

## Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* Sapiantum)

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak metanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* Sapiantum). Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi bertingkat dilakukan terhadap ekstrak metanol dengan *n*-heksana dan etil asetat. Dari uji fitokimia terhadap fraksi metanol menunjukkan positif flavonoid. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan reaksi oksidasi asam linoleat dengan metoda feritiosianat (FTC) 0,05%. Sebagai standar antioksidan digunakan butil hidroksianisol (BHA). Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang tidak jauh berbeda dengan BHA, sedangkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada BHA.

**Kata kunci :** antioksidan, feritiosianat, *Musa paradisiaca* Sapiantum

### Abstract

A research has been done to evaluate the antioxidant activity of methanol extract *Musa paradisiaca* Sapiantum peel's. Maseration technique was used to get the extract using methanol as solvent. The methanol extract of the peel was re-extracted by solvents into *n*-hexan and ethyl acetate fractions. Phytochemical screening of methanol extract showed positive flavonoid. The antioxidant activities were tested by using ferric thiocyanate method 0.05% (FTC) on linoleic acid and buthylhydroxyanisole (BHA) as antioxidant standard. Methanol extract, *n*-hexan and ethyl acetate fraction exhibited antioxidative activity that was not significantly different from BHA, on the other hand, the ethyl acetate fraction exhibited significant antioxidative activity, which is better than BHA.

**Keywords :** antioxidant, ferric thiocyanate, *Musa paradisiaca* Sapiantum

## 1. PENDAHULUAN

Peroksidasi lipid merupakan salah satu faktor utama penyebab kerusakan makanan selama pengolahan dan penyimpanan, oleh karena itu penambahan antioksidan merupakan suatu cara yang umum dilakukan untuk mengawetkan lemak atau bahan-bahan pangan berlemak. Disamping itu dalam sistem biologis peroksidasi lipida seringkali dikaitkan dengan beberapa penyakit degeneratif seperti penuaan, kanker, katarak dan lain sebagainya. Karena itu antioksidan dianggap dapat melindungi penyakit karena oksidasi lipida tersebut (Santoso,dkk. 2000)

Antioksidan - antioksidan yang sering ditambahkan pada minyak atau pada waktu pengolahan bahan pangan berlemak adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), dan propil galat (PG). Meskipun cukup

efektif namun antioksidan-antioksidan sintetik ini sekarang penggunaannya cenderung dihindari karena dicurigai mempunyai pengaruh jelek terhadap kesehatan tubuh (Trilaksani, 2003). Oleh karena itu, antioksidan alami mendapat perhatian yang lebih besar.

Tanaman pisang (*Musa*, sp.), merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak terdapat di Indonesia, tetapi masih belum memiliki acuan informasi yang lengkap, baik dari segi fitokimia maupun dari segi farmakologi guna dimanfaatkan secara optimal. Pemanfaatan pisang sebagai bahan industri belum populer dan yang dikenal sampai saat ini masih terbatas pada buahnya. Pengolahan bagian lainnya yang berupa limbah seperti batang, daun, kulit buah dan sebagainya masih sedikit sekali. Penelitian terdahulu terhadap pisang *Musa cavendish* dari Filipina, telah berhasil diisolasi salah satu jenis antioksidan yaitu gallokatekin yang

kandungannya ternyata lebih banyak terdapat dalam kulit daripada buah. Selain itu, aktivitas antioksidan bagian kulit lebih kuat daripada buah (Someya S, dkk, 2002).

Pada penelitian ini dilakukan uji pendahuluan aktivitas antioksidan terhadap kulit buah pisang mas, pisang raja, dan pisang ambon. Hasilnya menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada ketiga jenis kulit buah pisang tersebut, dan kulit buah pisang raja memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat. Berdasarkan hal tersebut di-atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan terhadap kulit buah pisang raja. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan hasil fraksinasi kulit buah pisang raja (*Musa paradisiaca* Sapientum).

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah beker gelas, corong pisah, Erlenmeyer, gelas ukur, kertas saring, spatula, pipet tetes, aluminium foil, oven, neraca analitis, spektrometer 20D, rotary evaporator R-144 Buchi dengan sistem vakum Buchi B-169, corong burner, vial-vial, mikropipet, alat filtrasi (*vacuum system*), blender, plat tetes.

Bahan yang digunakan adalah kulit pisang raja, metanol, aquades, *n*-heksana, etil asetat, etanol, asam linoleat, buffer fosfat, amonium tiosianat, feriklorida dalam 30% asam klorida, BHA, pereaksi-pereaksi Lieberman-Burchard, Mayer, Dragendorff, Wagner, logam Mg, HCl, NaOH 10%.

Sampel pisang raja yang matang dibeli di Pasar Cinde, Palembang Sumatera Selatan. Kulit pisang diambil sebanyak 300 gram dan dibersihkan dari pengotor.

### Identifikasi Kandungan Fitokimia (Farnsworth, N.H, 1996)

Dilakukan empat uji fitokimia, yaitu uji alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpen, dan saponin.

#### 1. Identifikasi Alkaloid.

Contoh tumbuhan sebanyak 2 - 4 gram digerus dalam lumpang, ditambah sedikit kloroform dan pasir. Kemudian ditambahkan 10

mL larutan 0,05 N amonia dalam kloroform. Campuran dikocok selama 1 menit, kemudian disaring ke dalam tabung reaksi. Kedalam filtrat tambahkan 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N dan dikocok dengan teratur, biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipisahkan dan diuji dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan kuning kecoklatan dengan pereaksi Wagner, dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff.

#### 2. Identifikasi steroid dan triterpenoid.

Pereaksi Lieberman-Burchard terdiri dari larutan asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrit yang disimpan dalam botol yang terpisah. Sampel ditetesi dengan pereaksi Lieberman - Burchard ditandai dengan warna merah jingga atau ungu positif triterpenoid sedangkan warna biru atau hijau positif steroid.

#### 3. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan dua cara yaitu :

a. uji dengan pereaksi Shinoda (serbuk logam Mg + HCl). Contoh sebanyak 0,5 gram kulit pisang yang telah dihaluskan diekstraksi dengan 5 mL etanol panas selama 5 menit dalam tabung reaksi. Selanjutnya hasil ekstraksi disaring dan kepada filtratnya ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Setelah itu dimasukkan kurang lebih 0,2 mg serbuk logam Mg. Bila timbul warna merah tua menandakan adanya flavonoid.

b. Uji dengan NaOH 10%. Ke-dalam ekstrak etanol yang diperoleh dengan cara di-atas, ditambahkan 2 tetes NaOH 10%. Adanya flavonoid ditandai dengan perubahan warna kuning-oranye-merah.

#### 4. Identifikasi Saponin (uji busa)

Kulit pisang ditambahkan air suling sehingga seluruh bagian terendam dan dididihkan selama 2 menit. Setelah itu didinginkan dan kocok kuat-kuat. Bila timbul buih/busa yang stabil menunjukkan adanya saponin.

### Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Antioksidan

Kulit pisang raja sebanyak 300 gram dihaluskan dengan blender sehingga terbentuk bubur. Bubur kulit pisang raja dimasukkan dalam wadah dan diekstraksi dengan cara

maserasi. Maserasi dilakukan dengan pelarut metanol (3x200 mL) selama 4 hari.

Filtrat yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak metanol ini diuji aktivitas antioksidannya dengan metode FTC dan selanjutnya dipartisi cair - cair *n*-heksana (3 x 50 mL) dan etil asetat (3 x 50 mL). Tiap fraksi diuapkan pelarutnya dan diuji aktivitas antioksidannya dengan metode FTC.

### Metode FTC: Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-heksana dan Etil Asetat (Someya S, dkk)

Preparasi sampel: ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat kulit pisang raja dibuat larutan dengan berat per volume 0,01 g/ml dilarutkan dalam pelarut etanol 99,5%. Sebagai pembanding digunakan BHA dengan berat per volume 0,01 gr/ml dilarutkan dalam pelarut etanol 99,5%. Masing-masing larutan (sampel dan pembanding) diambil sebanyak 4 mL, ditambahkan dengan 4,1 mL asam linoleat 2,51% dalam etanol 99,5%, 8 mL bufer fosfat 0,05M pH 7 dan 3,9 mL air destilasi. Terhadap kontrol, dilakukan prosedur yang sama tetapi tidak ada penambahan sampel. Campuran sampel, pembanding dan kontrol tersebut disimpan dalam oven pada suhu 40°C selama 10 menit.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap kulit pisang raja ditunjukkan dalam tabel dibawah ini :

Metabolit Sekunder	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Steroid	-
Triterpenoid	-
Saponin	+

Keterangan :

- (-) : tidak terdeteksi  
(+) : terdeteksi

Tabel 1 di-atas memperlihatkan bahwa pada kulit pisang raja terkandung senyawa flavonoid dan senyawa saponin. Pada umumnya senyawa antioksidan mempunyai struktur inti

yang sama, yaitu mengandung cincin benzena yang memiliki gugus hidroksil atau amino (Ketaren, 1986).

### Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Antioksidan

Ekstraksi 300 gram bubuk kulit pisang raja dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol menghasilkan ekstrak pekat metanol sebanyak 0,1881 gram dari 10 mL ekstrak metanol yang diuapkan. Setelah fraksinasi didapatkan fraksi *n*-heksana pekat sebanyak 0,0888 gram dari 10 mL fraksi *n*-heksana yang diuapkan. Dan fraksi etil asetat sebanyak 0,021 gram dari 10 mL fraksi etil asetat yang diuapkan.

Pelarut metanol merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam ekstraksi senyawa-senyawa organik, karena metanol dapat mengikat senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar. Oleh karena itu, ekstrak metanol merupakan ekstrak yang paling banyak di antara ketiganya. Dalam pelarut *n*-heksana, berat ekstrak yang didapatkan adalah 47,2% dibandingkan dengan ekstrak metanol. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak kulit pisang raja mengandung senyawa non polar yang cukup banyak. Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar, dan diharapkan senyawa yang bersifat antioksidan terdapat didalam fraksi ini. Bila dilihat dari jumlah ekstrak yang didapatkan, maka fraksi etil asetat memiliki berat yang paling sedikit diantara ketiganya.

### Aktivitas Antioksidan Kulit Pisang Raja

Peroksidasi lipid merupakan penyebab utama kerusakan makanan selama pengolahan dan penyimpanan, juga dalam sistem biologis karena disebabkan oleh terbentuknya radikal bebas pada kondisi teroksidasi. Aktivitas antioksidan pada bahan alam tergantung dari senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman tersebut. Umumnya, antioksidan alami dapat ditemukan di batang, kulit batang, akar, kulit akan, buah, kulit buah, daun, biji, dan bunga. Senyawa-senyawa ini kebanyakan adalah senyawa fenol atau polifenol, turunan asam sinamat dan asam organik lainnya.

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit pisang raja dilakukan dengan menggunakan metode feritiosianat (FTC). Pengujian pada sistem ini didasarkan pada kemampuan zat antioksidan untuk menghambat terbentuknya warna yang ditandai dengan kemampuannya mempertahankan nilai absorbansi. Metoda ini menggambarkan jumlah peroksida yang terbentuk pada tahap awal dari oksidasi lipida atau sering disebut produk primer (Purwono, 2003). Terbentuknya peroksida merupakan awal dari reaksi oksidasi, bila zat antioksidan dapat menghambat terbentuknya peroksida, maka antioksidan tersebut dapat menghambat laju reaksi oksidasi.

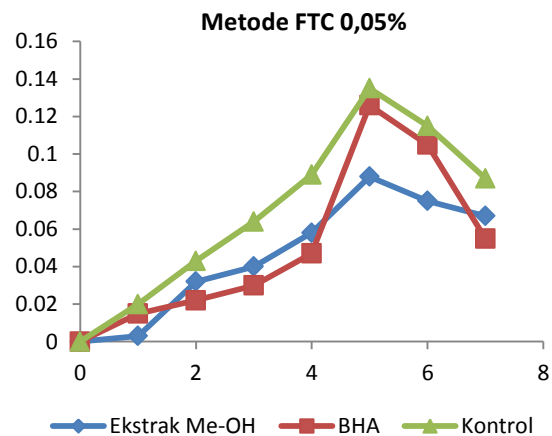
Nilai absorbansi yang rendah mengindikasikan tingginya aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Absorbansi Ekstrak Metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat kulit Pisang Raja, BHA, dan Kontrol.

Hari ke-	Kontrol	BHA	Ekstrak Me-OH	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi Et-OAc
0	0	0	0	0	0
1	0.020	0.015	0.003	0.015	0.013
2	0.043	0.022	0.032	0.021	0.020
3	0.064	0.030	0.040	0.039	0.021
4	0.089	0.047	0.058	0.047	0.023
5	0.135	0.126	0.088	0.111	0.054
6	0.115	0.105	0.075	0.063	0.039
7	0.087	0.055	0.067	0.057	0.020

### Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol

Gambar 1 menunjukkan hasil pengukuran absorbansi kontrol, BHA, dan sampel yaitu ekstrak metanol kulit pisang raja. Gambar ini menunjukkan absorbansi dari kontrol yang terus meningkat hingga hari kelima dan mulai turun pada hari keenam. Pada hari pertama dan kedua merupakan tahap awal dari proses oksidasi dan tahap terbentuknya peroksida, absorbansi kontrol terus meningkat. Absorbansi BHA juga meningkat tetapi bila dilihat dari grafik tersebut peningkatannya tidak terlalu tinggi. Pada sampel, absorbansi pada hari pertama sangat rendah, hal ini menunjukkan rendahnya pembentukan peroksida, tetapi terjadi peningkatan absorbansi yang signifikan pada



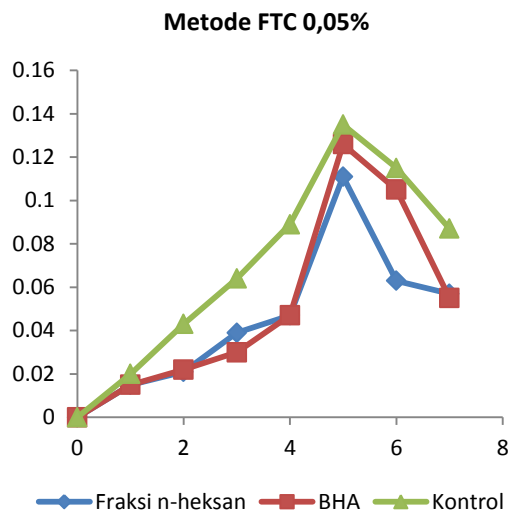
**Gambar 1.** Hasil pengukuran absorbansi ekstrak metanol, BHA, dan kontrol. Sumbu x menunjukkan hari dan sumbu y menunjukkan absorbansi.

hari kedua. Peningkatan ini menunjukkan terbentuknya peroksida dalam jumlah yang sangat besar, tetapi masih lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol.

Pembentukan peroksida ini akan terus terjadi, hingga mencapai maksimum dan akhirnya mengalami dekomposisi. Degradasi lemak yang teroksidasi meliputi sejumlah persenyawaan baru, tetapi senyawa baru yang terbentuk akan berbeda dari senyawa awalnya. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa absorbansi mencapai maksimum pada hari kelima, yang menunjukkan pembentukan peroksida terus terjadi hingga hari kelima. Pada hari keenam mulai terjadi dekomposisi peroksida, peroksida yang terbentuk akan berikatan dengan senyawa radikal lainnya hingga membentuk senyawa baru yang stabil, dan jumlah peroksida mulai menurun. Pada hari ketujuh, peroksida yang terbentuk terus berikatan dengan senyawa radikal lainnya sehingga jumlah peroksida terus menurun.

### Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan

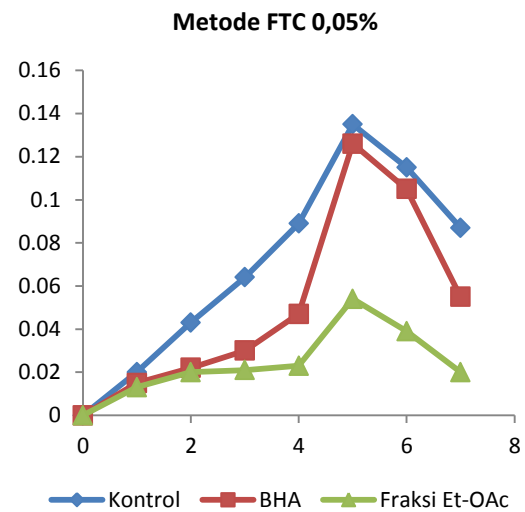
Gambar 2 menunjukkan absorbansi fraksi *n*-heksana bila dibandingkan dengan kontrol dan BHA. Gambar ini mengilustrasikan absorbansi sampel pada hari pertama dan kedua hampir sama dengan BHA, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan sampel dalam menghambat pembentukan peroksida hampir sama dengan



**Gambar 2.** Absorbansi sampel fraksi n-heksan, BHA dan kontrol

BHA. Pada hari ketiga, absorbansi sampel lebih tinggi dibandingkan dengan BHA yang mengindikasikan adanya peningkatan jumlah peroksida yang terbentuk, dan kemampuan BHA dalam menghambat pembentukan peroksida lebih tinggi dari sampel. Pada hari keempat, absorbansi antara BHA dan sampel pun hampir sama, tetapi pada hari kelima, absorbansi sampel lebih rendah daripada BHA. Penurunan absorbansi yang cukup signifikan menunjukkan peroksida yang terbentuk berikatan dengan radikal bebas lainnya membentuk senyawa yang baru. Sampel fraksi *n*-heksana ini juga mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan bila dilihat dari kemampuannya untuk menghambat terbentuknya peroksida walaupun tidak jauh lebih baik dari BHA.

Sampel fraksi *n*-heksana bila dibandingkan dengan ekstrak metanol, maka kemampuan fraksi *n*-heksana pada hari pertama proses oksidasi lebih rendah bila dibandingkan dengan ekstrak metanol. Tetapi pada hari berikutnya sampai dengan hari keempat, absorbansi fraksi *n*-heksana lebih rendah. Hal ini menunjukkan kemampuan fraksi *n*-heksana lebih tinggi dari ekstrak metanol. Pada hari kelima, absorbansi fraksi *n*-heksana lebih tinggi dari ekstrak metanol namun tetap lebih rendah dari BHA. Hal ini menunjukkan adanya kemampuan fraksi *n*-heksana sebagai senyawa antioksidan.



**Gambar 3.** Absorbansi fraksi etil asetat, BHA, dan kontrol

#### Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Berdasarkan Gambar 3, absorbansi sampel fraksi etil asetat lebih rendah daripada BHA dan kontrol. Sampel fraksi etil asetat pada hari pertama hingga hari ketujuh absorbansinya lebih rendah dari BHA. Hal ini menunjukkan kekuatan fraksi etil asetat dalam menghambat terbentuknya peroksida lebih tinggi dari BHA. Ternyata, senyawa antioksidan yang terdapat pada sampel fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan BHA.

#### Perbandingan Absorbansi Ekstrak Metanol, Fraksi N-heksan dan Fraksi Etil Asetat

Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat ternyata memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan warna pada pengujian dengan metode FTC, yang mengindikasikan adanya kemampuan dalam menghambat terjadinya pembentukan peroksida yang berarti memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Tetapi, bila dibandingkan ternyata yang memiliki kemampuan paling besar sebagai penghambat pembentukan senyawa peroksida adalah fraksi etil asetat.

## 4. KESIMPULAN

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut: fraksi etil asetat kulit pisang raja (*Musa paradisiacal Sapientum*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksana. Namun aktivitas antioksidan ketiganya relatif lebih baik bila dibandingkan dengan BHA sebagai antioksidan sintetis.

#### **Saran**

Perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengelucidasi struktur senyawa tersebut dengan menggunakan GC-MS, IR, NMR dan UV-Vis serta pengujian lanjutan terhadap aktivitas antioksidan dengan menggunakan metoda uji yang berbeda.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Farnsworth, N.H, Biological and Phytochemical Screening Plant, Pharm Science, 1996, 245-246.
- Ketaren, S., Minyak dan Lemak Pangan, Edisi 1, Jakarta, UI Press, 1986.
- Purwono, B., et all, Sintesis Antioksidan dari Eugenol dan Isoeugenol Melalui Reaksi Mannich, Gama Sains Vol.1., (2003) 55-64
- Santoso, U., Sukardi, Anggrahini, S., Pengaruh Pemanasan Terhadap Daya Tangkap Radikal Ekstrak Beberapa Macam Rimpang, Seminar Nasional Industri Pangan: (2000) 119-127.
- Someya, S., Yoshiki, Y., and Okubo K., Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*), food chemistry, Vol. 79 (2002), 351-354.
- Trilaksani, W, Disertasi Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja, dan Peran terhadap Kesehatan, IPB, [www.yahoo.com](http://www.yahoo.com), 2003.