

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI JANTUNG PISANG MAS
(*Musa acuminata* Colla) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACT AND FRACTIONS FROM *Musa
acuminata* FLOWER BY DPPH ASSAY**

Devi Nisa Hidayati, Ibrahim Arifin, Yuni Antika, Amalina Firdaus, Nur Kussamawari Ardian

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
JL. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Gajahmungkur, Kota Semarang,
Jawa Tengah 50232
Email: devinisahidayati@yahoo.com (Devi Nisa Hidayati)

ABSTRAK

Jantung pisang mas mengandung senyawa yang dapat menangkap radikal bebas antara lain saponin, fenol, flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jantung pisang mas (*Musa acuminata* Colla) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dilanjutkan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat dan air. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi air dilakukan pada seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 µg/ml. Sedangkan untuk fraksi etil asetat digunakan konsentrasi sebesar 4, 8, 12, 16, dan 20 µg/ml. Persentase aktivitas antioksidan diperoleh dari data absorbansi. Nilai IC₅₀ didapatkan dari regresi linier antara konsentrasi larutan seri uji dengan persentase aktivitas antioksidan. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan metode KLT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ekstrak etanol jantung pisang mas memiliki aktivitas antioksidan kuat, sedangkan fraksi air memiliki aktivitas antioksidan lemah. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jantung pisang mas berturut-turut sebesar 68,742; 56,132; dan 201,151 µg/ml.

Kata kunci: *Musa acuminata* Colla, metode DPPH, antioksidan, IC₅₀.

ABSTRACT

Flower of banana 'mas' (Musa acuminata Colla) can inhibit free radicals contain active chemical compounds such as saponins, phenolic, flavonoids. This study aims to investigate the antioxidant activity of ethanol extract, ethyl acetate fraction, and water fraction of ethanolic extract of flower of banana 'mas' with DPPH method. Extraction was conducted by maceration method using ethanol 70%, then fractionated using ethyl acetate and water. Determination of the antioxidant activity of ethanolic extract and water fraction used concentrations of 5; 10; 15; 20; dan 25 µg/ml, while ethyl acetate fraction used concentration of 4; 8; 12; 16; and 20 ug/ml by the method of DPPH. The

percentage of antioxidant activity was obtained from the data absorbance. IC₅₀ values obtained from linear regression between the concentration of tested series with the percentage of antioxidant activity. Identification of flavonoid compounds made by the TLC's method. The results showed that the ethanolic extract and ethyl acetate fraction of flower of banana 'mas' possessing strong antioxidant activity. Water fraction of ethanolic extract of flower banana 'mas' possessing weak antioxidant activity. IC₅₀ values of ethanolic extract, ethyl acetate fraction, and water fraction of banana 'mas' were 68.742; 56.132; and 201.151 µg/ml, respectively.

Key words: *Musa acuminata* Colla, DPPH method, antioxidant, IC₅₀.

Pendahuluan

Penyakit dapat diakibatkan karena pengaturan pola hidup yang tidak sehat. Seiring bertambahnya usia maka terjadi penurunan fungsi sel, jaringan, dan organ sehingga dapat menimbulkan penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskuler, stroke, dan kanker. Radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh merupakan salah satu pemicu penyakit degeneratif. Suatu atom yang merupakan oksigen reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan disebut dengan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Bagian tanaman pisang yang masih kurang pemanfaatannya adalah jantung pisang (Kusumaningtyas dkk., 2010). Ekstrak metanol jantung pisang mas memiliki kandungan senyawa glikosida, tanin, saponin, fenol, steroid, dan flavonoid (Sumathy dkk., 2011). Penelitian Sowmia dkk. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanol jantung pisang mas mengandung senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid secara *in vitro* telah terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat, salah satunya yaitu sebagai antioksidan (Winarsi, 2007). Ekstrak etil asetat kulit pisang menghasilkan efek antioksidan

(Singh dan Prakash, 2015). Senyawa flavonoid mampu tertarik dalam air dan etanol 70% (Harborne, 1984). Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air jantung pisang mas (*Musa acuminata* Colla) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Seperangkat alat maserasi, corong buchner, blender (Miyako), timbangan elektrik (Ohaus), *moisture balance* (Ohaus), *rotary evaporator* (Heidolph WE 2000, German), oven (Mammert), seperangkat alat gelas (Iwaki, Pyrex), mikropipet dan spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 UV). Seluruh bagian dari jantung pisang mas (*Musa acuminata* Colla) yang diperoleh dari Desa Jambe, Kecamatan Sumowono, Kabupaten Semarang, etanol 70% (teknis), etil asetat, akuades, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), etanol 96% p.a. (Merck), vitamin C (Phapros).

Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang.

2. Penyiapan senyawa uji

a. Pembuatan serbuk jantung pisang mas

Jantung pisang mas sebanyak 6,520 kg dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, diiris dengan ketebalan yang sama. Selanjutnya dikeringkan di dalam oven dengan suhu 50 °C. Simplisia yang telah kering tersebut kemudian dihaluskan, diayak dan ditimbang, berat serbuk kering jantung pisang mas yang didapat sebanyak 260 gram.

b. Pembuatan ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jantung pisang mas

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara 260 gram serbuk jantung pisang mas diekstraksi dengan cara maserasi. Proses penyarian dibagi menjadi dua bagian, bagian pertama pelarut etanol 70% sebanyak 1820 ml dibiarkan selama lima hari dalam bejana tertutup, sambil diaduk dan kemudian didapatkan filtrat pertama. Setelah lima hari ampas disaring, kemudian ditambah

pelarut etanol 70% sebanyak 780 ml, diaduk dan dibiarkan dalam bejana tertutup selama dua hari. Setelah dua hari, ampas disaring kembali menghasilkan filtrat kedua. Endapan dan filtratnya dipisah, filtrat pertama dan kedua dicampur untuk selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi dimulai dengan melarutkan 25 gram ekstrak kental jantung pisang ke dalam campuran air dan etanol (9:1). Selanjutnya dipartisi dengan corong pisah menggunakan pelarut etil asetat dan air. Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan jumlah air yang ditambahkan ke dalam ekstrak etanol (1:1). Fraksi air dipisahkan dari fraksi etil asetat, kemudian ditampung dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

3. Uji aktivitas antioksidan

a. Pembuatan larutan stok DPPH

Pembuatan stok DPPH dilakukan dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 3,9 mg, kemudian dimasukkan labu takar 100,0 ml, dilarutkan dengan etanol 96%

- sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.
- b. Pembuatan seri konsentrasi larutan uji
- Sebanyak masing-masing 10 mg ekstrak etanol dan fraksi air jantung pisang mas dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/ml, kemudian dibuat seri kadar 5, 10, 15, 2, dan 25 µg/ml. Fraksi etil asetat dibuat seri kadar 4, 8, 12, 16, dan 20 µg/mL.
- c. Pembuatan seri konsentrasi vitamin C
- Vitamin C ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dalam 25 ml akuades sampai tepat, sehingga diperoleh kadar 200 µg/ml. Larutan vitamin C 200 µg/ml kemudian dibuat larutan seri konsentrasi sebesar 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 µg/ml.
- d. Penentuan panjang gelombang maksimum
- Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 3,0 ml yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500-525 nm (Molyneux, 2004). Panjang gelombang maksimal ditunjukkan dengan hasil absorbansi yang paling besar yaitu 516,7 nm.
- e. Penentuan *operating time*
- Vitamin C diambil sebanyak 1,0 ml ditambah 3,0 ml larutan blanko DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan selama 1 menit menggunakan vortex dan diukur absorbansinya tiap 5 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada λ maksimum yang diperoleh. Waktu peredaman radikal DPPH yang menghasilkan absorbansi paling stabil merupakan *operating time*.
- f. Uji aktivitas antioksidan
- Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 3,0 mL larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 1,0 mL larutan uji dengan berbagai konsentrasi, selanjutnya dihomogenkan selama 1 menit menggunakan vortex dan didiamkan selama 25 menit. Setelah itu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 516,7 nm. Sebagai kontrol digunakan larutan DPPH 0,1 mM tanpa penambahan larutan uji (Molyneux, 2004). Kemudian data yang diperoleh

dihitung persentase aktivitas antioksidannya dengan rumus:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi Perlakuan}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Hasil dan Pembahasan

Penyiapan Senyawa Uji

Simplisia basah jantung pisang mas sebanyak 6,520 kg diolah menjadi serbuk dan diperoleh serbuk simplisia sebanyak 260 gram. Simplisia dibuat dalam bentuk kering dengan kadar air kurang 10% (Depkes RI, 1985), hal tersebut untuk membuat penyimpanan simplisia lebih awet dan tahan lama serta mencegah pertumbuhan bakteri akibat adanya kandungan air yang berlebih (Gunawan dan Mulyani, 2004). Hasil dari pengukuran kadar air simplisia serbuk kering jantung pisang mas adalah 8%.

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak serbuk jantung pisang mas adalah maserasi. Prinsip kerja metode tersebut adalah merendam serbuk dengan menggunakan zat pelarut yang sesuai dalam beberapa hari pada wadah tertutup (terlindung dari sinar matahari) pada suhu kamar (Ansel, 1989). Cahaya matahari langsung dapat merusak senyawa dengan cara reaksi katalis sehingga ekstrak disimpan pada wadah kaca (Voight, 1994). Proses

maserasi ini menggunakan serbuk jantung pisang mas sebanyak 260 gram yang kemudian dihasilkan ekstrak kental sebanyak 25 gram dengan rendemen 9,61%.

Metode fraksinasi yang digunakan yaitu metode partisi cair-cair dengan tujuan untuk memisahkan zat aktif berdasarkan polaritasnya, sehingga senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar begitu pula senyawa nonpolar akan tertarik ke pelarut nonpolar (Harborne, 1984). Sebesar 25 gram ekstrak kental, diperoleh fraksi etil asetat ekstrak etanol jantung pisang mas yang diperoleh sebanyak 5 gram dengan rendemen 20% serta fraksi air kental yang diperoleh sebanyak 15 gram dengan rendemen yang dihasilkan sebanyak 60%.

Uji Aktivitas Antioksidan

a. Penentuan panjang gelombang maksimum dan penentuan *operating time*

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mendapatkan serapan absorbansi yang maksimum (Haven dkk., 1995). Hasil dari penentuan panjang

gelombang maksimum yaitu 516,7 nm. Penentuan *operating time* ini bertujuan untuk melihat waktu optimalnya senyawa bereaksi. *Operating time* ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi. Hasil pengukuran *operating time* larutan DPPH 0,1 mM dengan vitamin C adalah pada menit ke-25.

b. Penentuan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan pada senyawa uji dilakukan dengan

menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja dari metode DPPH adalah kolorimetri, dimana ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH maka warna ungu pada DPPH akan berubah menjadi kuning yang kemudian panjang gelombangnya diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Prakash dkk., 2001). Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C

Sampel	Seri Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (%)
Vitamin C	1	0,748	21,180	21,075
		0,749	21,075	
		0,750	20,969	
	2	0,746	21,391	21,250
		0,748	21,180	
		0,748	21,180	
	3	0,607	36,038	36,003
		0,607	36,038	
		0,608	35,933	
	4	0,574	39,515	39,480
		0,574	39,515	
		0,575	39,410	
	5	0,572	39,726	39,656
		0,573	39,621	
		0,573	39,621	

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel uji jantung pisang mas maka semakin besar pula aktivitas

penangkal radikal DPPH, sehingga absorbansi yang dihasilkan semakin turun. Potensi aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilihat dari

penurunan nilai absorbansi yang disebabkan karena semakin meningkatnya nilai persen (%) aktivitas antioksidan sampel uji pada berbagai konsentrasi. Perubahan warna pada sampel yang awalnya berwarna ungu semakin memudar dan menjadi agak kekuningan. Hal ini terjadi karena senyawa pada sampel yang bereaksi mendonorkan atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil (Molyneux, 2004).

Kurva regresi linier antara seri konsentrasi dengan aktivitas antioksidan pada vitamin C memiliki persamaan regresi linier $y = 5,539x + 14,875$ dengan nilai koefisien (r) sebesar 0,918. Regresi linier antara seri konsentrasi ekstrak etanol dengan aktivitas diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,438x + 19,891$ dengan nilai koefisien (r) = 0,988. Fraksi etil asetat ekstrak etanol jantung pisang mas dengan persentase aktivitas antioksidan diperoleh hasil $y = 0,522x + 20,699$ dengan nilai r sebesar 0,977. Regresi linier dari fraksi air adalah $y = 0,146x + 20,632$ dengan nilai koefisien (r) sebesar 0,999. Nilai koefisien korelasi (r) ekstrak etanol lebih besar dari nilai

r tabel $n = 5$ yaitu 0,878 (taraf kepercayaan 95%) yang bermakna adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol dengan presentase aktivitas antioksidan (Riwidikdo, 2012). Hasil perhitungan nilai IC_{50} vitamin C, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jantung pisang mas dapat dilihat pada Tabel 3.

Blois (1958) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan suatu senyawa dilihat dari nilai IC_{50} , dikatakan aktivitasnya sangat kuat apabila kurang dari 50 ppm; 50-100 ppm (kuat); 100-150 ppm (sedang); dan 151-200 ppm (lemah). Berdasarkan Tabel 3 nilai IC_{50} vitamin C, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan air jantung pisang mas secara berurutan yaitu 6,341; 68,742; 56,132, dan 201,151 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan air jantung pisang mas lebih besar dibanding dengan nilai IC_{50} vitamin C, semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Aktivitas antioksidan lemah yang dihasilkan dari fraksi air ekstrak etanol jantung pisang mas diduga karena kandungan gula yang cenderung larut air. Glikosida

flavonoid kurang efektif sebagai bentuk aglikonnya (Pokorni dkk., antioksidan jika dibanding dengan 2001)

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air jantung pisang mas

Sampel	Seri Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (%)
Ekstrak Etanol	5	0,729	23,181	22,304
		0,741	21,918	
		0,742	21,812	
	10	0,717	24,447	24,447
		0,717	24,447	
		0,717	24,447	
	15	0,701	26,133	26,098
		0,701	26,133	
		0,702	26,027	
	20	0,684	27,924	27,924
		0,684	27,924	
		0,684	27,924	
	25	0,650	31,507	31,507
		0,651	31,401	
		0,649	31,612	
Fraksi Etil Asetat	4	0,731	22,972	22,655
		0,734	22,655	
		0,737	22,339	
	8	0,702	26,027	25,676
		0,706	25,606	
		0,708	25,395	
	12	0,696	26,660	26,449
		0,698	26,449	
		0,700	26,238	
	16	0,677	28,662	28,240
		0,682	28,135	
		0,684	27,924	
	20	0,645	32,034	31,823
		0,647	31,823	
		0,649	31,612	
Fraksi Air	5	0,747	22,972	21,426
		0,744	22,655	
		0,746	22,339	
	10	0,736	26,027	22,058
		0,740	25,606	
		0,743	25,395	
	15	0,731	26,660	22,761
		0,733	26,449	
		0,735	26,238	
	20	0,726	28,662	23,533
		0,724	28,135	
		0,727	27,924	
	25	0,712	32,034	24,342
		0,719	31,823	
		0,723	31,612	

Absorbansi kontrol (larutan DPPH 0,1 mM) = 0,949

Tabel 3. Perbandingan nilai IC₅₀ vitamin C, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan air jantung pisang mas

Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
Vitamin C	6,341
Ekstrak Etanol Jantung Pisang Mas	68,742
Fraksi Etil Asetat Jantung Pisang Mas	56,132
Fraksi Air Jantung Pisang Mas	201,151

Kesimpulan

Ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jantung pisang mas (*Musa acuminata* Colla) mempunyai aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol dan fraksi etil asetat jantung pisang mas sebesar 68,742 dan 56,132 µg/ml yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat. IC₅₀ Fraksi air ekstrak etanol jantung pisang mas 201,151 µg/ml menunjukkan aktivitas antioksidan lemah.

Daftar Pustaka

- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI Press.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1(1):1199-200.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gunawan, D. dan Mulyani, A. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harborne, J.B. 1984. *Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plants Analysis. Edisi kedua*. New York: Cham and Hall Ltd.
- Haven, M.C., Tetrault, G.A., dan Schenken, J.R. 1995. *Laboratory Instrumentation*. Edisi keempat. Kanada: John Wiley & Sons, Inc.
- Kusumaningtyas, D.R., Rengga, W.D.P., dan Suyitno, H. 2010. Pengolahan limbah tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) menjadi dendeng dan abon jantung pisang sebagai peluang wirausaha baru bagi masyarakat pedesaan. *Rekayasa*, 8(2):1-5.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol.*, 26(2):211-219.
- Pokorni, J., Yanishlieva, N., dan Gordon, M. 2001. *An Antioxidant in Food Practical Application*. England: Woddhead Publishing Ltd.
- Prakash, A., Rigelhof, F. dan Miller, E. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 19(2):1-4.
- Riwidikdo, H. 2012. *Statistik Kesehatan Belajar Mudah Teknik Analisis Data dalam Penelitian Kesehatan*

- (Plus *Aplikasi Software SPSS*). Cetakan Keempat. Yogyakarta: Mitra Cendikia Press.
- Singh, S. dan Prakash, P. 2015. Evaluation of antioxidant activity of banana peels (*Musa acuminata*) extracts using different extraction methods. *Chem. Sci. Trans.*, 4 (1):158-160.
- Sowmia, C., Kaviya., Priya, T., dan Priya. 2014. Evaluation of antioxidant, antimicrobial, antitumour and antinociceptive activities of *Musa acuminata* and *Bauhinia variegata*. *SIRJ-APBBP*, 1(4):15-27.
- Sumathy, V., Lachumy, S.J., Zakaria, Z., dan Sasidharan, S. 2011. *In vitro* bioactivity and phytochemical screening of *Musa acuminata* flower. *Pharmacologyonline*, 2:118-127.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.