

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Sub Pokok Bahasan

1.1.1 Klasifikasi Pisang

Tanaman pisang diklasifikasikan sebagai berikut (Supriyadi & Suyanti, 2008) :

Divisi : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonae*
Keluarga : *Musaceae*
Genus : *Musa*
Species : *Musa paradisiaca L*



Gambar 2.1 Pisang susu

1.1.2 Pisang Susu

Pisang susu adalah salah satu jenis pisang yang baik. Rasanya akan lebih enak jika dipanen saat masak. Rasanya lebih enak dibanding jenis pisang raja dan pisang ambon. Pisang susu lebih kering tetapi mudah dicerna, sangat cocok untuk dimakan bayi.

Pisang ini berbentuk kecil-kecil, bertekstur sangat lembut, tedapat bitnik hitam dikulitnya. Karena buahnya yang kecil pisang ini dibuat media belajar menguyah untuk bayi (Wardhady, 2014).

1. Kandungan Nutrisi Kulit Pisang

Kulit pisang sering sekali jadi bagian yang disingkirkan. Sedangkan kandungan nutrisinya lebih besar dari pada buahnya. Kalsium merupakan mineral paling besar yang terkandung dikulit. Kandungan nutrisi ini paling besar dibandingkan nutrisi yang dimiliki bunga, bonggol, batang dan buah (Wardhady, 2014).

2. Kandungan Kimia

Penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit pisang susu mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, terpenoid, fenol dan flavonoid (Asih *et al.*, 2018). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang berada di alam. Telah diketahui lebih dari 4.000 flavonoid, banyak yang terdapat dalam buah-buahan, sayuran dan minuman seperti kopi, minuman buah dan teh. Kuarsetin, kaempferol dan kuarsetin adalah flavonoid umum yang ada di hampir 70% dari tanaman. Kelompok lain dari flavonoid termasuk flavon, kalkon dan katekin, dihidroflavon, proantosianidin, flavonol, antosianidin, flavan, dan leukoantosianidin. Kapasitas flavonoid untuk bertindak sebagai antioksidan tergantung pada struktur molekulnya. Posisi gugus hidroksil dan fitur lainnya dalam struktur kimia dari flavonoid

penting untuk aktivitas antioksidan dan radikal. (Bohari, 2018).

1.1.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah aktivitas penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut pada pelarut sehingga dapat terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstrak simplisia mengandung senyawa aktif yang tidak dapat larut dan senyawa yang larut seperti protein, serat, karbohidrat, dan sebagainya. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia terdiri dalam golongan flavonoid, alkaloid, minyak atsiri dan lain-lain (Depkes RI, 2000b).

Simplisia yang sudah diketahui senyawa aktifnya akan mempermudah memilih pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti daun dan rimpang mudah diserap oleh pelarut, oleh karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Kulit akar, dan kulit kayu merupakan simplisia yang keras sehingga susah diserap oleh pelarut, oleh karena itu perlu diserbukan sampai halus. Selain sifat fisik juga harus memperhatikan kandungan senyawa aktif dari simplisia dan harus juga memperhatikan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia (Depkes RI, 2000b).

Ekstraksi adalah suatu teknik pemisahan satu atau lebih senyawa-senyawa kimia dari sampel dengan penggunaan pelarut (Leba, 2017). Metode ekstraksi terdapat dua cara yaitu dengan cara panas dan dengan cara dingin. Metode ekstraksi dengan cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Sedangkan maserasi dengan

cara panas terdiri dari Soxhlet, refluks, infusa, digesti, dan dekok (Depkes RI, 2000b).

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi terdiri dari waktu, jenis pelarut, jumlah pelarut yang digunakan Selama proses ekstraksi, suhu ukuran partikel, bahan aktif akan terlarut dan rasio bahan pelarut oleh zat pelarut yang sesuai sifat kepolarannya (Ibrahim *et al.*, 2016).

1.1.4 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000a).

Terdapat dua faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu faktor kimia dan faktor biologi. Faktor kimia terdiri dari dari dua faktor, yang pertama faktor internal meliputi : komposisi kualitatif senyawa aktif, jenis senyawa aktif dalam bahan, kadar total rata-rata senyawa aktif, dan komposisi kuantitatif senyawa aktif. Yang kedua faktor eksternal meliputi ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, metode ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, perbandingan ukuran alat ekstraksi, dan kandungan pestisida. Sedangkan faktor biologi terdiri dari lokasi tumbuh asal, waktu pemanenan, identitas/spesies jenis tumbuhan, umur tumbuhan dan

bagian yang digunakan, dan penyimpanan bahan tumbuhan (Depkes RI, 2000b).

1.1.5 Maserasi

Salah satu ekstraksi dengan cara dingin adalah maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan pengadukan atau pengocokan beberapa kali pada suhu ruangan. Maserasi termasuk ekstraksi menggunakan prinsip pencapaian keseimbangan konsentrasi. Dilakukannya pengadukan secara kontinu atau terus-menerus merupakan maserasi kinetik. Dilakukannya pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya itu merupakan remaserasi (Depkes RI, 2000b).

Metode sederhana yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk simplisia dan pelarut kedalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Ekstraksi akan dihentikan jika sudah tercapai kesetimbangan konsentrasi senyawa dalam pelarut. Setelah proses ekstraksi dilakukan penyaringan antara pelarut dengan sampel. Kerugian dalam ekstraksi maserasi ini adalah pelarut yang digunakan banyak, membutuhkan waktu yang lama untuk ekstraksi dan memungkinkan kehilangan beberapa senyawa. Namun metode ekstraksi maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Ibrahim *et al.*, 2016).

1.1.6 Radikal Bebas

1. Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan, terbentuk sebagai hasil antara (intermediet) dalam suatu reaksi organik melalui proses homolisis dari ikatan kovalen. Reaktivitas senyawa radikal bebas akan secepat mungkin menyerang komponen seluler yang berada disekelilingnya seperti senyawa lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA, maupun DNA. Akibat reaktivitas radikal bebas akan menimbulkan terjadinya kerusakan struktur maupun fungsi sel (Prasonto *et al.*, 2017).

Menurut Halliwell radikal bebas adalah suatu atom, gugus, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mengandung satu atau lebih electron tak berpasangan pada orbit terluar. Molekul tersebut diantaranya oksigen, atom hydrogen dan logam-logam transisi. Adanya electron yang tidak berpasangan menyebabkan molekul mudah tertarik pada medan magnetic sehingga menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas dapat bermuatan negative, positif, maupun tidak bermuatan (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas merupakan senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan, sehingga menyebabkan bersifat tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga menyebabkan mudah

bereaksi dengan zat lain. Radikal bebas juga dapat menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh hingga dapat menimbulkan penyakit degeneratif. Radikal bebas menjadi awal penyebab kerusakan sel, sehingga muncul penyakit seperti penuaan dini, kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, katarak, dan liver (Ibrahim *et al.*, 2016).

2. Sifat Radikal Bebas

Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang tinggi yaitu cenderung menarik electron dan mempunyai kemampuan mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas baru sehingga terjadi reaksi berantai, dan reaksi akan berhenti jika radikal bebas diredam dengan antioksidan (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang bisa berdiri sendiri yang mengandung elektron yang tak berpasangan. Adanya electron yang tidak berpasangan menyebabkan molekul mudah tertarik pada medan magnetic sehingga menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas akan mengambil electron dan menyerang molekul stabil yang terdekat. Zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas baru dan akan terjadi reaksi berantai yang berakibat menyebabkan kerusakan sel (Yuslianti, 2018).

3. Tahap Reaksi Radikal Bebas

Radikal bebas baik eksogenus maupun endogenus terjadi melalui mekanisme reaksi. Pembentukan awal radikal

bebasyaitu inisiasi, kemudian terbentuknya radikal bebas baru atau propagasi, dan yang terakhir yaitu terminasi ialah pengubahan atau pemusnahan menjadi radikal bebas tak reaktif atau radikal bebas stabil.

Papas mengatakan reaksi oksidasi radikal bebas terdiri dari tahap insiasi yaitu pembentukan pertama radikal bebas, kemudian tahap propagasi adalah terbentuknya atau perambatan radikal bebas baru, selanjutnya yaitu terminasi ialah perubahan atau pemusnahan menjadi radikal bebas tak reaktif atau radikal bebas yang stabil (Yuslianti, 2018). Tahap reaksi radikal bebas adalah sebagai berikut :

a. Tahap Inisiasi

Radikal bebas terbentuk dan menyerang lipid, selanjutnya radikal lipid bereaksi dengan oksigen membentuk radikal lipid peroksid. Kemudian menyerang molekul lipid yang lain dan mengambil molekul hydrogen untuk membentuk lipid hidroperoksid dan pada waktu yang sama menyerang lipid lain yang berikatan dengan oksigen.

b. Tahap Propagasi

Pada tahap ini terjadi perpanjangan rantai radikal. Reaksi ini kemudian menyebar dan satu dari molekul radikal dari proses inisiasi menyebabkan terjadinya oksidasi pada banyak molekul.

c. Tahap Terminasi

Terjadi reaksi senyawa radikal dengan senyawa radikal yang lain sehingga potensi propagasinya rendah.

1.1.7 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat oksidasi radikal bebas (Antarti & Lisnasari, 2018). Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa yang mendonorkan elektronnya untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas yang dapat merusak tubuh. Secara alami, senyawa antioksidan banyak terdapat dalam buah dan sayur. Pisang merupakan buah yang paling banyak dikonsumsi, baik secara langsung maupun melalui hasil olahan (Souhoka *et al.*, 2019).

Antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa

radikal bebas menjadi stabil. Meenakshi mengelompokkan antioksidan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan. Penggunaan antioksidan buatan dalam bahan pangan harus berhati-hati. Penggunaan dalam jangka waktu lama dan dosis yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan kesehatan karena bersifat karsinogen. Hal ini mendorong berbagai penelitian untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman dari sumber alami yang banyak ditemukan dalam buah-buahan, biji-bijian dan sayur-sayuran (Ibrahim *et al.*, 2016).

Secara alami, tubuh manusia sudah memproduksi antioksidan untuk mengimbangi jumlah oksidan yang masuk kedalam tubuh namun dikarenakan jumlah oksidan yang masuk melebihi batas kemampuan yang bisa diterima oleh antioksidan alami tubuh maka diperlukan antioksidan lain yang berasal dari luar. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintetik maupun yang berasal dari bahan alam. Antioksidan sintetik yang sudah banyak digunakan seperti *buthylated hydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA), dan *tert-butyl hidroquinone* (TBHQ) secara efektif dipercaya dapat menghambat oksidasi. Namun, penggunaan antioksidan sintetik dibatasi oleh aturan pemerintah karena penggunaan yang melebihi batas dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik sehingga dibutuhkan alternatif antioksidan lain yang aman untuk digunakan. Salah satu sumber potensial antioksidan

alami adalah tumbuhan (Wulansari, 2018).

Mekanisme pertahanan oksidan terbagi dalam 3 jenis yaitu primer, sekunder, dan tersier. Mekanisme pertahanan primer bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas dengan memberikan satu elektron kepada molekul yang reaktif. Contoh antioksidan ini adalah asam askorbat, flavonoid, dan tokoferol. Mekanisme pertahanan sekunder bekerja dengan cara mengikat logam dan menyingkirkan logam transisi yang menyebabkan pemicuan pada radikal bebas. Contoh antioksidan ini adalah transferrin dan albumin. Mekanisme pertahanan tersier bekerja dengan cara mencegah penumpukan biomolekul agar tidak menyebabkan kerusakan lebih lanjut. Contohnya seperti perbaikan DNA yang rusak oleh enzim metionin reduktase dan protein teroksidasi oleh enzim proteolitik (Wulansari, 2018).

1.1.8 Metode DPPH

Metode DPPH dalam pengujian antioksidan merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan, metode ini merupakan metode yang sederhana, cepat, serta bahan kimia dan sampel yang digunakan hanya sedikit (Jami'ah *et al.*, 2018).

Radikal bebas yang biasa digunakan untuk mengukur daya penangkal radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil, jadi apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkal radikal bebas

cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini *et al.*, 2016).

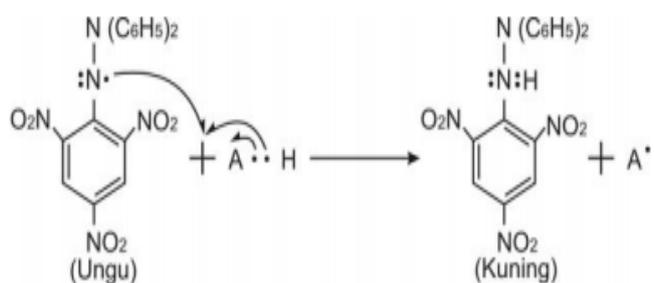
DPPH (2,2 difenil-1- pikrihidrazil) merupakan suatu senyawa radikal yang bersifat stabil. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. Metode DPPH memiliki keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil namun pengujian menggunakan DPPH terbatas karena DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik.

Pengujian menggunakan DPPH akan menghasilkan informasi mengenai aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dilihat berdasarkan nilai IC_{50} dan data yang dihasilkan perlu dibandingkan dengan senyawa lain yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik seperti asam askorbat dan vitamin C. IC_{50} yaitu besarnya konsentrasi inhibisi larutan uji terhadap

kemampuannya menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Data tersebut akan digunakan untuk diteliti lebih lanjut mengenai pengaruh intensitas antioksidan terhadap aktivitas lain yang berhubungan langsung terhadap ROS seperti efeknya terhadap antiaging dan whitening dalam bidang kosmetik maupun sebagai suplemen kesehatan. (Wulansari, 2018)

Pengujian dengan cara ini dilakukan dengan cara mengukur penangkapan radikal sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar. Radikal sintetik yang digunakan adalah DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan ABTS (2,2-azinobis-3-etil benzothiazolin-asam sulfonat) (Desmarchelier, *et al.*, 1998).

Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang stabil berwarna ungu. Ketika direduksi oleh radikal akan berwarna kuning (diphenyl picrylhydrazin). Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer Hx sekaligus juga untuk mengukur aktifitas penghambatan radikal bebas. Hasil perubahan warna dari ungu menjadi kuning stokiometrik dengan jumlah elektron yang ditangkap. Metode ini sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan artiradikal suatu senyawa sebab hasil terbukti akurat, reliabel dan praktis, selain itu sederhana, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. Reaksi DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.2.



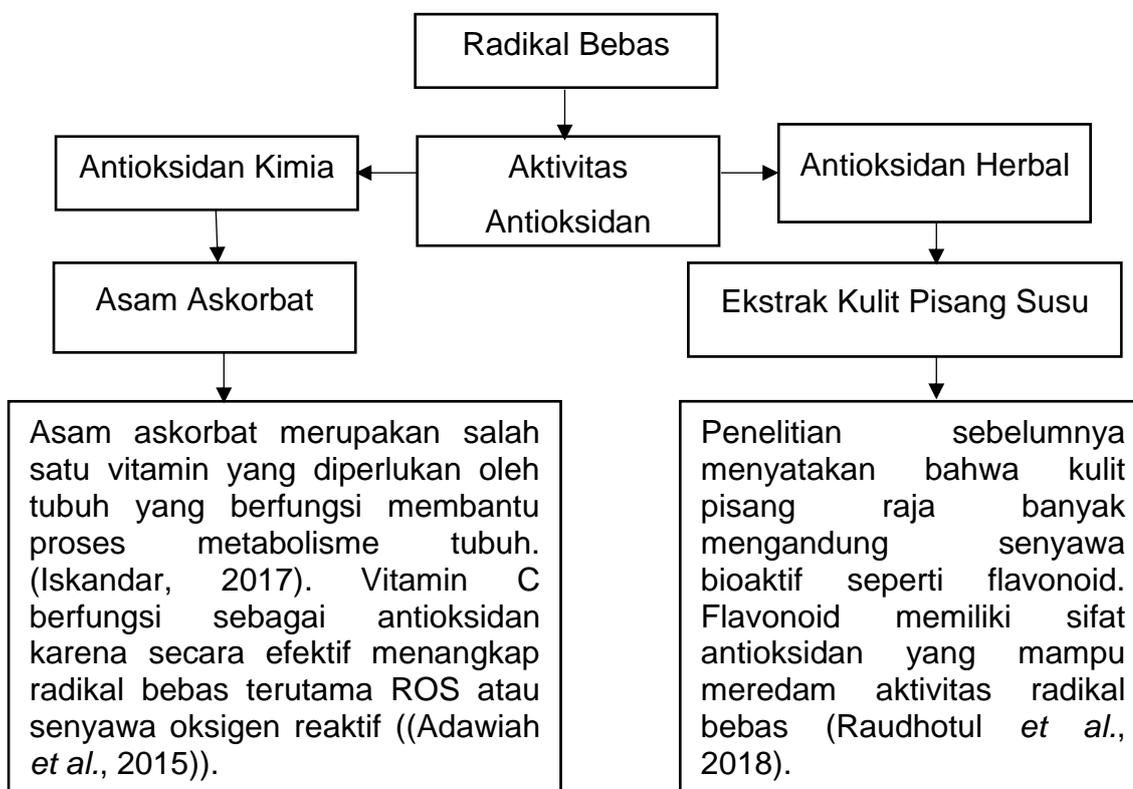
Gambar 2.2 “Reaksi DPPH dan Antioksidan”

1.1.9 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri Uv-Vis dapat digunakan untuk informasi baik analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif. Analisis kualitatif dapat digunakan untuk mengidentifikasi kualitas obat atau metabolitnya. Data yang dihasilkan oleh Spektrofotometri Uv-Vis berupa panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH dan pelarut, sedangkan dalam analisis kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya (Putri & Setiawati, 2015).

Metode ini didasarkan pada pengukuran energi cahaya oleh zat kimia pada panjang gelombang maksimum tertentu. Sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm, dan ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm. Pada metode ini ada suatu hukum yang menjadi acuan adalah penentuan suatu zat secara kuantitatif, yaitu hukum Lambert-Beer. Hukum Lambert-Beer adalah hukum yang menyatakan hubungan berbanding lurus antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmittan (Iskandar, 2017).

1.2 Kerangka Konseptual



Gambar 2.3 Kerangka Konsep Penelitian “Uji antioksidan ekstrak kulit pisang susu menggunakan metode DPPH”

1.3 Deskripsi Kerangka Konseptual

Kulit pisang jarum memiliki kandungan flavonoid sehingga memiliki aktivitas antioksidan. Kulit pisan susu juga memiliki kandungan flavonoid , oleh karena itu kulit pisang susu memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan kerangka konseptual diatas, yang pertama dilakukan untuk uji antioksidan pada ekstrak kulit pisang susu adalah menguji kandungan senyawa kimia pada ekstrak tersebut, kemudian dilakukan pembagian konsentrasi ekstrak menjadi beberapa konsentrasi, selanjutnya dilakukan uji antioksidan

menggunakan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv-vis.

1.4 Hipotesis

Ekstrak kulit pisang susu memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang baik. Dengan adanya kandungan senyawa kimia flavonoid yang terdapat pada kulit pisang susu tersebut. Aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya nilai IC_{50} yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%.