

UJI AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DPPH OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN PISANG TANDUK (*MUSA PARADISIACA VAR. FORMATYPICA*) DAN DAUN PISANG CAVENDISH (*MUSA PARADISIACA VAR. SAPIENTUM*)

Tiyas Putri Nugraheni^{1,a}, Vivin Rosvita^{1,b}, Husnun Khairunnisa Pratiwi^{1,c}

¹STIKES Muhammadiyah Kudus

Jurusan S-1 Farmasi

Jl. Ganesha I Purwosari, Kudus, Indonesia

^atiyasputrin@stikesmuhkudus.ac.id

^bvivinrosvita@stikesmuhkudus.ac.id

^cHusnunkhp@stikesmuhkudus.ac.id

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas penangkapan radikal bebas oleh ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish. Daun pisang mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin yang berpotensi sebagai penangkal radikal bebas. **Ekstrak** dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut 70%. Uji penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan secara spektrofotometri visibel terhadap ekstrak dengan pembanding kuersetin. Aktivitas penangkapan radikal bebas dinyatakan sebagai persen peredaman dan ES₅₀. **Hasil** penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, saponin, terpenoid, serta mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas DPPH. Ekstrak etanol daun pisang Tanduk mempunyai nilai ES₅₀ sebesar 104,36 (μg/ml), ekstrak etanol daun pisang Cavendish memiliki nilai ES₅₀ sebesar 157,36 (μg/ml), sedangkan standar kuersetin mempunyai nilai ES₅₀ sebesar 2,86 (μg/ml). **Hasil** analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara persen penangkapan radikal bebas kuersetin, ekstrak daun pisang Tanduk, dan ekstrak daun pisang Cavendish.

Kata Kunci: Radikal bebas, antioksidan, ekstrak daun pisang tanduk, ekstrak daun pisang cavendish

Abstract

*Has done research about free radical scavenging activity of ethanolic extract *Musa paradisiaca var formatypica* and *Musa paradisiaca var sapientum* leaf. Banana leaf contain phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, tannin, and saponin as a free radical scavenging. Extracts were prepared by maceration method using ethanol 70% as solvent. DPPH free radical scavenging activity was performed by spectrophotometry visible to extracts with quercetin as the comparison. The free radical scavenging activity was expressed by percent reduction and ES50. Study result showed that ethanol extract of banana leaf and Cavendish leaf containing flavonoids, polyphenols, tannins, saponins, terpenoids and had antioxidant activity also DPPH free radical scavenging activity. The ES50 value ethanol extract of banana leaf is 104.36 (μg / ml), ethanol extract of Cavendish leaf is 157.36 (μg / ml), whereas quercetin is 2.86 (μg / ml). Statistical analysis result showed a significant difference between percent of free radical scavenging activity of quercetin, banana leaf extract and Cavendish leaf extract.*

Keywords: Free radical, antioxidant, extract banana leaf, extract cavendish leaf

I. PENDAHULUAN

Radikal bebas sebenarnya terbentuk di dalam tubuh setiap saat dalam berbagai kegiatan, bahkan ketika sedang bernafas. Kerusakan akibat radikal bebas dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup

(winarsih, 2007). Salah satu contoh radikal bebas adalah DPPH yang memiliki elektron tak berpasangan.

Untuk meredam adanya radikal bebas dibutuhkan suatu senyawa antioksidan. Berdasarkan sumber perolehan, antioksidan dibagi menjadi 2 macam, yaitu antioksidan

sintetik seperti BHA, BHT, dan antioksidan alami seperti flavonoid, karetenoid (Zhang & Hamauzu, 2004).

Indonesia dikenal sebagai kawasan pisang di dunia (Okawa, dkk., 2001). Pisang Tanduk merupakan pisang yang khas tumbuh di daerah Gunung Muria, Kudus dan belum dibudidayakan dengan baik di tempat lain, sedangkan pisang Cavendish merupakan pisang yang banyak diminati di daerah Kudus (Kholidin & Anik, 2011) karena rasanya yang manis. Hanya saja pertumbuhan pisang Cavendish sangat jarang dijumpai di Gunung Muria, karena jenis pisang ini tidak dapat tumbuh di dataran tinggi dengan ketinggian di atas 1600m dpl (Sinaga, 2010).

Selain buahnya, masyarakat Indonesia memanfaatkan daun pisang sebagai pembungkus makanan. Daun pisang Tanduk merupakan jenis daun yang banyak digunakan oleh masyarakat Kudus karena dapat menghasilkan aroma yang sedap dibandingkan dengan daun pisang Cavendish yang menghasilkan rasa lebih getir pada masakan. Adanya aroma sedap dikarenakan kandungan flavonoid berupa senyawa EGCG (Epigalokatekin galat) yang banyak terkandung dalam tanaman pisang. Epigaokatekin galat merupakan suatu antioksidan alami yang dapat menangkal radikal bebas DPPH dengan menyumbangkan satu atom hidrogennya (Rahmadianti, 2012).

Uji penangkapan radikal bebas DPPH merupakan metode terpilih untuk menapis aktivitas antioksidan dari bahan alam (Ming, dkk., 2010). Mengingat banyaknya manfaat daun pisang, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas penangkapan radikal bebas oleh ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish yang ditandai dengan besarnya nilai ES_{50} .

II. LANDASAN TEORI

Pisang banyak mengandung senyawa flavonoid, fenol sederhana, dan tannin terkondensasi. Selain itu juga mengandung serotonin, dopamine, gula pereduksi yang cukup tinggi, mineral dan vitamin (Anonin, 2012; Wina, 2001).

Daun pisang di Indonesia banyak digunakan sebagai pembungkus makanan dan sebagai alas masakan tradisional. Daun

pisang membuat aroma lebih harum dan tidak cepat busuk. Aroma sedap yang ditimbulkan disebabkan adanya polifenol yang keluar ketika meletakkan masakan panas di atasnya. Adanya zat lilin pada daun pisang menyebabkan makanan berkuah tidak tumpah ketika diletakkan di atasnya (Hidayat, 2014). Kandungan serotonoin pada pisang berfungsi sebagai antistres. Vitamin B dan vitamin E yang berfungsi untuk menjaga kelembapan kulit, banyak dimanfaatkan oleh ahli kecantikan sebagai alternatif terapi relaksasi. Aroma sedap yang dikeluarkan daun pisang cocok digunakan untuk menenangkan pikiran (Anonim, 2007).

Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan metode untuk menguji aktivitas antioksidan yang sederhana. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil oleh adanya delokalisasi elektron pada molekulnya. Delokalisasi ini ditandai dengan adanya warna ungu yang dapat diserap pada 517 nm. Warna ini akan berubah menjadi kuning pucat apabila DPPH berikatan dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogennya (Molyneux, 2004).

III. METODE PENELITIAN

Penelitian ini berupa penelitian experimental yang bertujuan untuk menjelaskan pengaruh antar variabel bebas (variasi daun antar varian pisang) dengan variabel terikat yaitu daya penangkapan radikal bebas dinyatakan dalam nilai ES_{50} .

Sampel yang digunakan adalah daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish yang diperoleh dari kebun pisang di Desa Dawe, Gunung Muria, Kudus (Jawa Tengah) pada bulan Desember 2014 – Januari 2015.

Daun pisang segar dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran, kemudian dirajang kecil-kecil dengan bantuan pisau.

Daun pisang Tanduk dirajang kecil-kecil menggunakan bantuan pisau. Rajangan daun ditimbang sebanyak 50 gram kemudian dimasukkan ke dalam gelas bekker yang telah dilapisi *alumunium foil* dan direndam dengan etanol 70% sebanyak 100 ml dengan pengadukan menggunakan *ultrasonic* selama 30 menit. Setelah itu didiamkan selama 3 jam sambil sesekali diaduk. Maserat disaring

dengan corong *Buchner* yang dihubungkan dengan vakum. Ampas penyarian pertama diremerasi sebanyak 2 kali dengan etanol 70% yang baru. Filtrate dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan penguapan dengan bantuan *waterbath*.

Standarisasi ekstrak meliputi karakteristik secara fisik yaitu organoleptik dan rendemen. Sedangkan karakteristik secara kimia meliputi kadar air dan kadar abu. Skrining fitokimia meliputi skrining flavonoid, polifenol, tannin, terpenoid, saponin, dan alkaloid.

Tahapan uji aktivitas penangkapan radikal bebas, meliputi:

1. Penentuan operating time
2. Penentuan panjang gelombang
3. Uji aktivitas penangkapan radikal bebas

Data yang diperoleh kemudian dibandingkan antara control positif, ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish. Dihitung persen penangkapan radikal bebas dengan rumus :

$$\% \text{ penangkapan} =$$

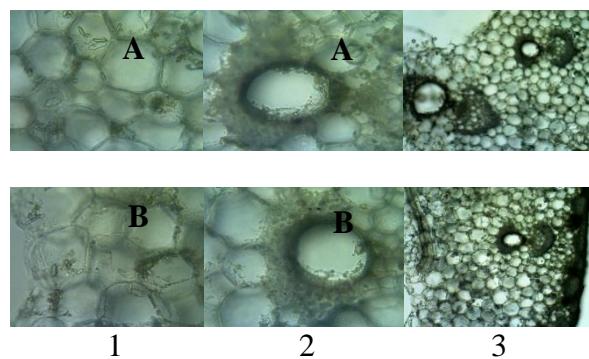
$$\left(\frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \right) \times 100$$

Data persen penangkapan radikal bebas yang diperoleh dan konsentrasi senyawa uji, digunakan untuk membuat persamaan regresi linier untuk guna menentukan harga ES_{50} . Selanjutnya dianalisis menggunakan SPSS dengan uji normalitas dan homogenitas pada taraf kepercayaan 95%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil didapatkan 5 isolat bakteri simbion. Dari 5 koloni bakteri tersebut diambil 1 koloni bakteri yang mengandung pigmen karotenoid yang berwarna orange dengan kode CBSCP 23. Koloni bakteri tersebut kemudian dimurnikan hingga didapatkan koloni tunggal yang disajikan pada gambar 1.

Berdasarkan pemeriksaan mikroskopik dari daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish terlihat pada penampang melintang parenkim bentuk rafida, aerenkim, dan sklerenkim.



Gambar 1. Fragmen pengenal daun pisang Tanduk (A) dan daun pisang Cavendish (B)

Keterangan : 1. Parenkim bentuk rafida
2. Aerenkim
3. Sklerenkim

Standarisasi ekstrak diperlukan untuk menjaga mutu ekstrak sehingga ekstrak dapat terpenuhi sebagai produk kefarmasian. Standarisasi ekstrak dilakukan dengan mengamati karakteristik sifat fisik secara organoleptis. Karakteristik sifat fisik ekstrak pada penelitian ini adalah sebagaimana tertera pada tabel I.

Tabel I. Hasil Pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish

Ekstrak	Warna	Bau	Konsistensi
Ekstrak Etanol Daun pisang Tanduk	hijau pekat	Khas	Kental
Ekstrak Etanol Daun pisang Cavendish	hijau pekat	Khas	Kental

Tabel II. Hasil rendemen ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish

Sampel	Bobot Daun Basah (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Randemen (%)
Daun pisang Tanduk	55,7145	4,5102	8,09%
Daun pisang Cavendish	59,8653	4,9490	8,27 %

Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dibandingkan bobotnya dengan simplisia awal yang digunakan. Perbandingan dalam persen menyatakan nilai randemen dari ekstrak tersebut. Hasil rendemen ekstrak tertera pada tabel II.

Kadar air dan kadar abu ekstrak pada penelitian ini adalah sebagaimana tercantum pada tabel III.

Tabel III. Kadar air dan kadar abu ekstrak etanol daun pisang dan daun Cavendish.

Sampel	Kandungan air	Kandungan abu
Ekstrak etanol daun pisang	0,908 %	34,36
Tanduk		
Ekstrak etanol daun pisang	1,488 %	38,45
Cavendish		

Setelah dilakukan skrining fitokimia, ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tannin, alkaloid dan saponin, tidak mengandung terpenoid.

Tabel IV. Persen penangkapan radikal bebas DPPH dan nilai ES₅₀ larutan kuersetin.

N o	% Penangkapan radikal bebas						ES ₅₀ (μ g/ ml)
	3,5 μ g/ ml	3 μ g/ ml	2,5 μ g/ ml	2 μ g/ ml	1,5 μ g/ ml	1 μ g/ ml	
1.	58,8 4	47,5 5	45,8 4	35, 01	31,4 7	24,2 9	2,97
2.	57,1 3	50,1 7	45,9 5	37, 86	34,0 9	28,5 1	2,93
3.	63,9 7	56,3 3	45,0 4	34, 21	34,0 9	26,6 8	2,69
4.	61,5 7	48,3 5	45,0 4	33, 64	31,8 2	23,6 0	2,90
5.	61,8 0	53,7 1	43,1 0	34, 21	31,8 2	24,6 3	2,82

Tabel V. Persen penangkapan radikal bebas DPPH dan ES₅₀ larutan uji pisang Tanduk

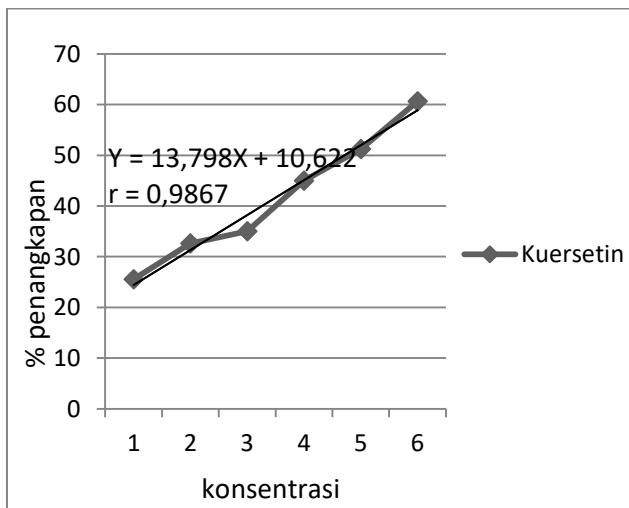
N o	% Penangkapan radikal bebas						ES ₅₀ (μ g/ ml)
	175 μ g/ ml	150 μ g/ ml	125 μ g/ ml	100 μ g/ ml	75 μ g/ ml	50 μ g/ ml	
1.	72,8 4	66,0 5	57,0 4	53, 83	41,2 3	31,8 5	100,7 1
2.	72,1 0	64,9 4	56,0 5	51, 73	40,9 9	31,1 1	103,5 0
3.	71,4 8	64,3 2	56,5 4	51, 48	40,2 5	30,8 6	104,8 7
4.	71,3 6	64,3 2	56,0 5	50, 86	39,8 8	30,7 4	105,6 1
5.	70,9 9	63,0 9	55,8 0	50, 74	39,3 8	30,1 2	107,1 1

Tabel VI. Persen penangkapan radikal bebas DPPH dan ES₅₀ larutan uji pisang Cavendish

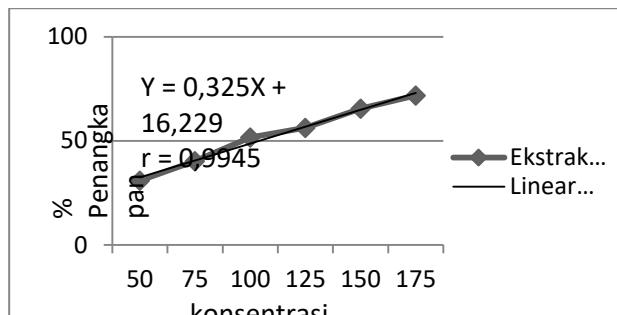
N o	% Penangkapan radikal bebas						ES ₅₀ (μ g/ ml)
	225 μ g/ ml	200 μ g/ ml	175 μ g/ ml	150 μ g/ ml	125 μ g/ ml	100 μ g/ ml	
1.	72,3 5	65,2 6	58,2 8	49,6 9	43,3 4	32,6 3	151,0 1
2.	69,6 1	63,7 6	58,0 3	49,4 4	42,3 4	30,6 3	154,9 8
3.	69,4 9	63,1 4	56,7 9	49,0 7	39,2 3	30,1 4	158,3 3
4.	68,9 9	62,8 8	52,8 0	46,5 8	43,4 6	29,7 6	159,9 8
5.	68,8 7	62,6 4	51,1 8	45,8 3	38,6 0	32,8 8	162,4 9

Kontrol positif kuersetin memiliki ES₅₀ sebesar 2,86 , ekstrak etanol daun pisang Tanduk memiliki nilai ES₅₀ sebesar 104,36 μ g/ml, dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish memiliki nilai ES₅₀ sebesar 157,36 μ g/ml.

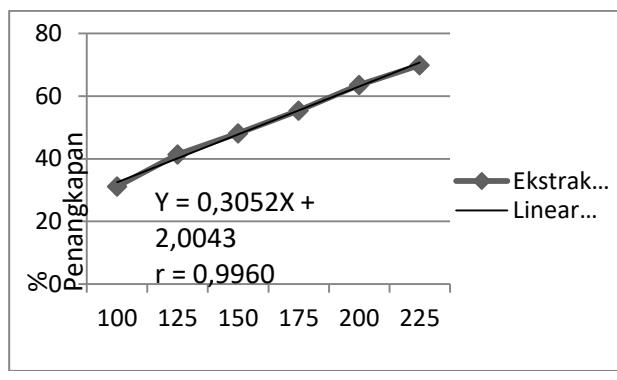
Nilai ES₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa dalam menangkap radikal bebas. Semakin kecil nilai ES₅₀ maka semakin besar suatu senyawa tersebut dalam menangkap radikal bebas sebanyak 50%. Grafik hubungan antara konsentrasi vs persen penangkapan radikal bebas kuersetin, ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish berturut-turut tercantum pada Gambar 4, 5, dan 6.



Gambar 4. Hubungan Konsentrasi vs Persen Penangkapan Radikal DPPH untuk Kuersetin



Gambar 5. Hubungan Konsentrasi vs Persen Penangkapan Radikal DPPH untuk Ekstrak Etanol Daun Pisang Tanduk



Gambar 6. Hubungan antara Konsentrasi vs Persen Penangkapan Radikal DPPH untuk Ekstrak Etanol Daun Pisang Cavendish

Data ES₅₀ senyawa kuersetin maupun ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan daun pisang Cavendish selanjutnya dianalisis secara statistik dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa data terdistribusi normal yang nilai signifikansinya 0,346 lebih besar dari 0,05 dan uji homogenitas dengan uji Levene menunjukkan bahwa data mempunyai varian yang tidak homogen dengan nilai signifikansi 0,012 lebih kecil dari 0,05.

Oleh karena data yang diperoleh terdistribusi normal tapi variannya tidak homogen, maka analisis data selanjutnya dilakukan dengan menggunakan Uji Nonparametrik Kruskall Wallis. Uji ini digunakan untuk menguji median dari suatu variabel apakah sama pada beberapa sampel independen yang ditentukan oleh suatu variabel grup. Hasil uji Uji nonparametrik Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada penangkapan radikal bebas antara kontrol positif kuersetin, ekstrak etanol daun pisang Tanduk dan

ekstrak etanol daun pisang Cavendish, dengan nilai signifikansi 0,002 lebih kecil dari 0,05.

Uji selanjutnya adalah uji Mann Whitney untuk membandingkan hasil perlakuan antar sampel. Dari hasil uji diketahui bahwa semua perlakuan sampel adalah berbeda signifikan. Ini berarti bahwa antara standar kuersetin, ekstrak etanol daun pisang Tanduk, dan ekstrak etanol daun pisang Cavendish memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda bermakna.

V. KESIMPULAN

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara persen penangkapan radikal bebas kuersetin, ekstrak daun pisang Tanduk, dan ekstrak daun pisang Cavendish.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2007). Relaksasi dengan Daun Pisang. Diunduh dari <http://www.femina.co.id/shop.dine/spa.salon/relaksasi.dengan.daun.pisang/007/02/54.html>, pada tanggal 6 Mei 2014.
- Anonim. (2012). Pisang (Segudang Manfaat dari Bonggol Sampai Ujung Pisang). Diakses melalui www.pdpersi.co.id/content/news.php?mid=5&catid=7&nid=826, pada tanggal 3 Juni 2014.
- Hidayat. (2014). Ini Manfaat Membungkus Pakai Daun Pisang. Diakses melalui <http://palembang.tribunnews.com/2014/01/03/ini-manfaat-membungkus-makanan-pakai-daun-pisang>, pada tanggal 14 Juni 2014.
- Kholidin, & Anik. (2011). Pisang Tanduk Khas Colo, diakses melalui http://muriastudies.umk.ac.id/?page_id=478, pada tanggal 6 Mei 2014.
- Ming, L., Jian, Peter H., Lin Qizhi Yao, & Chen, C. (2010). Chemical and Molecular Mechanism of Antioxidants : Experimental Approaches and Model Systems. Journal Cell Molecular Medicine, Author manuscript, 14(4), 840-860.
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrilhydrazyl

- (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. Journal Science Technology, 26(2), 211-219.
- Okawa, M., Junei, K., Toshihiro, N., & Masateru (2001). DPPH Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. Journal Biology Pharmacy Bull, 24(10), 1202-1205.
- Rahmadianti, F. (2012). Bentuk Bungkus Daun Pisang Asli Indonesia, diakses melalui <http://food.detik.com/read/2012/08/23/144315/1997176/297/inilah-12-bentuk-bungkus-daun-pisang-asli-indonesia-1->, pada tanggal 10 Juni 2014.
- Sinaga, N.E. (2010). Tabloid Sinar Tani : PG GMM Lirik Pisang Cavendish, diakses melalui <http://tabloidsinartani.com/content/read/pg-gmm-lirik-pisang-cavendish/>, pada tanggal 1 Mei 2015.
- Wina, E. (2001). Balai Penelitian Ternak: Tanaman Pisang Sebagai Pakan Ternak Ruminansia. Jurnal WARTAZOA, 11(1).
- Winarsih, H. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.
- Zhang, D., & Hamauzu, Y. (2004). Phenolic Compounds and Their Antioxidant Properties and Different Tissue of Carrots (*Daucus L.*). Journal Food Agriculture and Environment, 2(1), 95-100.