



**PERBANDINGAN IC₅₀ EKSTRAK KASAR ETANOL DAN EKSTRAK
TERPURIFIKASI KULIT BUAH PISANG RAJA (*Musa paradisiaca* var. Raja)
MENGUNAKAN METODE FRAP**

ARTIKEL

Oleh :

KHOIRUN NISAK

050115A042

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO
UNGERAN
2020**

LEMBAR PENGESAHAN ARTIKEL

Artikel dengan judul “PERBANDINGAN IC_{50} EKSTRAK KASAR ETANOL DAN EKSTRAK TERPURIFIKASI KULIT BUAH PISANG RAJA (*Musa paradisiaca* var. Raja) MENGGUNAKAN METODE FRAP” yang disusun oleh :

Nama : KHOIRUN NISAK
NIM : 050115A042
Fakultas : Ilmu Kesehatan
Program Studi : S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

Telah disetujui dan disahkan oleh pembimbing utama skripsi program studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.

Ungaran, Februari 2020

Pembimbing Utama



Agitya Resti Erwiyani, S.Farm., M. Sc., Apt
NIDN.0610088703



**PERBANDINGAN IC_{50} EKSTRAK KASAR ETANOL DAN EKSTRAK
TERPURIFIKASI KULIT BUAH PISANG RAJA MENGGUNAKAN METODE
FRAP**

**COMPARISON VALUE OF IC_{50} ETHANOL EXTRACT AND BANANA PEELS
EXTRACT EXTRACT USED FRAP METHOD**

Khoirun Nisak(1), Agitya Resti Erwiyani(2),Jatmiko Susilo (3)

(1,2,3)Program Studi S1-Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas Ngudi Waluyo Ungaran

Email : Nisalawangsewu94@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Antioksidan merupakan salah satu spesi yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas. Kulit buah pisang memiliki kandungan metabolid sekunder berupa flavonoid dan fenolik. Sumber antioksidan alami banyak terdapat dalam bahan pangan misalnya buah-buahan, rempah rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-bijian, sayur-sayuran, enzim dan protein Senyawa flavonoid adalah antioksidan yang bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas seperti pada tanaman kulit buah pisang.

Tujuan: Untuk mengetahui nilai IC_{50} ekstrak kasar etanol dan ekstrak terpurifikasi kulit buah pisang menggunakan metode FRAP.

Metode : Penelitian ini merupakan eksperimental murni yaitu menentukan kadar flavonoid total secara kualitatif dan kuantitatif secara kolorimetri. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode FRAP menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan mengukur nilai IC_{50} .

Hasil : Hasil uji kadar flavonoid ekstrak terpurifikasi sebesar $67,65 \pm 0,257$ mg/g lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar etanol sebesar $63,68 \pm 0,550$ mg/g. Uji antioksidan ekstrak terpurifikasi memiliki daya antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 2,536 ppm dan ekstrak kasar etanol kulit buah pisang sebesar 2,690 ppm dengan keterangan sangat kuat

Kesimpulan : IC_{50} dari ekstrak terpurifikasi memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kasar etanol.



Kata kunci : *Antioksidan, FRAP, Purifikasi, Ekstrak Kasar, Pisang Raja*

ABSTRACT

Background: Antioxidants are a species that act as free radicals antidote. The skin of a banana peels contain secondary metabloids in the form of flavonoids and phenolics. Sources of natural antioxidants are abundant in food such as fruits, spices, tea, chocolate, leaves, seeds, vegetables, enzymes and proteins Flavonoid compounds are antioxidants that are useful in preventing cell damage caused by free radicals such as skin plants banana.. Flavonoid compounds are antioxidants that are useful in preventing cell damage caused by free radicals such as in banana peel plants.

Purpose: To determine the IC_{50} value of ethanol crude extract and purified extract of banana peel using FRAP method.

Method: This type of research is purely experimental that determines total flavonoid levels qualitatively and quantitatively in colorimetric. Antioxidant activity the method FRAP radical absorb using a UV-Vis spectrophotometer and compare value of IC_{50} .

Results: Results of the flavonoids extract levels of the purification of 67.65 mgQE/g with a value of IC_{50} that is 2.536 higher than that of ethanol roughly 63.68 mgQE/g with a value of IC_{50} 2,690 both have very strong categories and have a R value of 0.998

Conclusion: value of IC_{50} purified extract has a higher antioxidant content compared to crude ethanol extract.

Keywords: *Antioxidants, FRAP, Purification, Coarse Extract, Banana Peels*

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru (Winarsi, 2007). Sumber antioksidan alami banyak terdapat dalam bahan pangan misalnya buah-buahan, rempah rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-bijian, sayur-sayuran, enzim dan protein. Pada umumnya aktivitas



antioksidan disebabkan karena tumbuhan tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder /senyawa aktif, diantaranya adalah flavonoid, fenolik, tannin, antosianin (Winarsi, 2007).

Penuaan (aging) adalah perubahan fisiologis yang terjadi seiring dengan bertambahnya usia kronologis dan akan terjadi pada semua organisme. Pada penuaan terjadi disfungsi bertahap semua organ yang terjadi pada manusia, tumbuhan, hewan, dan juga organisme bersel satu. Penuaan mulai terjadi saat manusia baru lahir. Fenomena fisiologis yang terjadi adalah berkurangnya jumlah sel jaringan, menurunnya laju metabolisme, juga meningkatnya kejadian penyakit. Penuaan juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti stress, olahraga berlebihan, merokok, dan adanya radiasi sinar ultraviolet (Pangkahila, 2007)

Pemanfaatan tanaman pisang dalam bidang industri selama ini masih belum populer. Selain itu, bagian tanaman pisang yang paling sering dimanfaatkan hingga saat ini masih terbatas pada bagian buahnya, sedangkan bagian lain seperti bagian kulit buah, batang, daun, akar, dan pelepah pisang masih dianggap sebagai limbah dan pengolahan lebih lanjut dari bagian tersebut masih sangat sedikit (Pane, 2013) Pada penelitian ini dipilih kulit pisang raja karena kulit pisang memiliki kadar senyawa fenolik yang jauh lebih tinggi daripada yang terkandung pada daging buahnya (Humairani, 2007).

METODE PENELITIAN

Bahan : Kulit buah pisang raja (*Musa paradisiaca* var. Raja), Kalium Ferrisianida, etanol 96%, etanol.pa, dan aquadest (CV. Bratachem®)

Alat : pisau, kain hitam, blender (philips), timbangan (sonic), gelas ukur (pyrex), bekkor glass (iwaki), labu takar (pyrex), kuvet (iwaki), cawan penguap (merck), ayakan no 80 mesh (merck), penangas air (merck), tabung reaksi (iwaki), pipet tetes (pyrex), pipet ukur (pyrex) dan Seperangkat alat ekstraksi meliputi : alat maserasi, penyaring, oven, serta spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, dan satu set evaporator (*RE 100-Pro*),

Ekstraksi dan Purifikasi Ekstrak

300 gram serbuk kulit buah pisang. pelarut etanol 96% ditambahkan sambil diaduk hingga seluruh serbuk kasar terbasahi merata dengan pelarut. Kemudian pelarut

ditambahkan dengan perbandingan 1:10 yaitu 300 ml pelarut pertama 2250 ml sisanya 750 ml untuk remaserasi kemudian diuapkan dengan rotary evaporator dan dikentalkan dengan waterbath pada suhu 70⁰C hingga diperoleh ekstrak kental kemudian dihitung rendemennya.

Pembuatan ekstrak terpurifikasi dilakukan dengan cara diambil sebanyak 20 gram lalu dipurifikasi menggunakan etanol dan n-heksan dengan perbandingan 1:1 diulang sampai n heksan benar benar terlihat bening. Dan ambil fraksi etanol lalu kembali di waterbatt di penangas air.

Uji Bebas Etanol

Ekstrak ditambah dengan 2 tetes H₂SO₄ pekat lalu ditambah dengan 1 ml CH₃COOH 0,5 n lalu dipanaskan hasil negatif bila tidak tercium bau khas ester (Kuruniawati, 2015).

Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan terhadap estrak etanol kulit buah pisang. Metode yang dilakukan dengan cara : sebanyak masing-masing 200 mg simplisia dan estrak ditambahkan 5 ml etanol dan di panaskan selamaa 5 menit didalam tabung reaksi, selanjutnya di tambahkan HCL pekat, kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk Mg. Hasil positif adanya flavonoid ditunjukan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit (sastrawan dkk.,dalam 2013).

Penetapan Kadar Flavonoid Total

1. Penentuan panjang gelombang maksimum (λmaks) kuersetin

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara membuat larutan induk kuersetin 1000 µg/mL yaitu dengan menimbang kuersetin sebanyak 10,0 mg ditambahkan etanol pro analisis ke dalam labu ukur 10 mL (Januarti dan Wijayanti, 2018). Larutan induk 1000 ppm dipipet 1 mL dan dilarutkan dalam labu takar 10 mL menggunakan etanol p.a hingga batas (kadar kuersetin menjadi 100ppm). Sejumlah 0,5 mL larutan kuersetin 100 ppm direaksikan dengan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquades. Kemudian dilakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 500 nm.

2. Penentuan operating time kuersetin

Penentuan operating time dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,5 mL dari larutan kuersetin 100 µg/mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan 1,5 mL etanol 96%; 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquades. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu 1 menit, sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Ipandi *et al.*, 2016)

3. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Kurva baku dibuat menggunakan larutan induk dengan kadar 100 ppm dengan cara memipet larutan 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, dan 6 mL, masing-masing dilarutkan dalam labu takar 10 mL menggunakan pelarut etanol p.a. Lakukan pemipetan masing-masing sejumlah 0,5 ml ditambah dengan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 ml aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan akuades 2,8 mL. Setelah itu diinkubasi selama operating time dan serapannya diukur pada λ maks yang diperoleh menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai koordinat (y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (x) (Azizah *et al.*, 2014)

4. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode kolorimetri oleh (Chang *et al.*, 2002) dalam Anwar dan Triyasmono (2016). Sebanyak 0,01 g sampel ditambahkan dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml AlCl₃ 10% 0,1 ml kalium asetat 1 m, dan 2,8 ml aquades. Setelah diinkubasi selama 5 menit kemudian diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 411,5 nm yang telah didapatkan dengan pembanding kuersetin (λ maks). Dilakukan 3 kali pengulangan.

Pembuatan Stok FRAP

1. Perekasi FRAP

a. Larutan dapar fosfat 0,2 N pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang NaOH dan dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ hingga tepat 250 ml dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 gram

KH_2PO_4 yang dilarutkan dengan aquades bebas CO_2 250 mL dalam labu takar dan di campur 50 ml KH_2PO_4 selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dan dicukupkan dengan aquades CO_2 hingga 200 mL.

b. Larutan $FeCl_3$ 0,1 %

Larutan disiapkan dengan melakukan 0,1 gram $FeCl_3$ dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 10 mL.

c. Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10 %

Larutan disiapkan dengan melarutkan 0,1 gram $FeCl_3$ dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

d. Larutan kalium Ferrisianida 1 %

Timbang 1 gram kalium ferrisianida dan dilarutkan dengan air suling hingga 100 ml dalam labu.

e. Pembuatan larutan standar asam askorbat

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 50 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan asam oksalat 1 % hingga tanda batas labu ukur 50 ml. Selanjutnya dari stok 1000 ppm diambil masing masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; dan ditempatkan pada labu ukur 10 ml yang berbeda dan diencerkan dengan asam oksalat 1 % hingga 10 ml dan di homogenkan. Konsentrasi standar 1000 ppm asam askorbat yakni 10; 20; 30; 40; 50 (Mamat *et al.*, 2018).

2. Penetapan Panjang Gelombang (λ) maksimum

Penentuan panjang gelombang Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar kuersetin pada konsentrasi 70 ppm. Sebanyak 1 mL larutan tersebut dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferrisianida 1 %, campuran diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi larutan ditambahkan 1 ml TCA, larutan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 ml, tambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml $FeCl_3$, cukupkan dengan asam oksalat hingga tanda batas, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 hingga diperoleh panjang gelombang maksimum (Magfira, 2018).

3. Pengukuran Serapan Blanko

Pengujian dilakukan dengan mencampur 50 μ l FRAP dengan etanol hingga mencapai volume 1,0 ml pada vial, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm. Semua pengerjaan dilakukan pada ruangan yang terhindar dari cahaya. Pengerjaan dilakukan sebanyak 3 replikasi.

4. Pembuatan Kurva Baku

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg vitamin C yang dilarutkan dengan etanol 96% hingga batas labu ukur 25 ml. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mL ditempatkan dalam labu ukur 25 mL yang berbeda dan diencerkan dengan etanol 96% hingga 25 mL dan dihomogenkan, dipipet 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL (K₃Fe(CN)₆ 1% setelah itu diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50 o C. Ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl₃ 0,1% setelah itu diinkubasi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 705 nm pada spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi standar 1000 ppm asam askorbat yakni 10; 20; 30;40; 50 (Mamat et al.,2018)

5. Pengujian antioksidan Metode FRAP

Diambil 50 μ l ekstrak kulit buah pisang dan dilarutkan dalam 50 ml etanol p.a pada labu takar 50 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet masing-masing 20 μ l , 40 μ l , 60 μ l, 80 μ l, dan 100 μ l dari larutan stok kedalam tabung reaksi hingga konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm selanjutnya ditambahkan masing-masing 1 ml dapar fosfat 0,2 N (pH 6,6) dan 1 ml K₃Fe(CN)₆ 1 %. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 1 ml larutan TCA 10% lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, dan tambahkan 0,5 ml FeCl₃0,1 % kemudian add kan aquadest hingga tanda batas. Lalu diukur serapan dengan panjang gelombang maksimumnya. Pengerjaan dilakukan ditempat gelap.

Analisis Data

Kadar flavonoid total dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi sampel pada panjang gelombang 500 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Nilai absorbansi dimasukan ke dalam persamaan garis linear $y = bx + a$ yang diperoleh dari kurva standar kuersetin. Kurva standar diperoleh dari hubungan

antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansi. Hasil dinyatakan dalam satuan mg ekivalen kuersetin dengan cara membuat persamaan dalam jumlah mg/L sampel yang digunakan dengan kesetaraan kuersetin tiap gram dan dinyatakan dalam satuan mgQE/g sampel.

Nilai IC_{50} di dapatkan dari x setelah mengganti y dengan 50, Nilai IC_{50} yang semakin kecil, menunjukkan semakin tinggi daya antioksidan dari sampel tersebut (Magfira, 2018)

Hasil dan Pembahasan

a. Ekstraksi dan Purifikasi

Hasil ekstrak kasar kulit buah pisang sebesar 69,7 dengan persen rendemen sebanyak 23,233. Hasil ekstrak terpurifikasi kulit buah pisang sebesar 8,5 dengan persen rendemen sebanyak 42,5. yaitu lebih dari 10% yang menandakan proses ekstraksi telah dilakukan dengan baik dan optimal.

b. Uji bebas etanol

Pengujian bebas etanol pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan uji fitomikria dengan hasil positif berupa tidak terciumnya bau khas ester, didapatkan hasil tidak tercium bau khas ester sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak kulit buah pisang yang digunakan untuk penelitian tidak mengandung etanol dari cairan penyari. Hasil dari uji bebas etanol ekstrak kulit buah pisang menunjukkan bahwa ekstrak sudah bebas dari etanol

c. Identifikasi Flavonoid

Hasil identifikasi kandungan senyawa flavonoid menunjukkan reaksi positif yang ditandai dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit, hal ini membuktikan bahwa ekstrak kulit buah pisang memiliki kandungan flavonoid

d. Penetapan kadar flavonoid total

1. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang pengukuran kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$ dan asam asetat memberikan absorbansi optimum. Penetapan panjang gelombang maksimum merupakan faktor utama dalam analisis terutama metode spektrofotometri. Pengukuran pada

panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar. Selain itu, pada panjang gelombang maksimum memberikan serapan optimal sehingga jika dilakukan pengukuran ulang dan replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran (Anggraini, 2017) Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 413,50 ppm dengan absorbansi 0,637.

2. Operating time

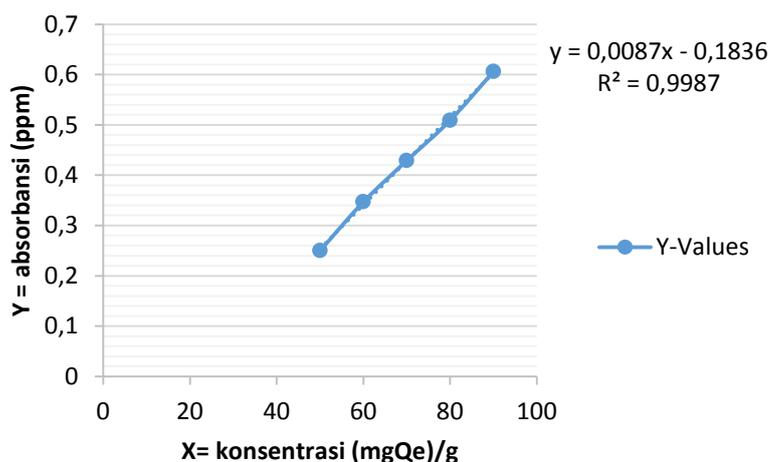
Penentuan operating time diukur pada spektrofotometer pada menit ke 0-30, dan dihitung absorbansinya tiap menit. Dari hasil pengukuran *operating time* didapatkan absorbansi stabil pada menit ke 1 – 9.

3. Penentuan kurva baku kuersetin

Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan membuat 5 larutan seri kadar yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 413,50 nm dan dengan waktu inkubasi selama 20 menit. Dibuat seri dengan konsentrasi 50ppm, 60ppm, 70ppm, 80ppm, 90ppm.

Tabel 1. Konsentrasi dan Absorbansi Kuersetin

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	50	0,250
2	60	0,347
3	70	0,429
4	80	0,509
5	90	0,606



Gambar 1. Kurva Baku Kuersetin

4. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak

Purifikasi pada ekstrak kulit pisang raja bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya terhadap pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. purifikasi dilakukan dengan n-heksan. Proses tersebut dilakukan agar pengotor yang ada pada ekstrak dapat hilang. Dan mendapatkan hasil flavonoid sebanyak $67,65 \pm 0,257$ mgQE/g

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Total Flavonoid Ekstrak Terpurifikasi

NO	Replikasi	Flavonoid total (mg/g kuarsetin)	\bar{x} Flavonoid total (mg/g kuarsetin) \pm SD
1	Sampel I	67,42	$67,65 \pm 0,257$
2	Sampel II	67,65	
3	Sampel III	67,88	

Tabel 3. Hasil Uji Kar Total Flavonoid Ekstrak Kasar

NO	Replikasi	Flavonoid total (mg/g kuarsetin)	\bar{x} Flavonoid total (mg/g kuarsetin) \pm SD
1	Sampel I	63,69	$63,68 \pm 0,550$
2	Sampel II	63,63	
3	Sampel III	63,74	

Purifikasi pada ekstrak kulit pisang raja bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya terhadap pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. purifikasi dilakukan dengan n-heksan. Proses tersebut dilakukan agar pengotor yang ada pada ekstrak dapat hilang. Dan mendapatkan hasil flavonoid sebanyak $67,65 \pm 0,257$ mgQE/g

Hasil kadar flavonoid total pada ekstrak terpurifikasi kulit buah pisang memiliki hasil lebih besar dibanding dengan ekstrak kasar etanol. kstrak terpurifikasi kulit buah pisang pengotor yang terdapat pada

ekstrak kulit buah pisang sudah dihilangkan dengan cara purifikasi. Hasil yang terdapat pada ekstrak kasar terpurifikasi memiliki hasil yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak kasar etnol. Pada ekstrak tersebut mendapatkan hasil yang sangat kuat yaitu ekstrak terpurifikasi $67,65 \pm 0,257$ mgQE/g dan ekstrak kasae etanol $63,68 \pm 0,5550$ mgQE/g. Dalam proses ini dilakukan purifikasi agar dapat membandingkan hasil apakah ekstrak terpurifikasi lebih baik dari ekstrak kasar.

e. Hasil Pengujian Antioksidan

1. Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum FRAP

Penentuan panjang gelombang (λ) Maksimum peredaman radikal bebas Panjang gelombang maksimum larutan Fe^{3+} kalium ferrisianida didapatkan pada panjang gelombang maksimal 698,2 dengan nilai absorbansi 0,582. hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian (Bakti *et al.*, 2017) didapat λ maksimal sebesar 516 nm. Panjang gelombang maksimal yang merupakan λ dengan absorbansi yang paling tinggi atau yang memiliki serapan maksimal. Penentuan panjang gelombang maksimal bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang mempunyai serapan maksimal yaitu saat senyawa berada pada kondisi optimum sehingga diperoleh kepekaan yang maksimum (Anggraini, 2017).

2. Penentuan *Operating Time* (OT)

Penentuan *Operating Time* peredaman radikal bebas dengan menggunakan spektrofotometri pada menit ke 0-30, dan dihitung absorbansinya tiap 1 menit, dari hasil pengukuran *operating time* didapatkan absorbansi stabil dari menit pertama.

Tujuan dilakukan *operating time* adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil saat sampel bereaksi sempurna dengan reagen warna.

3. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah pisang

Aktivitas antioksidan kulit buah pisang diduga dipengaruhi karena adanya senyawa metabolit sekunder dari kulit buah pisang yaitu flavonoid dimana flavonoid memiliki kelarutan yang rendah didalam air

serta kurangnya kemampuan permeabilitas menembus barrier absorpsi dapat mempengaruhi bioavailabilitas didalam tubuh, Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing replikasi dinyatakan sebagai ekuivalen asam askorbat atau Ascorbic Acid Equivalent (AAE). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat dalam suatu bahan. Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah pisang terpurifikasi 2,536 MgEQ dan ekstrak kasar etanol 2,690 MgEQ. Semakin kecil nilai IC_{50} nya menunjukkan semakin besar aktivitas antioksidan sehingga ekstrak terpurifikasi kulit buah pisang memiliki nilai lebih bagus dari pada ekstrak kasar etanol kulit buah pisang. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C sebagai pembanding dan didapat hasil sesuai tabel berikut:

Tabel 5. Vitamin C

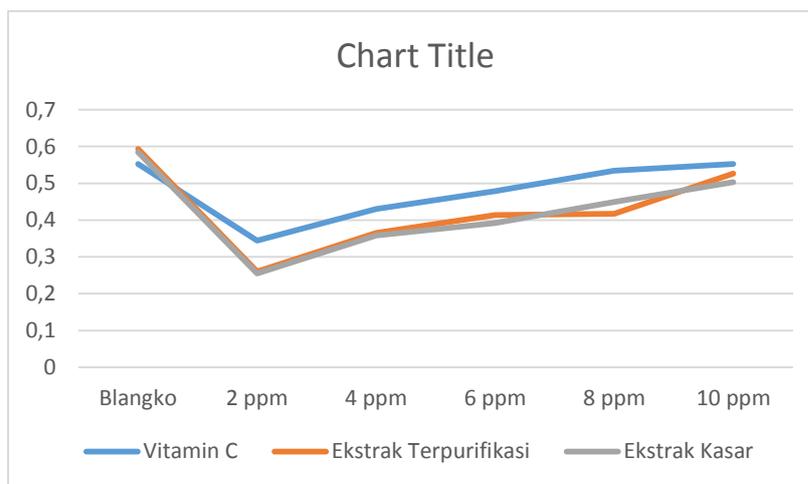
Konsentrasi	Persen mereduksi	Hasil IC_{50}	Kategori
Baku	48,102		
1 ppm	62,207		
2 ppm	77,758	1,001	Sangat Kuat
3 ppm	86,619		
4 ppm	86,619		
5 ppm	96,565		

Tabel 6. Antioksidan Terpurifikasi

Sampel	Persen Reduksi	SD	Hasil IC_{50}	Kategori
Blangko	-	0,0005		
2 ppm	43,85	0,002		
4 ppm	61,56	0,003	2,536	Sangat Kuat
6 ppm	69,82	0,002		
8 ppm	79,43	0,0005		
10 ppm	88,88	0,0005		

Tabel 7. Antioksidan Ekareak Kasae Etanol

Sampel	Persen Reduksi	SD	Hasil IC_{50}	Kategori
Blangko	-	0,005		
2 ppm	43,85%	0,001	2,90	Sangat Kuat
4 ppm	61,56%	0,001		
6 ppm	69,82%	0,002		
8 ppm	79,43%	0,002		
10 ppm	88,88%	0		



Gambar 2. Grafik Antioksidan

Pembuatan pada ekstrak kulit buah pisang yaitu dengan diambil 50 μ ekstrak kulit buah pisang dilarutkan dalam 50 ml etanol pada labu takar 50 ml hingga diperoleh konsentrasi sebanyak 1000ppm. Selanjutnya di ambil sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan 20 μ 40 μ 60 μ 80 μ 100 μ larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi hingga masing masing menjadi konsentrasi 2 ppm 4 ppm 6 ppm 8 ppm 10 ppm masing masing ditambahkan dengan larutan dapar fosfar hingga dengan pH 6,6 dan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$ hingga warna berubah menjadi hijau lalu inkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C tujuan dari inkubasi tersebut adalah untuk memastikan reaksi pembentukan kompleks berlangsung dan untuk meminimalisir pengaruh perbedaan waktu dalam penambahan reagen. Setelah itu tambahkan dengan TCA 10% disentrifug dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit tujuan dari sentrifuge adalah untuk mempercepat proses pengendapan sehingga dapat memisahkan campuran yang tidak saling larut dengan cara mengendap. Kemudian setelah di sentrifuge dipipet lalu masukan

kedalam labu takar 10 ml dan tambahkan $FeCl_3$ 0,1% warna menjadi hijau pekat kemudian di addkan aquades hingga tanda batas pengerjaan disebut dilakukan ditempat gelap dengan menggunakan suhu ruangan.

Semakin kecil nilai FRAP suatu sampel menandakan aktivitas antioksidan sampel tersebut semakin besar. Nilai FRAP yang kecil berarti hanya dibutuhkan konsentrasi sampel yang kecil untuk mencapai absorbansi yang dihasilkan larutan (untuk mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+}) Pada percobaan ini menggunakan asam askorbat sebagai pembanding. Dapat dilihat nilai FRAP asam askorbat lebih kecil dibandingkan dengan sampel yang diuji. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan sampel yang rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan asam askorbat. Pada hasil penelitian tersebut ekstrak kulit buah pisang terpurifikasi memiliki hasil 2,90 ppm sedangkan pada ekstrak kasar etanol memiliki hasil 25,35 ppm dan untuk vitamin C memiliki nilai 1,001 ppm dapat diliat bahwa ketiga pembanding tersebut memiliki nilai yang sangat kuat karena memiliki nilai <50.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah pisang sebagai berikut :

1. Hasil Uji kualitatif dapat disimpulkan bahwa kulit buah pisang memiliki kandungan flavonoid. Hasil dari identifikasi kandungan senyawa flavonoid menunjukkan reaksi positif yang ditandai dengan timbulnya warna merah tua (Magenta)
2. Kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak terpurifikasi yaitu $67,65 \pm 0,257$ mgQE/g dan ekstrak kasar etanol nya yaitu $63,68 \pm 0,550$ mgQE/g
3. Nilai IC_{50} kulit buah pisang terpurifikasi sebesar 2,536 ppm dengan kategori sangat kuat, sedangkan ekstrak kasar etanol kulit buah pisng sebesar 2,90 ppm dengan kategori sangt kuat.



DAFTAR PUSAKA

- Anggraini, Y. E. (2017). Uji Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah Labu Kuning (*Curcubita maxima* D.) dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Skripsi*. Universitas Ngudi Waluyo
- Magfira (2018) ‘Analisis Penghambatan Ekstrak Etanol Batang Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Reaksi Oksidasi Dari Radikal Bebas Dengan Metode DPPH, ABTS Dan FRAP. *Skripsi*. Universitas Hasanudin Makasar. hal 17-18
- Pratama Mamat, A. Muflihunna, Nurazizah Octaviani. (2018) “Analisis Aktivitas Antioksidan Sediaan Popolis Yang Beredar Di Kota Makassar Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioksidan Power*)” *Jurnal Farmasi Indonesia*, 10 (10):11-18
- Pratama Mamat, A. Muflihunna, Nurazizah Octaviani. (2018) “Analisis Aktivitas Antioksidan Sediaan Popolis Yang Beredar Di Kota Makassar Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioksidan Power*)” *Jurnal Farmasi Indonesia*, 10 (10):11-18
- Selawa W, (2013) Runtuwene MRJ dan Citraningtyas G. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong.