



Pada umumnya jantung pisang berwarna keunguan dan memiliki bunga putih yang berbentuk panjang didalam lapisan kulit jantung pisang yang berwarna ungu (Kartika *et al.*, 2016)

### **2.1.2 Morfologi Tanaman**

#### **a. Pisang Nangka**

Pisang nangka memiliki warna buah hijau jika sudah matang, namun akan berwarna hijau kekuningan jika sudah sangat matang. Daging buah memiliki rasa yang manis dan asam, aromanya wangi, daging buah berwarna kuning kemerahan. Panjang buah bisa mencapai 24-28 cm (Silalahi, 2020). Jantung pisang nangka berbentuk lonjong (Sihotang dan Waluyo, 2021).

#### **b. Pisang Ambon**

Pisang ambon memiliki pohon yang tinggi dan besar. Tangkai daun tegak, sedikit berwarna kuning, banyak tepungnya dan daunnya besar dibandingkan jenis lainnya. Buahnya lurus dan memiliki penampang melintang buah persegiempat lebih jelas. Umumnya kulit buah memiliki warna kuning dan jika matang akan berwarna lebih kekuningan. Jantung pisang ambon memiliki ukuran yang besar dan lonjong (Mulyanti *et al.*, 2015).

#### **c. Pisang Tanduk**

Pisang tanduk memiliki buah yang besar dan menyerupai tanduk. Pisang tanduk jika matang buahnya berwarna coklat kemerahan dan terdapat bintik-bintik. Warna daging buah putih

kemerahan dan cocok dibuat sebagai olahan (Silalahi, 2020). Jantung pisang tanduk memiliki bentuk lonjong (Sihotang dan Waluyo, 2021).

### **2.1.3 Kandungan Fitokimia**

#### **a. Pisang Nangka**

Kandungan fitokimia pada pisang nangka yaitu flavonoid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan alkaloid (Hilma *et al.*, 2016).

#### **b. Pisang Ambon**

Kandungan fitokimia pada pisang ambon yaitu terpenoid dan saponin, tannin, dan alkaloid (Haryatmi *et al.*, 2017).

#### **c. Pisang Tanduk**

Pisang tanduk memiliki kandungan fitokimia yaitu flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, polifenol, vitamin A, B, dan vitamin C (Nugraheni *et al.*, 2018).

### **2.1.4 Khasiat**

#### **a. Pisang Nangka**

Pisang nangka memiliki khasiat yang baik bagi tubuh. Pisang nangka bisa membantu menjaga kesehatan ginjal, selain itu, kandungan zat besi pada pisang nangka juga bisa bantu menambah darah pada penderita anemia (Yuliana *et al.*, 2021).

#### **b. Pisang Ambon**

Buah pisang ambon dapat memberikan manfaat antioksidan dalam meningkatkan sistem imunitas dan membantu memaksimalkan

penyerapan zat besi dan mensintesis *heme* dalam memproduksi hemoglobin (Muslikah dan Sulastri, 2017).

c. Pisang Tanduk

Manfaat pisang tanduk untuk kesehatan lainnya seperti mengatasi sembelit, mengatasi diabetes, mengatasi peradangan, menjaga daya tahan tubuh, mengontrol tekanan dan kadar gula darah, dan menurunkan risiko anemia (Fauziah *et al.*, 2016)

## **2.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Simplisia adalah bahan alam yang dikeringkan dan belum mengalami pengolahan. Suhu pengeringan merupakan faktor utama yang mempengaruhi simplisia. Simplisia dikeringkan dengan suhu tidak lebih dari 60 °C. Simplisia dibagi menjadi simplisia nabati, hewani, dan mineral (Usboko, 2018).

### **2.2.1 Jenis Simplisia**

a. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berasal dari tumbuhan secara utuh maupun terpisah atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman (Ulfah *et al.*, 2022).

#### b. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari bagian hewan secara utuh, potongan tubuh hewan atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan berupa zat kimia murni (Wahyuni *et al.*, 2017).

#### c. Simplisia Mineral

Simplisia mineral atau pelikan adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan sederhana dan merupakan zat kimia murni (Wahyuni *et al.*, 2017).

### 2.2.2 Proses Pembuatan Simplisia

#### a. Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi dapat mempengaruhi hasil simplisia. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Cahyadi *et al.*, 2018).

#### b. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dan mata air, air sumur dan PDAM

(Perusahaan Daerah Air Minum), karena air untuk mencuci sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia, apabila air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (*Rivai et al., 2017*).

c. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (*Handoyo dan Pranoto, 2020*).

d. Pengeringan

Proses pengeringan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut:

- a) Menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri.

b) Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif.

c) Memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya) (Handoyo dan Pranoto, 2020).

Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10 %. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60 °C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30 °C sampai 45 °C. Proses pengeringan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen (Handoyo dan Pranoto, 2020).

#### e. Sortasi Kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak. Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang

tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Cahyadi et al., 2018).

f. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya. Persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert atau tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Darsini, 2022).

### **2.3 Ekstraksi**

Dalam Farmakope Indonesia Edisi IV disebutkan bahwa, ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi suatu bahan untuk mendapatkan senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan hingga tersisa massa atau serbuk yang diperlakukan hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi terbagi menjadi dua metode yaitu ekstraksi dengan menggunakan cara dingin dan cara panas. Metode ekstraksi dengan cara dingin dan cara panas di bagi sebagai berikut (Depkes RI, 2000) :

### **2.3.1 Cara Dingin**

#### **a. Maserasi**

Maserasi adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Dalam maserasi juga ada remaserasi, yang berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

#### **b. Perkolasi**

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna dan umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Tahap perkolasi (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan.

### **2.3.2 Cara Panas**

#### **a. Refluks**

Refluks adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya proses ekstraksi refluks dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna dan mendapatkan hasil yang maksimal.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) pada temperatur 40 – 50 °C.

d. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (dengan temperatur 96 – 98 °C) selama waktu ( $\pm$  15 - 20 menit).

e. Dekokta

Dekok adalah metode ekstraksi yang hampir mirip dengan metode ekstraksi infusa namun pada waktu yang lebih lama ( $\pm$  30 °C) dan temperatur sampai titik didih air.

## 2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas akan bermanfaat bagi kesehatan jika dalam jumlah yang normal misalnya dapat mencegah peradangan, membunuh bakteri, dan mencegah tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Sementara dalam jumlah berlebih akan mengakibatkan stres oksidatif. Keadaan tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat

sel, jaringan, hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit degeneratif (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas terbentuk melalui 3 langkah, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Proses awal pembentukan radikal bebas disebut dengan proses inisiasi sedangkan proses propagasi terjadi saat jumlah total radikal bebas yang ada mengalami peningkatan. Proses terminasi terjadi saat ada penurunan jumlah radikal bebas, misalnya saat dua molekul radikal bebas bergabung membentuk suatu molekul stabil (Widayati, 2022).

Radikal bebas akan terbentuk ketika suatu radikal bebas menyumbangkan satu elektronnya dan mengambil satu elektron dari molekul lain atau bergabung dengan molekul non radikal lainnya, akibatnya terjadi reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru. Reaksi radikal bebas dengan molekul non radikal bebas merupakan gambaran tentang bagaimana suatu reaksi berantai terjadi. Reaksi berantai ini akan terus berlanjut sampai radikal bebas itu dihilangkan oleh reaksi dengan radikal bebas lainnya atau sistem antioksidan didalam tubuh (Handayani *et al.*, 2018).

Radikal bebas adalah senyawa yang bereaksi dengan komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan sel, baik komponen-komponen struktural (misalnya molekul-molekul penyusun membran) maupun komponen-komponen fungsional (misalnya enzim-enzim dan DNA). Kerusakan oksidatif ini dipengaruhi oleh banyak faktor seperti: komposisi substrat (misalnya komposisi asam lemak), konsentrasi oksigen,

prooksidan yang dapat berupa *Reactive Oxygen Species (ROS)*, logam transisi, dan protein yang mengandung besi dan enzim (Putri, 2015).

Radikal bebas dibentuk oleh metabolisme *Xenobiotic* atau *metabolisme* sel aerob secara normal. *Reactive Oxygen Species (ROS)* adalah radikal bebas yang berperan penting pada beberapa proses fisiologis organ tubuh. Pembentukan ROS dapat menginduksi peroksidasi lipid yang bersifat sitotoksik akibat inisiasi suatu reaksi rantai ke dalam membran, diikuti reaksi propagasi sehingga secara keseluruhan mengakibatkan kerusakan sel (Putri, 2015).

Radikal bebas memiliki dua bentuk umumnya terdiri dari ROS dan *Reactive Nitrogen Species (RNS)*. Golongan ROS di antaranya ion *Superoxide*, *Hydrogen peroxide*, *Hydroxyl radical*, dan *Peroxyl radical*. RNS sering dianggap sebagai turunan dari ROS, di antaranya *Nitric oxide*, *Nitrous oxide*, *Peroxynitrite*, *Nitroxyl anion* dan *Peroxynitrous Acid* (Arief and Widodo, 2018). ROS (*Reactive Oxygen Species*) terdiri dari kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal. Kelompok radikal bebas antara lain *Superoxide Anion*, *Hydroxyl Radical*, dan *Peroxyl Radicals*, sedangkan yang termasuk kelompok non radikal misalnya *Hydrogen peroxide*, dan *Organic peroxides* (Suryadinata, 2018).

#### **2.4.1 Pembentukan Radikal Bebas**

Radikal bebas di produksi dalam sel yang secara umum melalui reaksi pemindahan elektron, menggunakan mediator enzimatik atau non enzimatik. Produksi radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara rutin

maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. Radikal bebas yang diproduksi secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa. Reaksi melalui rangsangan disebabkan oleh karena kebocoran superoksida, hidrogen peroksida dan kelompok oksigen reaktif (ROS) lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktivasi (Arief dan Widodo, 2018).

*Reactive Oxygen Species* dapat terbentuk sebagai produk samping selama reaksi oksidasi fosforilasi dalam rantai transpor elektron pada mitokondria. Oksidasi fosforilasi bertujuan untuk membentuk energi dalam bentuk ATP. Pembentukan ATP tersebut membutuhkan  $O_2$ , tetapi tidak semua  $O_2$  berikatan dengan hidrogen untuk membentuk air, dan hanya sedikit berubah menjadi radikal bebas (Suryadinata, 2018).

Satu molekul oksigen direduksi menjadi dua molekul air. Reduksi tersebut dilakukan dengan mentransfer empat elektron. Transfer elektron tersebut berlangsung empat tahapan. Hal ini terjadi karena dua elektron yang tidak berpasangan pada molekul oksigen terletak pada orbit yang berbeda dan menunjukkan angka putaran quantum yang sama, padahal untuk membentuk ikatan kovalen, dua elektron harus terletak pada orbit yang sama dan menunjukkan putaran yang berlawanan. Dengan demikian, maka oksigen hanya mampu menerima elektron tahap demi tahap dan hanya satu elektron tiap tahapnya. Pemindahan elektron yang tidak sempurna tersebut

mengakibatkan terbentuknya ROS (Suryadinata, 2018). Elektron pertama mereduksi oksigen untuk membentuk *Anion superoxide*, kemudian reduksi berikutnya membentuk *Hydrogen peroxide* dan *Hydroxyl radical*, elektron terakhir mereduksi *Hydroxyl radical* menjadi air (Ariono *et al.*, 2017). Di dalam sel sumber utama ROS adalah *Anion superoxide* dan hidrogen yang terbentuk sebagai produk samping metabolisme seluler seperti oksidasi fosforilasi dalam mitokondria (Arief dan Widodo, 2018).

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa alam yang mampu menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan mampu dihasilkan sendiri oleh tubuh ataupun dapat juga dihasilkan oleh bahan alam seperti buah-buahan dan sayuran yang kita makan. Antioksidan adalah substansi yang memiliki struktur molekul yang dapat dengan mudah memberikan elektronnya yaitu atom hidrogen kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai radikal bebas. Antioksidan juga dapat diartikan sebagai bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah reaksi oksidasi pada substrat yang dapat teroksidasi. Antioksidan bekerja dengan cara menyumbangkan elektronnya untuk menghentikan pembentukan radikal bebas, menetralkan serta memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas yang terjadi didalam tubuh (Dillasamola, 2016).

Tubuh manusia sebenarnya memproduksi antioksidan dalam jumlah yang sangat sedikit yang secara esensial berguna untuk mencegah stress oksidatif. Antioksidan alami yang diproduksi tubuh antara lain glutathion dan *katalase*. Namun karena tubuh hanya memproduksi sedikit, dibutuhkanlah asupan tambahan antioksidan (antioksidan eksogen) dari luar seperti suplemen. Contoh antioksidan eksogen yang cukup populer di masyarakat adalah vitamin C, vitamin E, beta-karoten dari tumbuhan dan ekstrak tumbuhan yang mengandung antioksidan seperti ekstrak jantung pisang (Pratama and Busman, 2020).

Antioksidan berperan sebagai pertahanan pertama tubuh terhadap radikal bebas. Kadar radikal bebas yang terus meningkat ditubuh didapatkan dari rokok, polusi, stress, dan lain sebagainya yang dapat menyebabkan berbagai kerusakan dalam tubuh dan memicu terjadinya penuaan dan penyakit degeneratif. Antioksidan akan mengontrol proses pembentukan dan reaksi dari radikal bebas sebelum radikal bebas menyerang sel supaya tidak berlanjut (Berawi dan Agverianti, 2017). Secara umum, dikenal tiga kelompok antioksidan, yaitu :

a. Antioksidan enzimatik

Mekanisme kerja antioksidan enzimatik adalah mengkatalisir (mempercepat) pemusnahan radikal bebas dalam sel. Contoh antioksidan yang termasuk golongan antioksidan enzimatik yaitu *superoksida dismutase*, *katalase*, dan *glutathion peroksidase*. *Superoksida dismutase* (SOD) bekerja dengan cara mengkonversi anion atau ion negatif

superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen ( $\text{O}_2$ ). SOD merupakan inisiator kuat teaksi berantai. *Katalase* (CAT) merupakan salah satu enzim yang mampu mengurangi pembentukan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Hidrogen peroksida harus direduksi menjadi air guna mencegah terbentuknya radikal hidroksil. *Glutation peroksidase* (GPx) merupakan salahsatu zat yang berperan penting dalam perlindungan terhadap kerusakan oksidatif (Salmiyah and Bahruddin, 2018).

b. Antioksidan pemutus rantai

Antioksidan pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas sehingga membentuk senyawa baru yang stabil. Contohnya adalah vitamin E (tokoferol) dan vitamin C (asam askorbat) (Puspitasari *et al.*, 2015).

c. Antioksidan logam transisi terikat protein

Kelompok antioksidan jenis ini bekerja dengan mengikat ion logam seperti  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$ . Contoh dari antioksidan logam transisi terikat protein adalah flavonoid. Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang rusak akibat radikal bebas (Puspitasari *et al.*, 2015).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari oksidasi lemak dapatberupa empat macam mekanisme reaksi yaitu melalui pelepasan hidrogen dari antioksidan ke radikal bebas, pelepasan elektron dari antioksidan ke radikal bebas, adisi

lemak kedalam cincin aromatik pada antioksidan dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Halim, 2022)

Antioksidan memiliki karakteristik utama untuk menangkap radikal bebas. Komponen zat kimia dalam antioksidan yang terdapat pada tanaman seperti asam fenolat, polifenol, dan flavanoid dapat menangkap radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau lipid peroksil, dan juga akan menghambat mekanisme oksidatif yang menimbulkan penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak dan lainnya (Patria dan Soegihardjo, 2013).

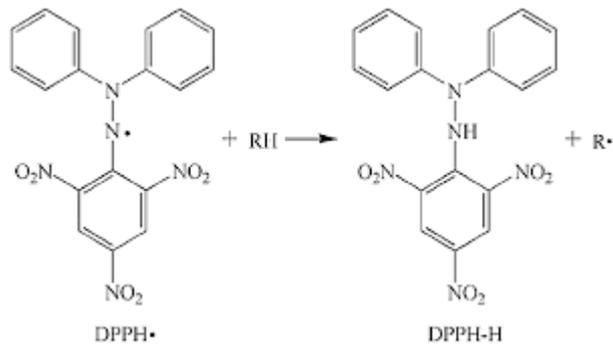
Antioksidan berfungsi untuk memutuskan reaksi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas yang terdapat didalam tubuh, sehingga tidak terjadi kerusakan akibat radikal bebas didalam tubuh. Antioksidan berkerja dalam menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi non radikal (Fathurrachman, 2014).

## **2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)**

Metode pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH karena metode ini merupakan metode dingin sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan zat aktif pada sampel akibat pemanasan. Metode DPPH memiliki kelebihan yaitu cara pengerjaan yang mudah dan alat yang digunakan sederhana (Amin *et al.*, 2015).

Pada pengujian aktivitas antioksidan, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan beraksi dengan senyawa antioksidan dari tumbuhan atau

sampel yang diuji. Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat digambarkan sebagai berikut:



**Gambar 2. 2 Mekanisme Peredaman radikan DPPH oleh Antioksidan**

(Fathurrachman, 2014)

Dimana *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (bersifat radikal bebas) bereaksi dengan antioksidan yang menyumbangkan satu elektronnya sehingga membentuk senyawa *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (non radikal) yang lebih stabil.

Pengujian dengan menggunakan metode DPPH harus melakukan beberapa tahapan seperti pembuatan larutan. Pembuatan larutan DPPH yang dilarutkan dengan etanol pa. Pengujian menggunakan metode DPPH ditandai adanya perubahan warna dari ungu ke kuning dengan pengamatan yang dilakukan di spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang yang digunakan adalah 517 nm (Jami'ah *et al.*, 2018)

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat dari hasil berupa nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*).  $IC_{50}$  adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi menghambat antioksidan di dalam sampel. Semakin kecil sampel yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50 %. Nilai yang diperoleh semakin kecil maka potensi aktivitas antioksidan

pada sampel tinggi. Nilai  $IC_{50} < 50$  ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat aktif, nilai  $IC_{50}$  50 - 100 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan aktif, nilai  $IC_{50}$  101 - 250 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, nilai  $IC_{50}$  250 - 500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan lemah, dan nilai  $IC_{50} > 500$  ppm menunjukkan kekuatan antioksidan tidak aktif (Fathurrachman, 2014).

## **2.7 Spektrofotometer *Ultraviolet dan Visible (UV-Vis)***

Spektrofotometer *UV-Vis* merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan jantung pisang. Spektrofotometer *UV-Vis* mudah digunakan, sederhana, cepat, dan tidak membutuhkan sampel yang banyak (Rustiah dan Umriani, 2018). Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200 - 400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400 - 800 nm. Spektrofotometer *UV-Vis* biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrofotometer *UV-Vis* menggunakan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer *UV-Vis* lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. (Karinda *et al.*, 2013).

Menurut Alwi (2017), salah satu kegunaan dari spektrofotometer *UV-VIS* yaitu untuk analisis penetapan kadar atau kandungan bahan aktif. Jika suatu molekul bergerak dari suatu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih rendah maka beberapa energi dilepaskan. Energi ini dapat hilang sebagai radiasi dan dapat dikatakan telah terjadi emisi radiasi. Apabila suatu molekul dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai sehingga energi

molekul ditingkatkan ke level yang lebih tinggi, maka terjadilah penyerapan (absorpsi) energi oleh suatu molekul. Agar terjadi absorpsi, maka perbedaan energi antara dua tingkat energi harus setara dengan energi foton yang diserap.

Spektrofotometer *UV-Vis* dapat menganalisis sampel berupa larutan, gas atau uap. Adapun hal yang perlu diperhatikan ketika menganalisis sampel berupa larutan (Fathurrachman, 2014) :

- a. Pelarut berwarna dan tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi.
- b. Tidak terjadi interaksi dengan senyawa yang diuji.
- c. Kemurniannya harus tinggi
- d. Sampel harus larut sempurna

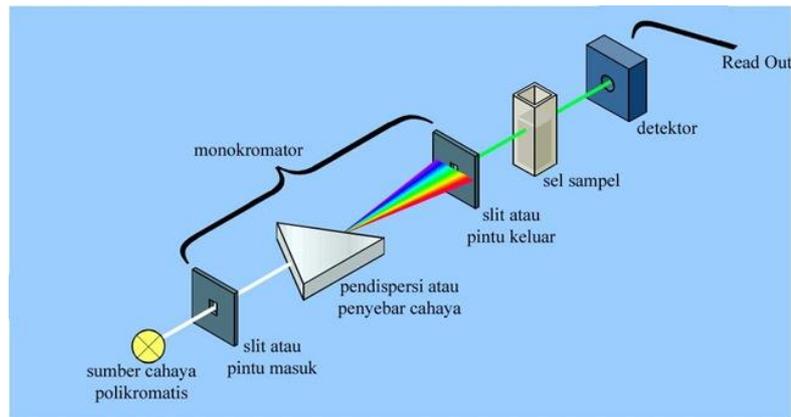
Spektrofotometer *UV-Vis* terdapat dua tipe instrumen, yaitu *single-beam* dan *double-beam* (Suhartati, 2017) :

- a. *Single-beam* digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar *ultraviolet* dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm.
- b. *Double-beam* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel. *Double-*

*beam instrument* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm.

### 2.7.1 Komponen Spektrofotometer *UV-Vis*

Spektrofotometer *UV-Vis* memiliki bagian seperti gambar berikut :



**Gambar 2.3 Skema Spektroskopi UV-Vis**

(Wijaya, 2015)

Cahaya yang berasal dari lampu deuterium di teruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu, oleh karena itu terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi). Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor, kemudian detektor akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Wijaya, 2015).

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi:

a. Sumber Radiasi atau Cahaya

Sumber cahaya dipergunakan untuk pengukuran absorpsi. Sumber cahaya ini harus memancarkan sinar dengan kekuatan yang cukup untuk penentuan dan pengukuran, harus memancarkan cahaya berkesinambungan yang berarti harus mengandung semua panjang gelombang dari daerah yang dipakai. Kekuatan sinar radiasi harus konstan selama waktu yang diperlukan. Sumber Cahaya Tampak yang paling umum dipakai adalah lampu Wolfram. Sedangkan sumber radiasi *Ultra violet* biasa dipergunakan lampu Hidrogen atau *Deuterium* yang terdiri dari tabung kaca dengan jendela dari *kwartz* yang mengandung Hidrogen dengan tekanan tinggi. Oleh karena kaca menyerap radiasi *Ultra violet*, maka sistim optik Spektrofotometer *Ultra Violet* dan sel harus dibuat dari bahan kwartz (Julianto, 2020).

Kelebihan lampu wolfram adalah energi radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai panjang gelombang. Untuk memperoleh tegangan yang stabil dapat digunakan transformator. Jika potensial tidak stabil, maka akan mendapatkan energi yang bervariasi. Untuk mengkompensasi hal ini maka dilakukan pengukuran transmittan larutan sampel dan disertai larutan pembanding (Annafsil, 2019).

b. Monokromator

Monokromator digunakan untuk memisahkan radiasi ke dalam panjang gelombang dan dapat memisahkan bagian spektrum yang diinginkan. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating, dan dapat mengubah radiasi polikromatik menjadi monokromatik atau panjang gelombang tunggal (Ananda Putri, 2021).

c. Kuvet atau Sel absorpsi

Kuvet dipakai dari bahan silika untuk tempat sampel. Kualitas data absorbansi sangat tergantung pada cara pemakaian dan pemeliharaan kuvet. Sidik jari, lemak atau pengendapan zat pengotor pada dinding kuvet akan mengurangi transmisi. Kuvet harus bersih sekali sebelum dipakai (Hammado dan Illing, 2015).

Pada pengukuran di daerah tampak kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah ultra-violet harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Kuvet yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan (Hammado dan Illing, 2015).

d. Detektor

Detektor dipergunakan untuk menghasilkan signal elektrik. Signal elektrik sebanding dengan cahaya yang diserap, signal elektrik kemudian dialirkan ke alat pengukur. Peranan detektor

penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Pada spektrofotometer, tabung pengganda elektron yang digunakan prinsip kerjanya telah diuraikan (Putri, 2017).

e. Rekorder

Rekorder dipergunakan untuk mencatat data hasil pengukuran dari detektor, yang dinyatakan dengan angka (Putri, 2017).

### **2.7.2 Penggunaan Spektrofotometri *UV-Vis***

Adapun tahapan-tahapan dari penggunaan spektrofotometri *UV-Vis* sebagai berikut :

a. Pemilihan pelarut

Pelarut yang digunakan tidak mengandung sistem terkonjugasi pada struktur molekulnya, tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan mempunyai kemurnian yang tinggi (Sabrina, 2013).

b. Pemilihan panjang gelombang

Pemilihan panjang gelombang maksimal dengan membuat kurva antara absorbansi dengan panjang gelombang dari larutan baku pada konsentrasi tertentu (Ismail dan Kanitha, 2020).

c. Waktu operasional

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan

antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan (Vifta dan Advistasari, 2018).

d. Pembuatan kurva baku

Langkah awal adalah pembuatan seri larutan baku dengan berbagai macam konsentrasi, kemudian masing-masing absorbansi larutan diukur, lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x) (Pratama *et al.*, 2019).

e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer antara 0,2 - 0,8 atau 15% - 70% jika dibaca sebagai transmittan (Pratama *et al.*, 2019).

### **2.7.3 Kelebihan dan Kekurangan Spektrofotometer UV-Vis**

Pemakaian Spektrofotometer *UV-Vis* dalam analisis kuantitatif mempunyai beberapa kelebihan (Afifah, 2016) :

- a. Dapat dipergunakan untuk banyak zat organik dan anorganik. Adakalanya beberapa zat harus diubah dulu menjadi senyawa berwarna sebelum dianalisa.
- b. Selektif, pada pemilihan kondisi yang tepat dapat dicari panjang gelombang untuk zat yang dicari.
- c. Mempunyai ketelitian yang tinggi, dengan kesalahan relatif sebesar 1% -3%, tetapi kesalahan ini dapat diperkecil lagi.
- d. Dapat dilakukan dengan cepat dan tepat.

Kelemahan Spektrofotometer *UV-Vis* dalam analisis kualitatif adalah kurang teliti. Hal tersebut disebabkan karena rentang absorpsi yang diperoleh melebar, dengan demikian kurang khusus atau terbatas pemakaiannya (Afifah, 2016).

## **2.8 Landasan Teori**

Dalam proses melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, antioksidan memiliki fungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas. Fungsi antioksidan tersebut dapat menghambat terjadinya reaksi berantai. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat melindungi bahan pangan dengan cara memperlambat kerusakan, ketengikan atau perubahan warna, bau dan rasa pada bahan pangan yang disebabkan oleh reaksi oksidasi. Antioksidan juga mampu bertindak sebagai penyumbang radikal hidrogen atau dapat bertindak sebagai akseptor radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron sehingga dapat menunda tahap inisiasi pembentukan radikal bebas (Dungir *et al.*, 2012). Tanaman yang memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid, tannin, dan alkaloid berpotensi memiliki aktivitas antioksidan (Noviardi *et al.*, 2020).

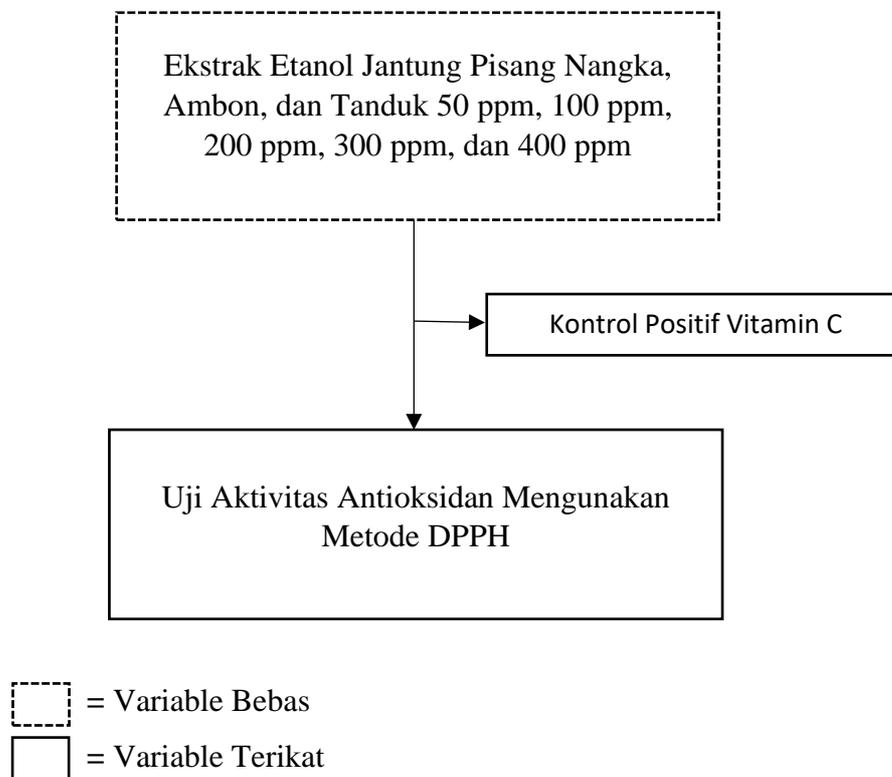
Buah pisang sudah dikenal sebagai buah-buahan yang memiliki antioksidan tinggi (Jami'ah *et al.*, 2018). Selain dari buah pisang, seluruh bagian tanaman buah pisang juga memiliki potensi antioksidan yang tinggi seperti jantung pisang (Noviardi *et al.*, 2020). Jantung pisang memiliki kandungan senyawa fenolik. Senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan dan dapat menghambat radikal bebas dengan mengikat logam penyebab

radikal bebas (Rollando, 2018). Kulit buah pisang nangka memiliki kandungan senyawa flavonoid, tannin, dan terpenoid, dan bonggol buah pisang nangka memiliki kandungan senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan alkaloid yang berarti jantung pisang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan (Rahmi *et al.*, 2022, Hilma *et al.*, 2016). Jantung pisang ambon memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, tannin, dan terpenoid yang berpotensi aktivitas antioksidan (Lestari *et al.*, 2021). Kulit pisang tanduk memiliki senyawa fenolik dan flavonoid, dan daun buah pisang tanduk memiliki kandungan fitokimia yaitu flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, polifenol, vitamin A, B, dan vitamin C maka jantung pisang tanduk memiliki potensi aktivitas antioksidan (Maana *et al.*, 2022, Nugraheni *et al.*, 2018).

Menurut penelitian Ferdinan dan Prasetya (2018), ekstrak etanol jantung pisang kepok memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*) sebesar 13,11 ppm yang berarti memiliki aktivitas antioksidan sangat aktif. Menurut penelitian Rollando, (2018) aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol jantung pisang kepok memiliki nilai  $EC_{50}$  yang kecil yaitu 4,55 mg/mL, semakin kecil nilai  $EC_{50}$  (*Efficiency Concentration*) maka menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Menurut penelitian Lestari *et al.*, (2021) ekstrak etanol jantung pisang ambon memiliki aktivitas antioksidan sebesar  $EC_{50}$  0,0628  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$  (antioksidan tinggi) yang berarti ekstrak etanol jantung pisang ambon mempunyai nilai aktivitas antioksidan dengan metode FRAP adalah setengah dari kapasitas

antioksidan vitamin C. Kandungan senyawa kimia pada jantung pisang nangka, ambon dan tanduk berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Ghozaly dan Utami, 2017). Berdasarkan informasi tersebut dapat mendukung penelitian terkait uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol jantung pisang lainnya yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan.

## 2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2. 4 Kerangka Konsep

## 2.10 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah diperoleh dugaan sementara yaitu :

a.  $H_0$  = Tidak Memiliki Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Jantung Pisang Nangka, Ambon, dan Tanduk

$H_1$  = Memiliki Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Jantung Pisang Nangka, Ambon, dan Tanduk

b.  $H_0$  = Tidak Memiliki Perbedaan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Jantung Pisang Nangka, Ambon, dan Tanduk

$H_1$  = Memiliki Perbedaan yang Signifikan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Jantung Pisang Nangka, Ambon, dan Tanduk