dalam berbagai konsentrasi.

C. Prosedur Kerja

Pembuatan Serbuk Kulit Buah

Ditimbang 1 kg kulit buah pisang matang dan dikeringkan dengan teknik *freeze drying*. Bahan yang telah dikeringkan kemudian ditimbang dan disimpan dalam lemari es.

Pembuatan Ekstrak dan Larutan Uji

Ditimbang 250 gram serbuk kulit buah pisang, kemudian diekstraksi dengan etanol dengan cara remaserasi. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam ekstraksi dilakukan 2-3 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapor* sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Uji Kualitatif Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Penampak noda menggunakan larutan FeCl₃ 10%.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Total flavonoid menggunakan standar katekin dengan metode Sultana *et al.* (2008) dengan beberapa modifikasi yaitu 1 ml larutan ekstrak air yang mengandung 0,01 g/ml

bahan kering ditempatkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 5 ml air. Tambahkan 0,3 ml NaNO₂ (5% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml AlCl₃ (10% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 2 ml larutan NaOH 1 M. Terakhir tambahkan air sampai 10 ml (garis tanda pada labu) Campuran dikocok dengan kuat, ukur absorbansi warna pink pada 510 nm. Kurva baku dibuat menggunakan larutan standard katekin 10 – 100 mg/L. Semua sampel dianalisis dalam tiga replikasi dan hasil di rata-rata. Kadar flavonoid secara kuantitatif diukur dengan menggunakan kurva standar katekin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kental kulit buah pisang hasil evaporasi dilarutkan dengan etanol menjadi konsentrasi 160 mg/L, kemudian diencerkan menjadi empat variasi konsentrasi yaitu 80 ; 90,4 ; 104,3 dan 125,22 mg/L, tujuannya untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan membuat kurva IC₅₀. Masing-masing ekstrak sebanyak 1,8 mL direaksikan dengan DPPH 0,04 % sebanyak 0,5 mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516,5 nm. Penentuan IC₅₀ dibuat dari persamaan regresi antara persentase aktivitas radikal bebas DPPH pada ekstrak terhadap 5 konsentrasi tadi. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berikut ini tabel mengenai klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois.

Tabell.1. Klasifikasi aktivitas antioksidan (Blois, 1958)

Nilai IC ₅₀	Antioksidan
<50ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Hasil positif mengandung katekin ditandai dengan penampakan

noda yang sama dengan standar katekin dan memiliki nilai Rf (waktu retensi) yang sama. Hasil elusi dan adanya noda tampak dengan penampak noda larutan FeCl₃, didapatkan Rf sebesar 0,8 (Tabel 2).

Tabel 2. Profil KLT ekstrak kulit buah pisang

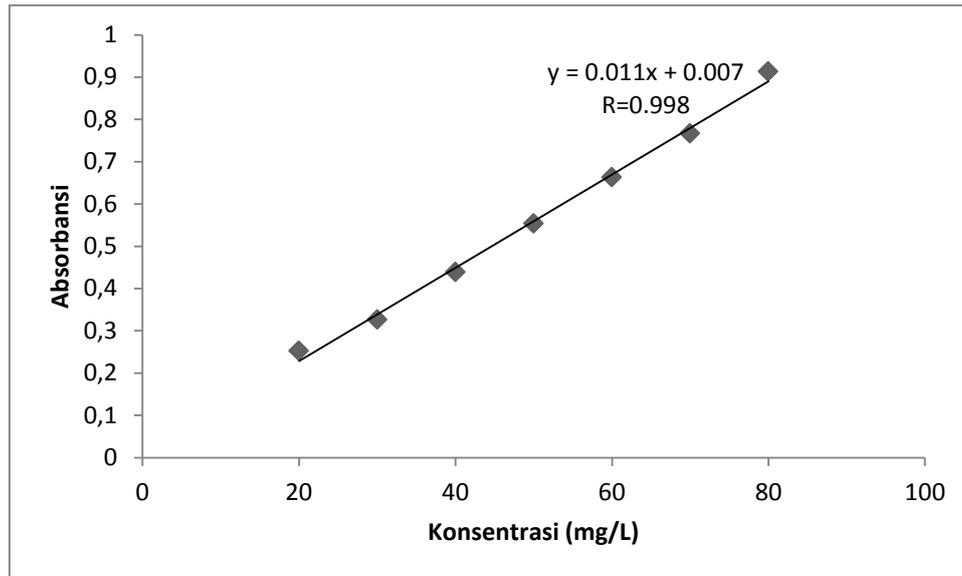
Eluen	Penampak Noda	Harga Rf	
		Ekstrak kulit buah pisang	Standar Katekin
Kloroform : Metanol : Air (6,5 : 3,5 : 1)	Larutan FeCl ₃ 10%	0,8	0,8

Pada penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total menggunakan standarisasi katekin yang terkandung pada ekstrak kulit buah pisang. Menurut Schmid *et al* (2010), ekstrak etanol kulit *Parapiptadenia rigida* yang mengandung katekin dengan konsentrasi 1 dan 10µM menunjukkan peningkatan proliferasi fibroblast sedangkan katekin dengan konsentrasi 20 µM menunjukkan anti proliferasi.

Analisis kadar katekin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer panjang gelombang maksimum spektra katekin adalah 510 nm. Hasil pengamatan dan perhitungan standar Katekin diperoleh kurva baku dengan persamaan $y = 0,011x + 0,007$; dengan $r = 0,9975$ (Gambar 1). Dari persamaan ini didapat kadar Katekin pada ekstrak kulit buah pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ % b/b.

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dipilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al*, 2005). Pengujian radikal bebas DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Pembuatan spectra sinar tampak larutan DPPH pada rentang 400-600 nm. Hasil penelitian menunjukkan kurva normal (sigmoid) pada daerah puncak 516,5 nm. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003).

Selanjutnya dilakukan pengukuran waktu inkubasi ekstrak dengan larutan DPPH. Waktu inkubasi menggunakan 0, 10, 20 dan 30 menit. Hasil absorbansi menunjukkan bahwa absorbansi stabil mulai menit 10 sampai menit ke 30. Pada penelitian ini menggunakan waktu inkubasi 30 menit.



Gambar 1. Kurva standar katekin dalam berbagai konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 mg/L terhadap absorbansi.

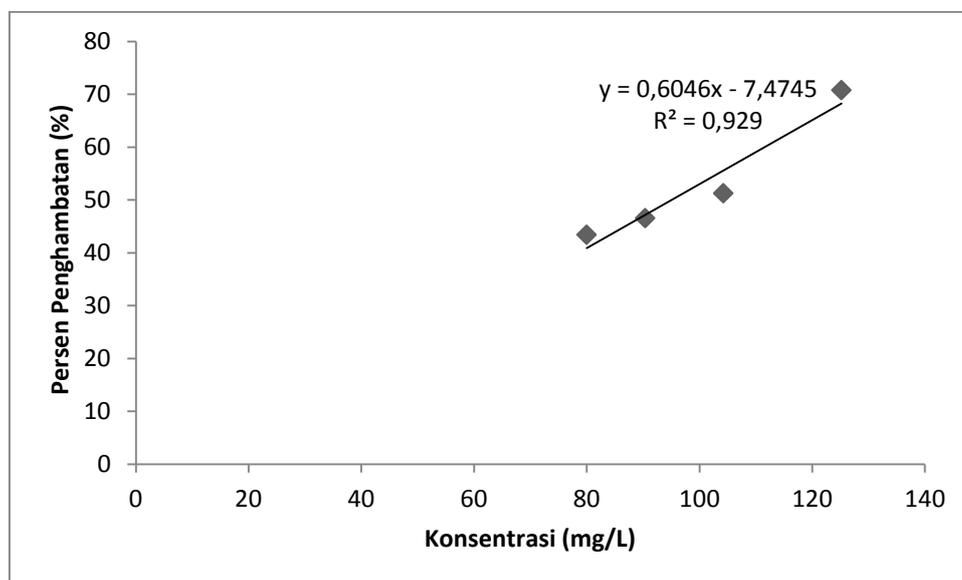
Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dalam metanol dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,5 nm. Selanjutnya persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dayak dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Andayani *et al.*, 2008).

Uji aktivitas antioksidan atau hambatan terhadap radikal bebas menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pisang memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut dapat ditentukan nilai IC_{50} ekstrak kulit buah pisang sebesar 70,41 mg/L. Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak kulit buah pisang memiliki antioksidan yang kuat yaitu rentang 50 – 100 mg/L (Blois, 1958).

Aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH ekstrak kulit buah pisang ditentukan oleh berbagai senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa kulit pisang kaya senyawa fitokimia. Senyawa fenolat yang telah diketahui memiliki efek antioksidan yang sangat kuat. Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminata* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen, Ketsa & van Doorn, 2003 ; Someya, Yosiki & Okubo, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Selain itu telah diidentifikasi pada kulit pisang caratenoids seperti β -carotene, α -carotene dan xantophil (Subagio, Morita & Sawada, 1996), sterol dan triterpens seperti β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cycloeucalenol, cycloartenol dan 24 metylene cycloartenol (Knapp & Nicholas, 1969).



Gambar 2. Hubungan konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dengan persen penghambatan

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) mengandung flavonoid total $0,79 \pm 0,03$ %b/b dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 70,41 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

Andayani, R., Y., Lisawati, & Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol 13 (1).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

- Blois, M. S. 1958. Antioxidant Determinations By the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. Vol 181: 1999-1200.
- Gonzales R. M., Lobo, G. M., & Gonzales, M. 2010. Antioxidant Activity in Banana Peel Extraction: Testing Extraction Conditions and Related Bioactive Compounds. *Food Chem*, 199: 1030-1039.
- Hanani, E. A., Mun'im, R., & Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Calispongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol 2 (3): 127-133.
- Kanazawa, K., & Sakakibara, H. 2000. High Content of Dopamine, A Strong Antioxidant, in Cavendish Banana. *J Agric and Food Chem*. Vol 48 (3), 844–848.
- Knapp, F. F., & Nicholas, H. J. 1969. Sterols and Triterpenes of Banana Peel. *Phytochem*. Vol 8 (1): 207–214.
- Leong, L. P. & Shui, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. *Food Chemistry*. 76: 69-75.
- Nguyen, T. B. T., Ketsa, S., & Van Doorn, W. G. 2003. Relationship Between Browning and The Activities of Polyphenol Oxidase and Phenylalanine Ammonia Lyase in Banana Peel During Low Temperature Storage. *Postharvest Biol and Tech*. Vol 24 (3): 187-193.
- Permana, D. N. H., Lajis, F., Abas, A. G., Othman, R., Ahmad, M., Kitajama, H., Takayama, N., & Aimi. 2003. Antioksidative Constituents of *Hedyotis Diffusa* Wild. *Natural Product Sciences*. Vol 9 (1): 7-9.
- Schmidt, C. A., Murillo, R., Bruhn, T., Bringmann, G., Goettert, M., Heinzmann, B., Brecht, V., Laufer S. A., & Merfort, I. 2010. Catechin Derivatives from *Parapiptadenia Rigida* with *in Vitro* Woundhealing Properties. *J Nat Prod*. Vol 73 (12), 2035–2040.
- Someya, S., Yoshiki, Y., & Okubo, K. 2002. Antioxidant Coumpounds from Bananas (*Musa cavendish*). *Food Chem*. Vol 79 (3): 351-354.
- Subagio, A., Morita, N., & Sawada, S. 1996. Carotenoids and Their Fatty-Acid Esters in Banana Peel. *J Nutr Sci and Vitam*. Vol 42 (6): 553–566.
- Sultana, B., Anwar, F., Asi, M. R., Chatha, S. A. S. 2008. Antioxidant Potential of Extracts from Different Agro Wastes: Stabilization of Corn Oil. *Grasas y Aceites*. Vol 59 (3): 205-217.