

Ulasan Pustaka Strategi Isolasi Senyawa Flavonoid yang Memiliki Aktivitas Antioksidan dari Tanaman Pisang (*Musa Paradisiaca* L)

Siti Hapsoh Anwariyah & Yani Lukmayani & Esti Rachmawati Sadiyah

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: shapsoh99@gmail.com, lukmayani@gmail.com, esti.sadiyah@gmail.com

ABSTRACT: Banana plants have various types and are widespread throughout Indonesia. Banana plants have a high flavonoid content and have antioxidant potential. The purpose of this study was to study general ways of isolating flavonoids that have antioxidant activity. Good extraction methods for isolating flavonoids are maceration, reflux, and soxhlet methods. The solvent used for extraction must be polar so that all polar compounds are attracted and flavonoids are included in the polar compound. Commonly used solvents include methanol, ethanol, and other polar solvents. Then the fractionation process is carried out on the selected extract. Regarding the result of extraction and fractionation, Thin Layer Chromatography (TLC) monitoring may be done to determine the band to be isolated and identification. The purity test of isolates can be done by one-dimensional TLC and two-dimensional TLC. Isolates characteristic determination may be done using spectrophotometry. Testing the antioxidant activity of flavonoid compounds using the DPPH method with IC50 as a parameter. The results of the isolation and identification of banana plant parts containing two antioxidant flavonoids are rutin and kaempferol-3-O-Rutinosida.

Keywords: Isolation, Characteristics, Banana plant, Flavonoids, Antioxidants.

ABSTRAK: Tanaman pisang memiliki berbagai jenis dan tersebar luas di seluruh Indonesia. Tanaman pisang memiliki kandungan flavonoid yang tinggi dan memiliki potensi antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari cara umum mengisolasi flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan. Metode ekstraksi yang baik untuk mengisolasi flavonoid adalah metode maserasi, refluks, dan soxhlet. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus polar agar semua senyawa polar tertarik dan flavonoid termasuk dalam senyawa polar. Pelarut yang umum digunakan termasuk metanol, etanol, dan pelarut polar lainnya. Kemudian dilakukan proses fraksinasi pada ekstrak terpilih. Terhadap hasil ekstraksi dan fraksinasi, pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilakukan untuk menentukan pita yang akan diisolasi dan diidentifikasi. Uji kemurnian isolat dapat dilakukan dengan KLT satu dimensi dan KLT dua dimensi. Penentuan karakteristik isolat dapat dilakukan dengan spektrofotometri. Pengujian aktivitas antioksidan senyawa flavonoid menggunakan metode DPPH dengan IC50 sebagai parameternya. Hasil isolasi dan identifikasi bagian tanaman pisang yang mengandung dua senyawa flavonoid antioksidan adalah rutin dan kaempferol-3-O-rutinosida.

Kata Kunci: Isolasi, Karakteristik, Tanaman pisang, Flavonoid, Antioksidan.

1 PENDAHULUAN

Tanaman pisang (*Musa x paradisiaca* L) merupakan tanaman unggulan Indonesia, yang memiliki volume produksi nasional maupun internasional dengan hasil panennya melebihi komoditas lainnya. Pada tahun 2018, produksi buah pisang di Indonesia mencapai 7.264.383 ton dan merupakan produksi buah terbesar dibandingkan dengan produksi buah lainnya (Badan Pusat Statistik Republik Indonesia, 2018: 12).

Tanaman pisang merupakan tumbuhan yang memiliki berbagai macam jenis dan tersebar luas

di seluruh Indonesia. Jenis pisang yang ada di Indonesia di antaranya adalah, pisang kepok, pisang emas, pisang raja, pisang tanduk, pisang kapas, pisang nangka, pisang cavendish, dan pisang kelutuk (batu).

Bagian tanaman pisang dapat dimanfaatkan mulai dari bonggol yang dapat dijadikan sebagai olahan makanan, getah dari batangnya dapat dijadikan sebagai obat diare, daun yang masih menggulung dapat dijadikan obat sedangkan daun yang sudah tua dapat digunakan sebagai pembungkus makanan, bunga yang berwarna ungu dapat dijadikan sebagai olahan sayur, dan buah pisang dapat dimakan langsung atau dijadikan

(Giorgio, 2000 dalam Zuhra, dkk, 2008: 7).

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (electron donor) yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid. Antioksidan juga merupakan senyawa yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan kerja fungsi sistem imunitas tubuh, terutama dalam menjaga integritas dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat, serta mengontrol transduksi signal dan ekspresi gen dalam sel imun (Winarsi, 2007 : 77).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat menggunakan metode DPPH. DPPH radikal terserap pada panjang gelombang 512 nm, aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan memantau penurunan absorbansi ini (Robads, dkk, 2001). Metode DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhydrazil radical) merupakan metode untuk mengukur kekuatan antioksidan dengan parameter IC50. IC50 adalah kadar suatu senyawa yang dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Karena itu semakin kecil besarnya IC50 maka potensi antioksidannya semakin besar.

3 METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan cara studi literatur. Pencarian data yang digunakan sebagai acuan dalam *review article* ini dengan menelusuri melalui internet menggunakan situs google.com. Keyword yang digunakan untuk mencari artikel di antaranya "Isolasi Flavonoid dari kulit buah", "Karakteristik Flavonoid golongan flavanol", "Isolasi Flavonoid berpotensi antioksidan dari kulit buah". Selanjutnya artikel atau jurnal yang telah diperoleh dalam bentuk pdf dan *text book* digunakan sebagai sumber dan pustaka-pustaka primer pada *review article* ini. Jurnal yang digunakan pada *review article* ini dapat diakses di beberapa situs seperti *google scholar*, *researchgate*, dan beberapa situs lainnya.

Dari beberapa sumber jurnal yang telah diperoleh dilakukan proses penyeleksian. Proses penyeleksian ini berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Kriteria inklusi berupa isolasi flavonoid dari kulit buah pisang, aktivitas antioksidan dari kulit buah pisang, flavonoid yang berpotensi antioksidan, isolasi flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan serta karakteristik dari golongan flavonoid yang terdapat pada kulit buah. Sedangkan untuk kriteria

bahan olahan (Widiyatni, 2010 : 5-8). Pisang sering dikonsumsi oleh masyarakat dengan cara diolah terlebih dahulu menjadi keripik, kolak, dan olahan lainnya. Buah pisang memang memiliki rasa sedikit sepat, dan sedikit asam. Kulit buah pisang mengandung senyawa metabolit sekunder salah satunya adalah flavonoid.

Berdasarkan pemaparan latar belakang di atas, maka permasalahan yang timbul adalah bagaimana karakteristik dari simplisia tanaman pisang serta cara umum dalam melakukan isolasi flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan ?

Tujuan dari penelitian ini untuk mempelajari cara umum mengisolasi flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini menghasilkan informasi mengenai strategi umum dalam melakukan isolasi flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

2 LANDASAN TEORI

Pisang yang tersebar merupakan hasil persilangan alami dari pisang liar dan pisang yang telah mengalami domestikasi. Beberapa literature menyebutkan pusat keanekaragaman tanaman pisang berada di kawasan Asia Tenggara (Satuhu dan Supriyadi, 1990).

Kandungan gizi yang terdapat di dalam buah pisang matang di antaranya air, besi, fosfor, kalori, kalsium, karbohidrat, lemak, protein, serat, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C. Selain itu, kandungan yang terdapat di dalam kulit buah pisang di antaranya asam malat, asam palmitat, asam, suksinat, alfa-sitosterol, gallokatekin, dopamin, besi, fosfor, kalium, magnesium, vitamin A, vitamin B6, vitamin C, dan vitamin E (Chabuck, 2013 : 73).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa buah pisang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi anemia, depresi, gangguan saraf, mensuplai energi dalam otak, sakit jantung, sembelit, dan tekanan darah (Chabuck dkk, 2013 : 73).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang melimpah di alam dan merupakan salah satu golongan fenol yang terbesar. Flavonoid dapat ditemukan pada semua bagian tumbuhan termasuk akar, kayu, kulit, tepung sari, nectar, buah buni, bunga, biji, dan daun (Markham, 1988: 10). Flavonoid memiliki kemampuan untuk mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Selain itu senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi

eksklusinya berupa jurnal yang diterbitkan lebih lama dari tahun 2010, dengan spesifikasi sumber yang digunakan setidaknya terdapat 10 jurnal Indonesia yang terindeks Sinta dan 10 jurnal Internasional.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi menjadi tahapan awal yang harus diperhatikan, karena berkaitan dengan senyawa yang akan diperoleh. Dalam menentukan metode ekstraksi maka yang harus diketahui pertama kali adalah sifat komponen senyawa yang akan diperoleh pada tanaman tersebut bersifat termolabil atau termostabil, jumlah simplisia yang akan diekstraksi, bahan simplisia yang akan diekstraksi, dan lainnya. Senyawa yang akan diperoleh bersifat termostabil maka dapat menggunakan metode ekstraksi dengan cara dingin dan cara panas.

Metode ekstraksi yang sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid adalah maserasi, refluks, dan soxhlet. Ekstraksi dengan cara refluks dan soxhlet dapat menjadi alternatif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid karena flavonoid merupakan senyawa yang termostabil atau senyawa yang tahan terhadap pemanasan. Dengan adanya proses pemanasan akan membantu pemecahan dinding sel senyawa flavonoid pada sampel sehingga dapat terekstraksi secara maksimal (Kusnadi dkk, 2017 : 61). Selain itu, dengan cara maserasi memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi lainnya dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid karena alat yang digunakan untuk maserasi sederhana, dan dapat digunakan untuk mengekstraksi bahan dalam jumlah yang banyak.

Senyawa flavonoid termasuk ke dalam kelompok senyawa fenolat dengan aktivitas antioksidan yang dapat larut dalam pelarut polar (Luo et al dalam Sonibari et al). Untuk memperoleh ekstrak yang kaya akan antioksidan, maka proses ekstraksinya harus optimal. Pelarut berperan penting dalam memperoleh ekstrak tersebut karena dapat meningkatkan kelarutan senyawa antioksidan. Pelarut yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi di antaranya methanol, etanol, aseton, propanol, etil asetat, dan dimetilformamida dengan konsentrasi pelarut yang berbeda (Alothaman et al dalam Shian et al, 2012 : 321; Gonzales et al, 2010 : 354).

Fraksinasi adalah proses pemisahan antara zat

cair dengan zat cair yang memiliki kepolaran berbeda. perusahaan. Pada proses fraksinasi pun dilakukan pemantauan KLT untuk mengetahui eluen yang sesuai yang dapat digunakan pada proses KLT preparative.

Dalam melakukan identifikasi senyawa flavonoid, dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi flavonoid secara kualitatif dapat diketahui dengan ada atau tidaknya reaksi atau perubahan warna melalui penapisan fitokimia, kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, kromatografi dua dimensi, dan IR. Sedangkan proses isolasi secara kuantitatif dapat dilakukan dengan mengukur absorbansi melalui spektrofotometer UV-Sinar Tampak.

Sebelum dilakukan isolasi, dilakukan penapisan fitokimia terlebih dahulu terhadap simplisia atau ekstrak yang berfungsi untuk mengetahui kandungan senyawa apa saja yang terdapat di dalamnya. Hasil penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kulit buah pisang kepek, ekstrak kulit buah pisang nangka, dan ekstrak kulit buah pisang uli dapat dilihat pada Tabel 1 (Nursanti dkk, 2018 : 131).

Tabel 1 Hasil penapisan fitokimia kulit buah pisang kepek, kulit buah pisang nangka, dan kulit

Golongan Senyawa	Ekstrak Kulit Pisang Kepek	Ekstrak Kulit Pisang Nangka	Ekstrak Kulit Pisang Uli	Positifa
Alkaloid	+	-	+	+
Flavonoid	+	-	+	+
Saponin	+	-	+	+
Tanin	+	-	+	+
Karoten	+	-	+	+
Kolesterol	+	-	+	+
Strokolipid	-	-	-	-
Stero / Steroid	-	-	-	-

buah pisang uli

Keterangan :

(+) = Positif/Terdeteksi

(-) = Negatif/Tidak Terdeteksi

Sehingga dengan mengetahui kandungan senyawa yang terdapat di dalam simplisia ataupun ekstrak dapat memudahkan dalam mencari senyawa yang ditargetkan.

Sebelum dilakukan pengukuran panjang gelombang menggunakan spektrofotometri, maka dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT satu dimensi dan KLT dua dimensi. Pada KLT satu dimensi eluen yang digunakan menggunakan campuran eluen yang berbeda. Dari masing-masing eluen jika menimbulkan noda tunggal

menunjukkan bahwa isolat tersebut telah murni. Untuk lebih memastikan isolat tersebut telah murni dilakukan juga KLT dua dimensi dengan eluen yang berbeda dan jika hasilnya tetap sama yaitu menimbulkan noda tunggal maka isolat sudah murni. Sesuai dengan yang dikatakan oleh Manjang “Jika sudah terbentuk noda tunggal pada plat KLT dan range titik leleh yang kecil dari 2°C menunjukkan kristal hasil isolasi sudah murni.” (Manjang, 1985 dalam Sabariah, 2013 : 110).

Spektrofotometri UV-Sinar Tampak merupakan cara tunggal dalam menganalisis struktur flavonoid dan digunakan dalam mengidentifikasi jenis flavonoid serta menentukan pola oksigenase. Bercak yang diperoleh dilarutkan dengan menggunakan pelarut methanol atau etanol. Pelarut yang umum digunakan yaitu pelarut metanol, karena jika menggunakan pelarut etanol spektrum yang dihasilkan kurang baik (Markham, 1988 : 38-39).

Penelitian yang dilakukan oleh Walida, dkk (2016 : 159) menafsirkan bahwa hasil spektrum dari isolate ekstrak jantung pisang yang telah dilarutkan dengan methanol terdapat dua puncak dengan panjang gelombang 255 nm (pita II) dan panjang gelombang 373 nm (pita I) menunjukkan senyawa golongan flavonol. Di samping itu, penambahan AlCl₃ mendeteksi gugus hidroksil dan

gugus orto-hidroksil. Menunjukkan adanya pergeseran batokromik serapan maksimum pada pita I sebesar 64 nm, kemungkinan menunjukkan adanya 3-OH bebas (dengan atau tanpa 5-OH). Dan pergeseran berkurang dengan adanya penambahan HCl pada pita satu sehingga menunjukkan 5-OH.

Selain itu penelitian terhadap tanaman pisang dilakukan oleh Oresanya et al (2019) pada bagian daun dan buah. Fraksi etil asetat yang berasal dari daun diisolasi dan diidentifikasi. Hasil dari isolasi dan identifikasi pada fraksi etil asetat menunjukkan dua senyawa flavonoid yaitu rutin dan kaempferol-3-O-rutinoside. Metode karakterisasi yang digunakan adalah HPTLC-HRMS. Pada rutin dengan metode HRMS-ESI menunjukkan mode ionisasi negative yang memberikan puncak basa m/z pada 609,15 ditetapkan sebagai [M-H]⁻ dengan rumus C₂₇H₂₉O₁₆ dan pada kaempferol-3-O-rutinoside terdapat puncak ion positif m/z pada 593,15 [M-H]⁻ dan 617,15 [M+H]⁺ (Oresanya, 2019 : 12).

Pengujian antioksidan dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian secara kualitatif maka dilihat dari perubahan warna sedangkan pengujian secara kuantitatif dengan DPPH dilakukannya perhitungan IC₅₀. Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode DPPH ini termasuk ke dalam metode secara kualitatif dan kuantitatif. Metode secara kualitatif hanya dengan menyemprotkan DPPH pada plat KLT yang di elusi dengan menggunakan eluen, memberikan hasil positif karena terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning setelah proses penyemprotan. Sedangkan metode secara kuantitatif menggunakan parameter IC₅₀ (Shian et al, 2012 : 321).

Penelitian yang dilakukan oleh Ahmed et al (2019), kulit pisang diekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda yaitu air, methanol 80%, etanol 80%, dan aseton 80%. Perbandingan yang digunakan yaitu BHT. Selanjutnya ke empat ekstrak tersebut diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan parameter IC₅₀. Nilai IC₅₀ yang diperoleh pada ekstrak air adalah 120,03 ppm; pada ekstrak methanol adalah 56,22 ppm; ekstrak etanol adalah 75,34 ppm, dan ekstrak aseton adalah 55,45%. Dari keempat ekstrak tersebut yang memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat yaitu ekstrak methanol, etanol, dan aseton karena nilai IC₅₀ berada pada rentang 50-100 ppm dimana pada rentang tersebut termasuk kategori kuat. Sedangkan pada ekstrak air termasuk sedang karena nilai IC₅₀ lebih dari 100 ppm.

Pengujian aktivitas antioksidan juga dilakukan pada kulit pisang Cavendish dan kulit pisang omini. Kedua jenis pisang tersebut diekstraksi dengan menggunakan metode soxhlet dan pelarut yang digunakan adalah methanol dan etanol. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan diperoleh nilai aktivitas antioksidan yang tinggi terhadap ekstrak methanol dibandingkan dengan ekstrak etanol. Aktivitas antioksidan dari pisang omini ekstrak methanol 51,66% dan ekstrak etanol 30,27%. Sedangkan aktivitas antioksidan dari pisang Cavendish diperoleh 30,82% pada ekstrak methanol dan 25,44% pada ekstrak etanol (Awele et al, 2016).

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap kulit buah pisang raja dengan menggunakan metode maserasi dan pelarut yang digunakan methanol.

Kulit buah pisang raja di maserasi selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Ekstrak kental methanol kulit buah pisang raja yang telah ditambahkan larutan DPPH dan methanol selanjutnya di inkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C. Digunakan suhu 37°C karena menyesuaikan dengan suhu normal tubuh manusia. Lalu serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan perhitungan parameter IC50 untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak kulit buah pisang raja. Perbandingan yang digunakan pada pengujian ini adalah vitamin

C. Nilai IC50 yang diperoleh pada ekstrak methanol kulit buah pisang raja adalah 46,82 ppm dan nilai

IC50 yang diperoleh pada vitamin C adalah 24,49 ppm. Hasil dari kedua sampel tersebut termasuk ke dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC50 kurang dari 50 ppm (Raudhotul dkk, 2018 :37).

Berdasarkan hasil penelusuran pustaka yang diperoleh, bahwa tanaman pisang memiliki aktivitas antioksidan terutama pada bagian kulit buah pisang. Kulit buah pisang memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Jika dilihat dari tabel klasifikasi aktivitas antioksidan, masing-masing ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan kuat sampai sangat kuat. Yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi. Selain itu pada kulit pisang banyak mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik sehingga mudah larut dalam pelarut polar (Nabavi dalam Raudhotul dkk, 2018 : 37).

Dan flavonoid bersifat antioksidan sehingga mampu meredam aktivitas radikal hidroksil (Sidana dalam Raudhotul dkk, 2018 : 37-38).

5 KESIMPULAN

Tanaman pisang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik. Senyawa bioaktif yang terdapat pada senyawa antioksidan adalah fenol dan flavonoid. Dalam melakukan isolasi flavonoid maka metode ekstraksi yang dapat digunakan maserasi, refluks, dan soxhlet dengan pelarut yang digunakan adalah methanol, etanol, dan pelarut polar lainnya. Uji kemurnian dapat dilakukan dengan metode KLT satu dimensi dan KLT dua dimensi. Hasil isolasi dan identifikasi terhadap tanaman pisang bagian daun

mengandung dua senyawa flavonoid yaitu rutin dan kaempferol- 3-O-rutinoside.

SARAN

Perlu dilakukan proses isolasi senyawa berdasarkan strategi yang telah diperoleh terhadap tanaman pisang untuk mengetahui golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A., Kamrunnessa., Rahman, M., Kar, A. (2019). Extraction and Evaluation of Phytochemicals From Banana Peels (*Musa sapientum*) and Banana Plants (*Musa paradisiaca*). *Malaysian Journal of Halal Research Journal* : 22-26.
- Badan Pusat Statistik Republik Indonesia. (2018). *Statistik Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan Indonesia*.
- Chabuck, Z. (2013). Antimicrobial Effect Of Aqueous Banana Extract. *Research Gate*. 27, 73-75.
- Gonzalez, R., Gloria, M., Gonzalez, M. (2010). The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidants capacity of methanolic banana peel extracts. *Separation and Purification Technology* 71 : 347-355.
- Kusnadi, K., Triana, E. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Dengan Metode Refluks. *Tegal : Pancasakti Science Education Journal*, 2 (1) : 56-67