

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR KULIT PISANG KEPOK (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) DENGAN METODE ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) PADA BERBAGAI TINGKAT KEMATANGAN

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF PISANG KEPOK SKIN WATER EXTRACT (Musa acuminata x Musa balbisiana (ABB cv)) WITH ABTS METHOD (2.2 azinobis (3-ethylbenzothiazolin) -6-sulfonic acid) IN VARIOUS LEVELS OF MATURITY

Anggi Pantria Saputri¹, Indria Augustina², dan Fatmaria³

Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Palangka Raya, Indonesia

Email: anggi.pantria.1@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dengan elektron yang tidak berpasangan dan cenderung "mencuri" elektron dari atom lain. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu senyawa antioksidan. Antioksidan alami salah satunya didapat dari buah pisang Kepok sebagai antioksidan alami. Kulit pisang Kepok ternyata memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, kuinon, dan terpenoid yang memiliki efek sebagai penangkal radikal bebas. **Tujuan Penelitian :** Untuk mengukur kadar antioksidan kulit pisang Kepok dalam berbagai tingkat kematangan dan mengetahui tingkat kematangan yang paling efektif menghambat pembentukan radikal bebas. **Metode :** Metode maserasi dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Kemudian dilakukan uji menggunakan reagen ABTS dan diukur menggunakan spektrofotometer untuk mengukur panjang gelombang. Nilai absorbansi digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dan menentukan nilai IC50. **Hasil Penelitian :** Nilai IC50 dari tingkat kematangan mentah sebesar 60,50, matang sebesar 95,85, dan sangat matang sebesar 68,74. **Kesimpulan :** Terdapat aktivitas antioksidan yang berbeda pada berbagai tingkat kematangan dan tingkat kematangan mentah adalah yang paling efektif karena memiliki nilai IC50 sebesar 60,50.

Kata Kunci : Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)), radikal bebas, dan antioksidan.

ABSTRACT

Background: Free radicals are unstable molecules with unpaired electrons and tend to "steal" electrons from other atoms. Therefore, the body needs an antioxidant compound. One natural antioxidant is obtained from Kepok banana as a natural antioxidant. Kepok banana peel turns out to have secondary metabolite compounds such as flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, quinones, and terpenoids which have effects as antidotes to free radicals. **Research Objectives:** To measure the antioxidant levels of Kepok banana peels in various levels of maturity and determine the level of maturity that most effectively inhibits the formation of free radicals. **Method:** maceration method with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Then the test using ABTS reagents and measured using a spectrophotometer to measure wavelength. Absorbance values are used to measure antioxidant activity and determine IC50 values. **Results:** The IC50 value of raw maturity level was 60.50, mature at 95.85, and very mature at 68.74. **Conclusion:** There are different antioxidant activities at various levels of maturity and the level of raw maturity is the most effective because it has an IC50 value of 60.50.

Keywords : Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)), Free Radicals, and Antioxidants.

PENDAHULUAN

Seiring berkembangnya teknologi dan zaman, sebagian besar masyarakat telah mengalami perubahan gaya hidup termasuk pola makan dan polusi. Perkembangan zaman menuntut makanan semakin banyak campuran bahan-bahan kimia dan proses-proses pengawetan agar tetap tahan selama disimpan. Perubahan transportasi juga memberi dampak yang cukup besar dilihat dari perbedaan penggunaan transportasi zaman dahulu yaitu hanya menggunakan sepeda maupun moda transportasi tenaga hewan, sedangkan zaman sekarang semuanya menggunakan mesin yang dapat menimbulkan polusi udara. Dengan perkembangan tersebut, semakin banyak pula permasalahan yang timbul bagi kesehatan, salah satunya adalah efek radikal bebas. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh secara alamiah sebagai hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, proses metabolisme, dan pada waktu berolahraga. Radikal bebas juga dapat berasal dari luar tubuh manusia, yaitu akibat paparan dari polusi yang ada di udara, berupa asap kendaraan, asap rokok, logam berat, bahkan dari makanan dan juga radiasi sinar matahari.¹

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dengan elektron yang tidak berpasangan. Elektron dalam sebagian besar atom bersifat stabil jika berpasangan, sedangkan radikal bebas memiliki satu atom yang tidak berpasangan, mencari sebuah elektron yang dapat “dicurinya” dari atom lain. Hal ini menyebabkan reaksi berantai yang memproduksi radikal bebas yang dapat mengganggu fungsi normal sel. Radikal bebas diduga terlibat pada proses penuaan dan proses terjadinya penyakit tertentu, seperti pada beberapa kanker.² Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu senyawa yang dapat menangkal radikal bebas tersebut, yaitu antioksidan.³ Mekanisme kerja antioksidan dalam menangkal radikal bebas memiliki beberapa cara yaitu bisa sebagai mengkatalisir pemusnahan radikal di dalam sel, pereduksi, pendonor atom hidrogen, pendonor elektron, pengkelat logam dan peredam terbentuknya singlet oksigen.⁴

Antioksidan secara eksogen bisa didapatkan dari makanan. Senyawa fitokimia ditemukan pada berbagai sayuran dan buah-buahan. Senyawa ini mempunyai manfaat bagi kesehatan, yang membuat tubuh lebih sehat dan lebih kuat.³ Antioksidan dapat menyerap elektron ekstra dari superoksida, oleh sebab itu menghentikan pembentukan rantai radikal bebas yang merusak.² Sayuran dan buah-buahan merupakan sumber antioksidan penting, dan telah dibuktikan bahwa pada orang yang banyak mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan memiliki resiko yang lebih rendah menderita penyakit kronis dibandingkan dengan yang kurang mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan. Salah satu buah yang mengandung antioksidan yaitu buah pisang.⁵

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki banyak keanekaragaman pisang sehingga menjadikannya sebagai salah satu negara pengekspor pisang.⁶ Salah satu tanaman pisang yang banyak terdapat di Indonesia yaitu pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)). Secara empiris, pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) sendiri dapat diolah menjadi berbagai macam makanan ataupun bahan makan. Di Kalimantan Tengah sendiri, khususnya di daerah-daerah, pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dimanfaatkan tidak hanya dengan cara dimakan dagingnya secara langsung, namun juga diolah menjadi berbagai macam hidangan. Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dapat diolah menjadi berbagai hidangan yang berbeda tergantung tingkat kematangannya. Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang masih muda atau mentah biasanya digunakan masyarakat sebagai bahan dasar olahan sayur. Selain itu, pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang sudah tua juga sering digunakan untuk membuat kripik. Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang sudah matang bisa dimakan langsung atau direbus terlebih dahulu agar semakin lunak, dan yang tersering adalah dijadikan hidangan santai yaitu pisang goreng. Dari pemanfaatan buah daging pisang sebagai makanan, menyisakan limbah kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)), yang belum dimanfaatkan secara optimal.⁷

Telah banyak penelitian mengenai kulit pisang, terutama kandungan yang terdapat di dalam pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang tentunya sangat bermanfaat bagi tubuh yaitu air, abu, lemak, protein, karbohidrat, serat kasar, insulin, antioksidan, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C.^{8,9} Pada sebuah penelitian yang dilakukan sebelumnya, juga diketahui hasil uji fitokimia pada kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, kuinon dan triterpenoid.^{10,11} Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa metabolik sekunder yang sebagian besar memiliki efek sebagai antioksidan.¹²

METODE PENELITIAN

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris berbentuk *true experimental* untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan menggunakan metode ABTS dalam berbagai tingkat kematangan.

Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Penelitian ini terdiri atas empat kelompok tingkat kematangan berdasarkan umur tanaman buah

pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yaitu mentah, masak, sangat masak. Buah pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) didapat dari kebun pisang di kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah. Buah pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang telah dipilih dan dikelompokkan kemudian dipisahkan dari kulitnya.

Kriteria Inklusi

Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang masuk kriteria inklusi ialah yang memiliki warna hijau tua dengan tekstur daging keras (umur ± 100 hari), kuning dengan tekstur daging lunak (umur ± 110 hari), kuning kecoklatan dengan tekstur daging lembek (umur ± 115 hari) dan kondisi yang baik (tidak busuk). Pisang langsung dipanen sesuai pada usia 98 hari. Kemudian pengerjaan penelitian di mulai saat usi pisang 100 hari. Pada tingkat kematangan matang dan sangat matang pisang ditunggu agar mencapai tingkat kematangan yang diinginkan. Penghitungan umur pisang dimulai saat bunga dari jantung pisang terbuka semua.

Kriteria Eksklusi

Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) yang masuk kriteria eksklusi ialah yang memiliki warna kehitaman dan kondisi yang tidak baik (busuk).

Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini meliputi ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan antioksidan dalam menghambat radikal bebas.

Definisi Operasional

Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut air dengan cara diblender dan direndam di dalam aquades, kemudian disaring dengan corong Buchner, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*, lalu diencerkan dan dijadikan sebagai konsentrasi 100%. Untuk membuat konsentrasi 80% dibuat dengan mengencerkan konsentrasi 100% ditambah aquades sebanyak 20% dari berat ekstrak, untuk membuat konsentrasi 60% dibuat dengan mengencerkan konsentrasi 100% ditambah aquades sebanyak 40% dari berat ekstrak, untuk membuat konsentrasi 40% dibuat dengan mengencerkan konsentrasi 100% ditambah aquades sebanyak 60% dari berat ekstrak, dan untuk membuat konsentrasi 20% dibuat dengan mengencerkan konsentrasi 100% ditambah aquades sebanyak 80% dari berat ekstrak.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu timbangan, gelas beaker, corong Buchner, kertas saring, blender, maserator, labu ukur, pipet dan *micropipet*, *Rotary*

vacuum evaporator, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan yaitu kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)), alkohol 97%, ABTS, Kalium Persulfat, air aquades, aqua deionisasi, dan Vitamin C.

Pengambilan Umbi Bawang Suna

Sampel yang diambil yaitu kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan berbagai tingkat kematangan yaitu mentah, matang, dan sangat matang, kemudian dipisahkan dari dagingnya sesuai dengan tingkat kematangan, lalu kulit pisang tersebut akan ditimbang masing-masing kelompok yaitu 100g.

Ekstraksi Tumbuhan

Pelarut yang digunakan pada ekstraksi isi adalah air, karena air memiliki sifat kelarutan yaitu polar Metode ekstraksi dengan cara maserasi dipilih karena metode ini tidak akan merusak senyawa metabolit sekunder yang ada.⁶

1. Kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dipisahkan dari dagingnya kemudian bersihkan dengan air dan disterilkan menggunakan alkohol 97%.
2. Kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dipotong menjadi beberapa bagian kecil.
3. Masing-masing kelompok yang telah dihaluskan dengan blender tadi kemudian direndam dengan aquades.
4. Ekstrak yang didiamkan selama 1x24 jam kemudian disaring dengan corong Buchner, hasil filtratnya kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan diulang sebanyak 2x.
5. Hasil dari 2 maserasi kemudian digabungkan, diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)

1. Pembuatan Larutan Kalium persulfat : Kalium persulfat ditimbang 3,5 mg dilarutkan dengan air 5 mL.
2. Pembuatan Larutan ABTS : ABTS ditimbang sebanyak 18 mg, kemudian dilarutkan dalam 5 mL aqua deionisasi.
3. Pembuatan Larutan Stok ABTS : Sebanyak 5 mL ABTS ditambahkan dengan 5 mL larutan kalium persulfat dan cukupkan volume sampai 25 mL dengan air, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama 12-16 jam.
4. Pembuatan Larutan Kontrol Vitamin C : 10 mg vitamin C murni dilarutkan dalam 10 mL kemudian ditambahkan air hingga batas.
5. Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS :
 - a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu

tentukur 5 mL dan dicukupkan dengan aquades sampai garis batas. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

- b. Pengukuran Serapan Larutan Blanko ABTS
Stok ABTS dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam lalu tentukur 5mL lalu dicukupkan dengan air sampai garis batas. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 15 menit dan diukur serapan dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 734nm.
- c. Pengujian Larutan Ekstrak
Masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambahkan 2 mL larutan stok ABTS. Selanjutnya diinkubasi selama 6 menit dan diukur serapan dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm.
- d. Pengujian Larutan Vitamin C
Larutan vitamin C dipipet 30 µl kemudian ditambahkan 1 mL larutan ABTS dan dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan air. Kemudian ukur serapan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 734nm.

Persentasi perhitungan ABTS menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}) \times 100\%}{\text{Abs blanko}}$$

Perhitungan Nilai IC₅₀

Kemampuan antioksidan umumnya diukur berdasarkan nilai IC₅₀, dimana IC₅₀ ini menggambarkan besarnya konsentrasi suatu senyawa yang mampu menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh melalui persamaan regresi garis linier $y=ax + b$, dengan variable y bernilai 50 dan nilai x adalah IC₅₀.

Cara Pengolahan Data dan Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu metode deskriptif. Data yang diperoleh akan selanjutnya diuji normalitas dengan menggunakan SPSS, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan *one way anova* untuk menguji perbedaan seri larutan konsentrasi dan tingkat kematangan terhadap nilai IC₅₀ antioksidan.

HASIL

Hasil Rendemen

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) sebesar 25%.

Hasil Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia kuantitatif terlihat bahwa ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, tanin dan

terpenoid. Kandungan terbanyak yang ada pada kulit pisang Kepok adalah terpenoid, diikuti oleh steroid, alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) kemudian diuji menggunakan ABTS dan diukur dengan spektrofotometer. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Rata-rata Absorbansi Sampel Ekstrak Kulit Pisang Kepok

No.	Kel. Sampel	\bar{X} Absorbansi ± SD				
		100	80	60	40	20
1.	Kulit Pisang	0,040±	0,051±	0,060±	0,087±	0,122±
	Mentah	0,024	0,002	0,002	0,000	0,007
2.	Kulit Pisang	0,074±	0,062±	0,046±	0,030±	0,020±
	Matang	0,024	0,005	0,001	0,001	0,000
3.	Kulit Pisang	0,104±	0,083±	0,041±	0,041±	0,021±
	Sangat Matang	0,005	0,004	0,005	0,001	0,002
4.	Blanko	0,143±0,000				
5.	Kontrol (+)	0,003±0,000				

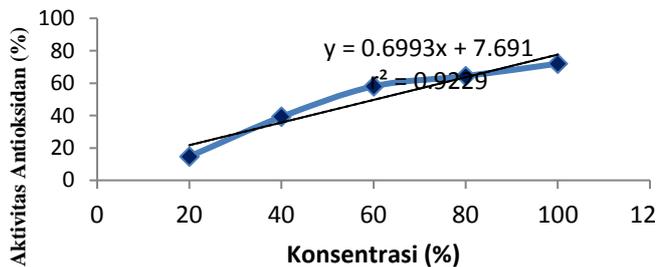
Selanjutnya dilakukan penghitungan persen inhibisi untuk menentukan parameter aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas yang dinyatakan dalam bentuk persen (%). Pada penelitian ini didapatkan persentase aktivitas antioksidan seperti pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Rata-rata Uji Aktivitas Antioksidan

No	Kel. Sampel	\bar{X} Aktivitas Antioksidan (%) ± SD				
		100	80	60	40	20
1.	Kulit Pisang	72,02 ±	64,33 ±	58,04 ±	39,16 ±	14,68 ±
	Mentah	2,962	1,979	1,979	0,000	4,956
2.	Kulit Pisang	48,25 ±	56,64 ±	67,83 ±	79,02 ±	86,01 ±
	Matang	2,983	3,959	0,989	0,494	0,000
3.	Kulit Pisang	27,27 ±	41,95 ±	55,94 ±	71,32 ±	85,31 ±
	Sangat Matang	3,952	2,962	3,959	0,494	1,400
4.	Kontrol (+)	97,90 ± 0,000				

Data yang tersedia dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil $p > 0,05$ yaitu data terdistribusi secara normal sehingga dapat menggunakan uji parametrik. Kemudian pada uji homogenitas didapatkan hasil $p < 0,05$ yaitu data tidak sama atau homogen. Uji hipotesis dilakukan dan didapatkan hasil p (p value) $< 0,05$. Nilai tersebut menandakan bahwa hipotesis diterima karena nilai p bermakna.

Hubungan Antara Persen (%) Aktivitas Antioksidan Pisang Kepok Mentah dengan Konsentrasi Ekstrak Air Kulit Pisang Mentah



Gambar 5.1 Kurva Regresi Linier Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok Mentah

Dari gambaran kurva di atas diperoleh persamaan regresi pada ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) mentah adalah $y = 0,0993x + 7,691$, kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan IC_{50} . Adapun hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linier ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) mentah adalah sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

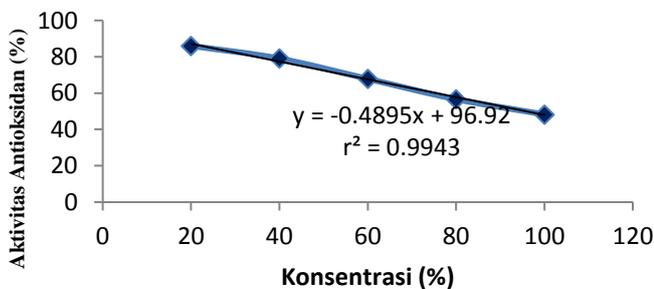
$$y = 0,0993x + 7,691$$

$$50 = 0,0993x + 7,691$$

$$x = 60,5019305 = 60,50$$

Berdasarkan perhitungan di atas, nilai IC_{50} pada ekstrak air kulit pisang Kepok mentah adalah sebesar 60,50.

Hubungan Antara Persen (%) Aktivitas Antioksidan Pisang Kepok Matang dengan Konsentrasi Ekstrak Air Kulit Pisang Matang



Gambar 5.2 Kurva Regresi Linier Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok Matang

Dari gambaran kurva di atas diperoleh persamaan regresi pada ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) matang adalah $y = -0,4895x + 96,92$. Dari hasil persamaan ini regresi ini kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan IC_{50} . Adapun hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linier ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) matang adalah sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

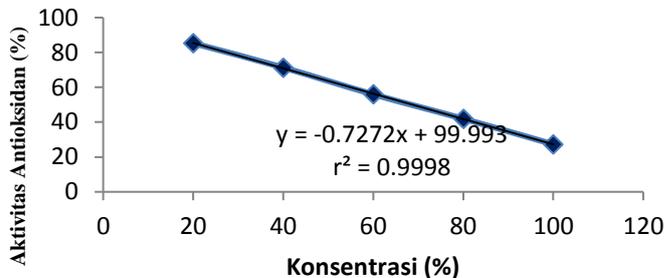
$$y = -0,4895x + 96,92$$

$$50 = -0,4895x + 96,92$$

$$x = 95,85291113 = 95,85$$

Berdasarkan perhitungan di atas, nilai IC_{50} pada ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) matang adalah sebesar 95,85.

Hubungan Antara Persen (%) Aktivitas Antioksidan Pisang Kepok Sangat Matang dengan Konsentrasi Ekstrak Air Kulit Pisang Sangat Matang



Gambar 5.3 Kurva Regresi Linier Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok Sangat Matang

Dari gambaran kurva di atas diperoleh persamaan regresi pada ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) sangat matang adalah $y = -0,7272x + 99,993$. Dari hasil persamaan ini regresi ini kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan IC_{50} . Adapun hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linier ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) sangat matang adalah sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

$$y = -0,7272x + 99,993$$

$$50 = -0,7272x + 99,993$$

$$x = 68,74724972 = 68,74$$

Berdasarkan perhitungan di atas, nilai IC_{50} pada ekstrak air kulit pisang Kepok sangat matang adalah sebesar 68,74.

PEMBAHASAN

Proses maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut air. Pelarut air akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang akan mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang pekat akan didesak keluar.¹³ Pemilihan pelarut air sebagai pelarut pada tahap ini didasarkan karena pelarut air karena titik didihnya lebih rendah dari titik didih zat aktif, tidak bersifat toksik, dan bersifat polar maka pelarut air dapat memudahkan dalam menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam kulit pisang yang nantinya dibutuhkan dalam uji aktivitas antioksidan.¹⁴ Hasil yang didapatkan berupa filtrat cair langsung diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu terjaga sekitar 70°C selama 18 jam. Hasil

dari proses penguapan menyisakan ekstrak cair sebanyak 250ml.

Ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) kemudian diuji menggunakan larutan ABTS. ABTS merupakan suatu radikal yang dapat diproduksi dengan cara oksidasi kalium persulfat ($K_2S_2O_8$) sebelum penambahan antioksidan. ABTS merupakan radikal dengan pusat nitrogen dengan karakteristik warna biru-hijau, ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk nonradikal yang tidak berwarna.¹⁵ Aktivitas antioksidan bahan alam pada metode ABTS seperti karotenoid dan senyawa fenolik dapat diukur berdasarkan penghilangan warna (*decolorization*) dari ABTS, yaitu mengukur serapan pengurangan radikal kation dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 734 nm sebagai persentase penghambatan.¹⁶

Hasil pengujian ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) untuk melihat aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan cara mencari nilai absorbansi dari setiap sampel larutan uji. Nilai absorbansi didasarkan pada pengurangan radikal kation setelah proses reduksi oleh antioksidan dari ekstrak kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)).¹⁶ Radikal bebas yang terbentuk oleh proses oksidasi oleh Kalium persulfat akan bergabung dan terikat dengan antioksidan dengan pendonoran atom hidrogen dari antioksidan. Senyawa yang diduga berpean besar dalam proses pendonoran atom hidrogen adalah senyawa terpenoid, dimana golongan terpenoid memdonasikan atom hidrogen dan berikatan dengan senyawa radikal bebas untuk membuatnya menjadi lebih stabil dan tidak reaktif.¹⁷ Nilai absorbansi yang didapat dari setiap konsentrasi kemudian digunakan untuk mencari persen inhibisi untuk menentukan nilai IC_{50} .

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pada tingkat kematangan mentah didapatkan hasil semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula persen inhibisi terhadap radikal bebas. Sedangkan untuk tingkat kematangan matang dan sangat matang berbanding terbalik, dimana semakin kecil konsentrasi maka semakin besar persen inhibisi terhadap radikal bebasnya. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} -nya < 50 , kuat jika IC_{50} -nya 50-100, sedang jika nilai IC_{50} -nya 101-150, lemah jika nilai IC_{50} -nya 151-200, dan sangat lemah jika nilai IC_{50} -nya > 200 .

Selanjutnya parameter IC_{50} digunakan untuk menentukan kekuatan antioksidan dari kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)). Nilai IC_{50} ini diperoleh melalui persamaan regresi garis linier $y = ax + b$, dengan variabel y merupakan suatu tetapan bernilai 50 dan x adalah nilai IC_{50} . Pada penelitian ini didapatkan hasil nilai IC_{50} ekstrak air

kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) mentah sebesar 60,50, matang sebesar 95,85, dan sangat matang sebesar 68,74, yang diartikan sebagai ketiga tingkat kematangan dari kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) tersebut menunjukkan golongan antioksidan kuat.

Kemampuan senyawa metabolik sekunder sebagai antioksidan bergantung pada susunan konfigurasi, substansi, dan jumlah kelompok hidroksil yang dapat mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan. Konfigurasi hidroksil cincin menentukan kemampuan meredam ROS dan RNS. Senyawa metabolit sekunder dapat memberi hidrogen dan elektron pada hidroksil, peroksil, dan radikal hidroperoksil yang akan menstabilkan radikal bebas.¹⁸

Perbedaan nilai IC_{50} dari tiap tingkat kematangan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain suhu, lingkungan, sinar matahari, proses fisiologis dan biologi dari pisang. Peran fisiologis dan biologi mengambil peran paling besar dalam terbentuknya kandungan di dalam pisang. Proses fisiologi pisang dapat dilihat dari proses pematangan melalui tiga tahap yaitu pra-klimakterik, klimakterik, dan penuaan (*senescence*).¹⁹

Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa pada proses awal proses pematangan pisang (tahap pra-klimakterik) terjadi peningkatan respirasi, pemebeentukan pati yang telah mencapai maksimum, dan sebagian besar tannin telah terurai menjadi senyawa eter aromatic dan fenol.²⁰ Agen aktif termasuk senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, dan steroid banyak terdapat di kulit pisang pada kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) mentah²¹ yang lebih larut dalam air, namun menjadi tidak aktif pada kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) matang,²² sedangkan berbanding terbalik pada pelarut etanol yang menunjukkan hasil bahwa tingkat kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) mentah memiliki kandungan senyawa fenolik lebih sedikit dibandingkan kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) matang karena sifat kelarutan senyawanya,²³ inilah yang berpengaruh pada tingginya kadar senyawa fenolik, karena senyawa fenol yang bersifat asam dan melepaskan ion H^+ .¹⁹

Pada tingkat kematangan matang, kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) secara fisiologis dan biologis sedikit berbeda dengan mentah, karena dalam keadaan matang proses klimakterik berlangsung terjadi peningkatan produksi gas etilen, keadaan ini yang menyebabkan perbedaan kadar senyawa metabolit yang terdapat dalam kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)).²⁰ Pada kulit pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan tingkat kematangan sangat matang, sebenarnya sudah mulai terjadi penurunan metabolisme, sehingga hasil

akhirnya menyebabkan kualitas dan kandungan senyawa didalamnya pun juga berkurang. Namun pada puncak proses klimakterik sampai awal *senescence*, senyawa fenolik masih banyak terdapat dalam sel-sel, sebelum akhirnya akan teroksidasi oleh enzim fenoloksidase sehingga menghasilkan pigmen melanin pada kulit pisang Kepok (kuning dengan bercak kecoklatan).¹⁹

Faktor-faktor tersebut mempengaruhi dari keadaan biologi dan kimiawi dari kulit pisang tersebut, sehingga terjadi perubahan-perubahan dari kandungan senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan hasil penelitian, tingkat kematangan yang paling efektif dalam menghambat radikal bebas adalah kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan tingkat kematangan mentah yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 60,50 dan tergolong antioksidan kuat.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini yaitu :

1. Ekstrak air kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dalam berbagai tingkat kematangan memiliki aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas melalui metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat).
2. Tingkat kematangan yang paling efektif dalam menghambat radikal bebas melalui metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) adalah kulit pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan tingkat kematangan mentah yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 60,50.

SARAN

Pada penelitian selanjutnya diharapkan :

1. Peneliti dapat mengembangkan penelitian ini dengan menerapkan pada hewan coba seperti tikus atau mencit.
2. Melanjutkan penelitian menggunakan kulit pisang Kepok sebagai produk *sunscreen* atau *sunblock*.
3. Melakukan penelitian terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder secara spesifik yang dapat digunakan sebagai *antiaging*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parwata IMO. Bahan Ajar Uji Bioaktivitas [Internet]. Bali: Kimia Terapan Universitas Udayana; 2015. 1-51 p. Available from: https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pondidikan_dir/463d30c83d76f1ea8231c896adeb39e0.pdf
2. Silverthorn DU. Fisiologi Manusia : Sebuah Pendekatan Terintegrasi. 6th ed. Octavius H, editor. Jakarta: EGC; 2013. 779 p.

3. Halliwell B. *Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. Free Radic Res.* 1996;25 (1):57–74.
4. Puspitasari ML, Wulansari TV, Widyaningsih TD, Maligan JM, Nugrahini NIP. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.): Kajian Pustaka. *J Pangan Dan Agroindustri.* 2016;4(1):283–90.
5. Supriyanti FMT, Suanda H, Rosdiana R. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa bluggoe*) Sebagai Sumber Antioksidan Pada Produksi Tahu. *Dep Pendidik Kim FPMIPA Bandung.* 2015;393–400.
6. Adhayanti I, Abdullah T, Romantika R. Uji Kandungan Total Polifenol Dan Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*). *Media Farm.* 2018;14(1):146–52.
7. Atun S, Arianingrum R, Handayani S, Rudyansah, Garson M. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn.). *Indones Jorrnal Chem.* 2007;7(1):83–7.
8. Puspitasari S, Syauqy A. Pengaruh pembeian Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* forma *typical*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus Sprague Dawley Pra-Sindrom Metabolik. *J Nutr Coll.* 2015;4(2):314–22.
9. Munadjim. *Teknologi Pengolahan Pisang.* 3rd ed. Jakarta: PT Gramedia; 1988.
10. Sihotang YM. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Serta Uji Efek Antidiare Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa v paradisiaca* ABB) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Universitas Sumatera Utara; 2014.
11. Saraswati FN. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa Balbisiana*) Terhadap Jerawat Penyebab Jerawat (*Stapylococcus epidermidis*, *Stapylococcus aureus* dan *Propionibacterium acne*). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta; 2015.
12. Zhang YJ, Gan RY, Li S, Zhou Y, Li AN, Xu DP, et al. *Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. Molecules.* 2015;20(12):21138–56.
13. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. *Antioxidant Activities of Carotenes and Xanthophylls.* *FEBS Lett.* 1996;384(3):240–2.
14. Fiedor J, Burda K. *Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease.* *Nutrients.* 2014;6(2):466–88.
15. Emad AS. *Antioxidant Compound, Assays of Determination and Mode of Action.* Egypt:

- African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2013; 7 (10). 528-539 p.
16. Mastuti W. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) Hasil Maserasi dan Dipekatkan Dengan Kering Angin. Kediri: Jurnal Wiyata. 2016; 3 (2).
 17. Gordon MH. *The Mechanism of Antioxidant Action In Vitro*. UK: Departemen of Food Science and Technology, Whiteknights. 1990.
 18. Amic D, Amic DD, Beslo D, Trinajstić N. *Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids*. Croat Chem Acta. 2003;76(1):55–61.
 19. Nurmin, Sri MS, Irwan S. Penentuan Kadar Natrium (Na) dan Kalium (K) dalam Buah Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) Berdasarkan Tingkat Kematangan. Palu : J. Akademia Kim. 2018; 7 (3).
 20. Ratnawati LD, Hanafi. Aktivitas Antioksidan Selama Pematangan Buah Biji (*Psidium guajava* L.). Bogor : Warta Akab. 2009; 22.
 21. Swaraswati FN. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 90% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa balbisiana*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). Jakarta : Skripsi UIN Syarif Hidayatullah. 2015.
 22. Pereira A, Maraschin M. *Banana (Musa spp) from peel to pulp : ethnoharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health*. Inggris : J Ethnopharmacol. 2015; 160.
 23. Allikha BM, Siti NK, Taufik NH, Umar HA. Pembuat Kopi dari Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn) dan Aktivitas Antioksidannya. Semarang : Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian. 2019; 3.