

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% PELEPAH PISANG AMBON (*Musa paradisiaca* Var. *Sapientum*) DARI KABUPATEN SORONG, PAPUA BARAT

Mohamad Usman Nur¹, Ratih Arum Astuti¹, Angga Bayu Budiyanto¹, Irwandi¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong

ABSTRAK

Penelitian terkait pemanfaatan limbah sudah banyak dilakukan, salah satunya pelepah pisang ambon. Ekstrak etanol pelepah pisang ambon terbukti memiliki efek farmakologi salah satunya sebagai penyembuh luka. Untuk mengetahui tingkat keamanan dan efektivitas sediaan ekstrak pelepah pisang ambon, maka perlu dilakukan beberapa uji spesifik dan non spesifik sebagai upaya untuk menjaga kualitas mutu. Penelitian ini bertujuan mengetahui parameter spesifik yaitu penetapan kadar total fenol ekstrak etanol pelepah pisang ambon dari Kabupaten Sorong, Papua Barat. Penelitian ini termasuk jenis penelitian non eksperimental. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Uji parameter spesifik berupa kadar fenolik total dengan analisis kualitatif menggunakan uji tabung dan uji KLT serta analisis kuantitatif menggunakan Spektrofotometer UV-Vis masing-masing dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Hasil penelitian parameter spesifik ekstrak etanol pelepah pisang ambon dari kabupaten Sorong, Papua Barat adalah sebagai berikut: hasil uji tabung dan uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol pelepah pisang ambon mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin ; hasil penetapan kadar berupa kadar fenolik total sebesar $15,42 \pm 0,159$ mg GAE/g ekstrak. Parameter standar umum ekstrak tanaman obat berupa parameter spesifik uji kandungan kimia ekstrak pada penelitian ini secara umum telah memenuhi ketentuan yang ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia.

Kata Kunci :

Fenolik total, ekstrak etanol pelepah pisang ambon (*Musa paradisiaca* Var. *Sapientum*), metode Folin-Ciocalteu, Spektrofotometer UV-Vis

Korespondensi

Nama Penulis Koresponden	Angga Bayu Budiyanto
Email Penulis Koresponden	anggabudiyanto88@gmail.com
Alamat Penulis Koresponden	Jl. Jambu, Malawili, Aimas, Kabupaten Sorong.

PENDAHULUAN

Tanaman pisang merupakan jenis tumbuhan yang mudah ditemukan di setiap provinsi di Indonesia. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Bina Produksi Hortikultura selama periode 2011-2015 produksi buah pisang di Indonesia berfluktuasi, namun pada tahun 2014-2015 produksi tanaman pisang cenderung meningkat. Tanaman pisang selalu melakukan regenerasi sebelum berbuah dan mati yaitu melalui tunas-tunas yang tumbuh pada bonggol pisang, artinya tanaman pisang hanya memiliki satu kali siklus pembuahan (Kaleka, 2013). Pelepeh pisang ambon merupakan limbah yang dibuang oleh konsumen. Sejauh ini pemanfaatan limbah pelepeh pisang ambon hanya sebagai kerajinan pembuatan tas. Pelepeh pisang ambon diketahui terdapat senyawa tanin, fenol, flavonoid yang memiliki aktivitas farmakologis sebagai penyembuh luka (Prasetyo, 2008). Kontrol kualitas merupakan parameter yang digunakan sebagai proses standarisasi suatu simplisia dan ekstrak. Parameter standarisasi simplisia dan ekstrak meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik yang terkait langsung dengan senyawa yang ada di dalam tanaman. Sedangkan parameter non spesifik lebih mengarah pada faktor lingkungan dalam pembuatan simplisia maupun ekstrak. Adanya kontrol kualitas terhadap simplisia dan ekstrak, diharapkan dapat menghasilkan simplisia dan ekstrak yang bermutu artinya memenuhi persyaratan yang berlaku. Untuk mencapai hal ini, perlu dikaji mengenai kejelasan dan kebenaran bahan, yang kemudian didampingi dengan metode pembuatan simplisia maupun ekstrak yang baik dan memenuhi persyaratan yang berlaku. Standardisasi diartikan sebagai nilai atau ukuran yang menyatakan reproduktibilitas mutu sehingga menghasilkan konsistensi efikasi untuk setiap produknya.

METODE PENELITIAN

Bahan:

Pelepeh pisang ambon yang telah mengalami pemanenan buah berasal dari kabupaten Sorong Papua Barat, etanol 70% (Brataco Chemical), etanol p.a (Merck), asam galat p.a (Sigma), Gelatin 1% p.a (Merck), pereaksi Follin Ciocalteu p.a (Merck), FeCl₃ (Merck), NaCl (Merck), Serbuk magnesium (Merck).

Alat:

alat-alat gelas atau kaca, timbangan analitik, Halogen Moisturizer Analyzer (Mettler Toledo), alat maserasi atau mesin pengaduk, vacuum rotary evaporator, waterbath, cawan porselin, aluminium foil, mikropipet 100-1000 µl, mikropipet 10-100 µl, propipet, rak tabung reaksi, toples kaca dan Spektrofotometer UV-Tampak (Pharmaspec UV 1700, SHIMADZU).

Identifikasi Pelepeh Pisang Ambon

Identifikasi pelepeh pisang ambon dilakukan dengan cara yaitu pemeriksaan mikroskopis simplisia menggunakan kloralhidrat.

Susut Pengeringan Simplisia

Serbuk simplisia pelepeh pisang ambon masing-masing diletakkan dilempeng aluminium, kemudian dimasukkan ke dalam alat Halogen Moisturizer Analyzer, sehingga kadar air dari serbuk dapat diketahui. Dikatakan memenuhi syarat apabila kadar air simplisia kurang dari 10% (Anonim, 2000).

Pembuatan Ekstrak

Ditimbang seksama 25,0 gram serbuk pelepeh pisang ambon untuk ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk direndam dalam cairan penyari selama 24 jam, sambil diberi pengadukan selama 3 jam di waktu awal. Dilakukan perlakuan yang sama terhadap pelarut etanol 70%. Filtrat disaring menggunakan alat vakum dan kertas saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Ampas diremaserasi dengan menambahkan pelarut yang sama, sehingga volume total yang diperoleh adalah 250,0 ml. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan rotary evaporator vakum untuk menguapkan pelarutnya sehingga didapat ekstrak pelarut dari pelepeh pisang ambon. Proses dilanjutkan dengan waterbath pada suhu 50° C hingga diperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

A. Fenol

Filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1%. Adanya senyawa kelompok fenol ditandai dengan munculnya warna hijau, merah, ungu atau hitam (Alfian dan Susanti, 2012).

B. Tanin

Filtrat ditambah larutan NaCl 2%. Bila terjadi endapan, saring melalui kertas 30 saring. Filtrat ditambah larutan gelatin 1%, apabila timbul endapan maka menunjukkan adanya tanin atau zat samak (Alfian dan Susanti, 2012).

C. Flavonoid

Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan sedikit serbuk logam Mg serta beberapa tetes asam klorida (HCl)p. Reaksi ditandai dengan terbentuknya warna kuning-oranye menunjukkan positif flavonoid (Pratiwi dkk., 2010).

Analisa Kuantitatif

Penetapan Kadar Fenolik Total Menggunakan Standar Asam Galat

A. Pembuatan Reagen

1. Pembuatan larutan asam galat

Sebanyak 50,0 mg asam galat dilarutkan dalam 0,5 ml etanol p.a, kemudian diencerkan dengan air suling sampai volume 100,0 ml.

2. Pembuatan larutan Na₂CO₃

Sebanyak 7,5 g Na₂CO₃ ditambah 80 ml air suling, kemudian dididihkan sampai serbuk Na₂CO₃ larut sempurna. Setelah itu didiamkan selama 24 jam, disaring dan diencerkan dengan air suling sampai volume 100,0 ml.

3. Pembuatan Larutan Folin Ciocalteu

Larutan Folin Ciocalteu diambil sebanyak 1,0 ml, ditambahkan aquades hingga volume 10,00 ml, kemudian disonifikasi 15 menit untuk menghomogenkan.

4. Penentuan Operating Time

Sebanyak 300 µl larutan asam galat konsentrasi 30 µg/ml ditambah 1500 µl reagen Folin Ciocalteu, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1200 µl larutan Na₂CO₃ 7,5%, digojog homogen, 31 dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 765 nm (Alfian dan Susanti, 2012).

5. Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

Sebanyak 300 µl larutan asam galat konsentrasi 30 µg/ml ditambah 1500 µl reagen Folin Ciocalteu (1:10), kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1200 µl larutan Na₂CO₃ 7,5%, digojog homogen, dan didiamkan pada suhu kamar pada range operating time, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600-850 nm (Alfian dan Susanti, 2012).

6. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Pembuatan Kurva Baku Asam Galat dengan reagen Folin-Ciocalteu Sebanyak 300 µl larutan asam galat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 µg/ml masing-masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambah 1500 µl reagen Folin Ciocalteu (1:10) dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1200 µl larutan Na₂CO₃ 7,5% digojog homogen, dan didiamkan selama operating time pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/ml) dengan absorbansi (Murtijaya dan Lim, 2007 dalam Alfian dan Susanti, 2012).

7. Penetapan Kadar Fenolik Total

Sebanyak 50,0 mg ekstrak pelepah pisang ambon dilarutkan sampai volume 5,0 ml dengan campuran etanol : air suling (1:1). Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet 300 µl dan ditambah 1500 µl reagen Folin Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, ditambah 1200 µl larutan Na₂CO₃ 7,5%. Larutan didiamkan selama operating time pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh. Pengukuran absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Tampak (Murtijaya dan Lim, 2007 dalam Alfian dan Susanti, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Identifikasi Pelepah Pisang Ambon

Identifikasi mikroskopik yang dilakukan diperoleh hasil bahwa pada pelepah pisang ambon terdeteksi terdapat kristal kalsium oksalat, berkas pembuluh, sel stomata dan sel parenkim.

B. Susut Pengeringan Simplisia

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui jumlah air dan senyawa yang ada dalam simplisia setelah mengalami proses pengeringan. dan untuk memenuhi syarat susut pengeringan yaitu kurang dari 10% (Anonim, 2000). Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan kandungan zat aktif, dan dapat memperlama waktu simpan simplisia. Berdasarkan hasil penetapan susut pengeringan, nilai rata-rata susut pengeringan serbuk yaitu 5,78%, dapat dikatakan bahwa simplisia telah memenuhi persyaratan untuk simplisia kering yaitu kurang dari 10% (Anonim, 2000). Hasil dapat dilihat pada [Tabel I](#).

C. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Ambon

Ekstraksi simplisia dilakukan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan diperoleh ekstrak rendemen sebesar 8,197 ± 0,44 %.

D. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak pelepah pisang ambon. Pengujian dilakukan menggunakan uji tabung dengan penambahan beberapa reagen. Hasil menunjukkan bahwa pada pelepah pisang ambon terdapat senyawa tanin, flavonoid, fenol dan saponin. Hasil dapat dilihat pada [Tabel II](#).

Berdasarkan hasil skrining fitokimia uji fenol dapat disimpulkan bahwa terbentuknya kompleks warna biru karena reaksi antara senyawa fenol dan FeCl₃. Gambar reaksi senyawa fenol dengan FeCl₃ dapat dilihat pada [Gambar VV](#).

Hasil skrining fitokimia uji senyawa tanin yaitu terbentuknya endapan setelah ekstrak ditambahkan dengan gelatin, hal ini dapat terjadi dikarenakan sifat khas tanin yaitu dapat mengendapkan protein. Reaksi terjadinya endapan dapat dilihat pada [Gambar 3](#).

Hasil skrining fitokimia uji senyawa flavonoid yaitu terbentuknya warna kuning, hal ini terjadi karena terjadinya reaksi kompleks antara gugus hidroksi pada senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat. Reaksi terjadinya endapan dapat dilihat pada [Gambar 4](#).

E. Hasil Pengujian Fenolik Total Menggunakan Standar Asam Galat

Uji kadar total fenol dari ekstrak pelepah pisang ambon dilakukan secara spektrofotometrik menggunakan pereaksi larutan folin-Ciocalteu dengan standar asam galat. Prinsip pereaksi ini adalah oksidasi gugus fenolik hidroksi. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi suatu kompleks molibdenum tungsten (Mo-W) berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat diukur serapannya dengan alat spektrofotometri sinar tampak. Reaksi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat hanya dapat terjadi dalam suasana basa yang didapatkan dari suatu senyawa alkali. Pertama dilakukan terlebih dahulu operating time yaitu rentang waktu yang digunakan untuk mengetahui waktu pengukuran absorbansi yang stabil. Kemudian dilakukan scanning dari panjang gelombang 400-800 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimal standar asam galat yaitu 743,60 nm, sedangkan pada ekstrak etanol pelepah pisang ambon memiliki panjang gelombang maksimal yang tidak berbeda jauh yaitu 740,60 nm. Hal ini menunjukkan bahwa panjang gelombang ekstrak pelepah pisang ambon sudah

mendekati panjang gelombang maksimal larutan standar asam galat. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada larutan standar asam galat yang akan digunakan sebagai pembanding. Berdasarkan tabel diatas dibuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan absorbansi, maka diperoleh persamaan regresi linier kurva baku $y = 0,0089x - 0,0809$ dengan nilai r hitung sebesar 0,9995. Nilai r hitung yang mendekati 1 menandakan bahwa persamaan garis yang diperoleh menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan asam galat dengan absorbansi (Ganjar dan Rohman, 2007). Grafik persamaan regresi liniernya dapat dilihat pada **Gambar 5**.

Penetapan kadar total fenol dilakukan menggunakan alat spektrofotometri sinar tampak dan pereaksi *Folin Ciocalteau*, yang didasarkan pada reaksi kompleks antara senyawa fenolik dengan pereaksi *Folin-Ciocalteau* pada suasana basa dengan larutan Na_2CO_3 7,5% yang kemudian akan menghasilkan warna biru yang dapat dideteksi dengan alat spektrofotometri sinar tampak pada *operating time* dan panjang gelombang maksimal yang telah diperoleh sebelumnya. Kadar fenolik pada ekstrak dihitng sebagai miligram asam galat per gram ekstrak (GAE). Hasil penetapan kadar dari replikasi hasil maserasi dapat dilihat pada **Tabel III**.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar fenolik total ekstrak etanol pelepah pisang ambon memiliki kandungan fenolik dengan kadar fenolik total sebesar 15,42 mg GAE/g ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, 9, 14, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
2. Alfian, R., dan Susanti, H., 2012, Penetapan kadar fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri, hal 74-76, Jurnal Ilmiah Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
3. Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Holtikultura. Produksi Buah Pisang Seluruh Provinsi, 2011-2015. <http://www.pertanian.go.id/ATAP2015-HORTI-pdf/207-Prod-Pisang.pdf>. diakses 24 januari 2015.
4. Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, Kimia Farmasi Analisis, hal 252-256, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
5. Kaleka, Nobertus., 2013, Pisang-Pisang Komersial, hal 12-22, Penerbit Arcita, Surakarta.
6. Pratiwi, P., Suzery, M., Cahyono, B., 2010, Total Fenolat dan Flavonoid dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah Serta Aktivitas Antioksidannya, Artikel Penelitian. 18(4): 140-148, Jurusan Kimia MIPA Universitas Diponegoro.
7. Prasetyo, B.F., 2008, Aktivitas dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Musa musculus albinus*, Tesis, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
8. Sa'adah, L., 2010, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.), SKRIPSI, Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN, Malang.

Lampiran Tabel dan Gambar

Tabel I. Penetapan Susut Pengeringan Simplisia

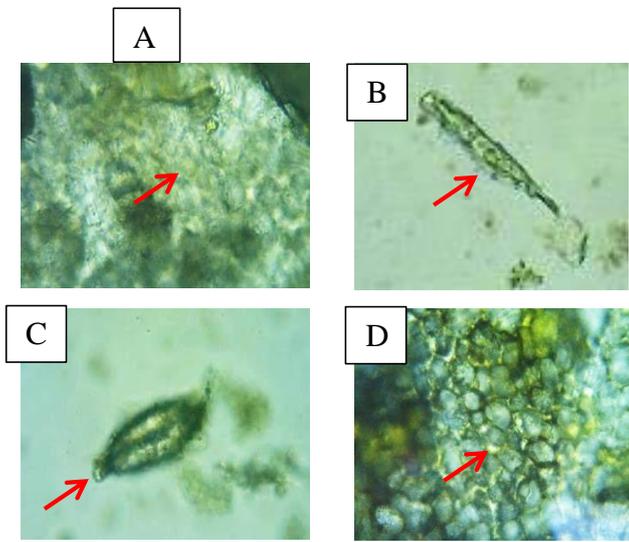
Percobaan	Bobot (g)	Susut Pengeringan (%)	Rerata SD	CV (%)
1	1,002	5,99	5,78 0,2	3,46
2	1,003	5,59		
3	1,002	5,76		

Tabel II. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Pelepah Pisang Ambon

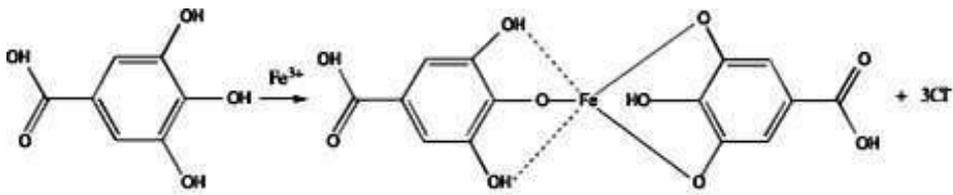
Uji Kualitatif	Sampel	Pereaksi	Sebelum	Sesudah	Kesimpulan
Fenol	Asam Galat	FeCl ₃			+
	Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Ambon				+
Tanin	Asam Tanat	NaCl + Larutan Gelatin 1%			+
	Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Ambon				+
Flavonoid	Kuersetin	Serbuk Mg +HCl pekat			+
	Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Ambon				+

Tabel III. Hasil Penetapan Kadar Total Fenol Pelepah Pisang Ambon

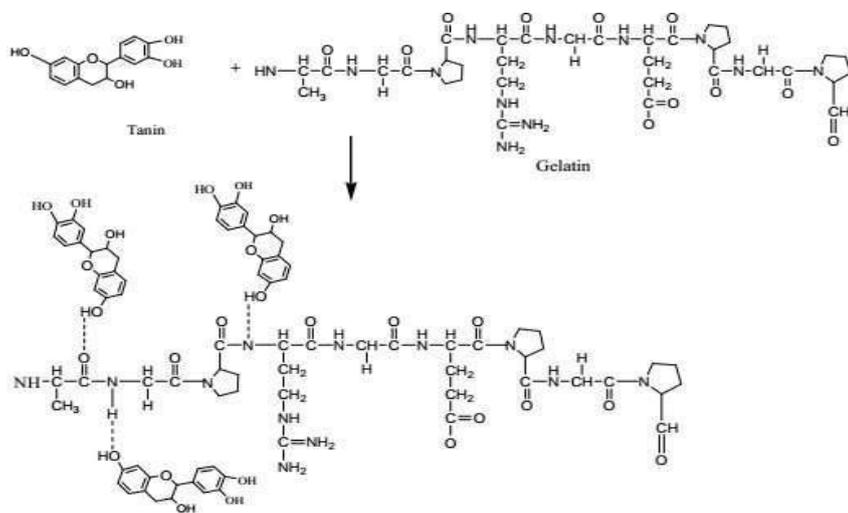
Sampel	Replikasi	Bobot (mg)	Rerata Kadar Total Fenol (mg GAE/100 g ekstrak)	X ± SD	CV (%)
Ekstrak etanol pelepah pisang ambon	1	50,1	15,2481	15,42 mg ± 0,159	1,031
	2	50,2	15,5087		
	3	50,2	15,5983		
	4	50,1	15,3378		



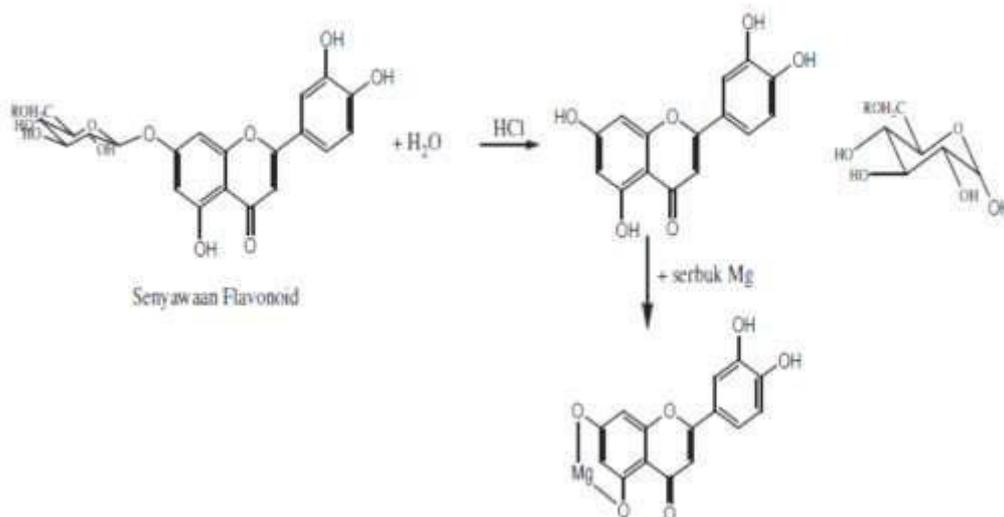
Gambar 1. Hasil identifikasi. (A). Kristal kalsium oksalat bentuk druse; (B) Berkas Pembuluh; (C) Stomata; (D) Parenkim



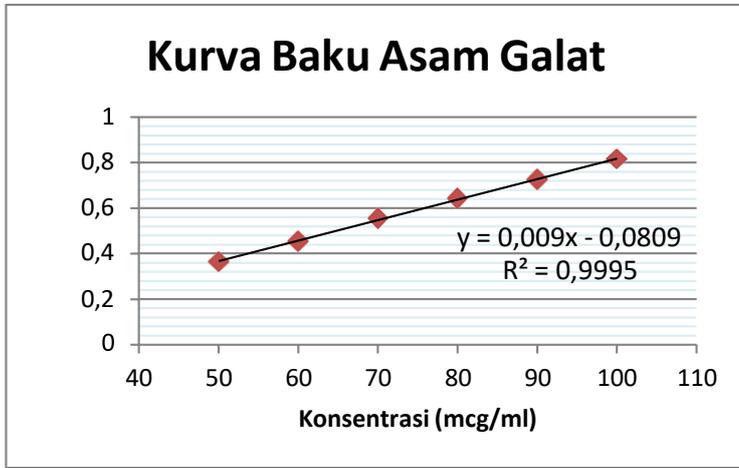
Gambar 2. Reaksi senyawa fenol dengan $FeCl_3$ (Sa'adah, 2010)



Gambar 3. Reaksi antara senyawa tanin dengan gelatin (Sa'adah, 2010)



Gambar 4. Reaksi antara senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Sa'adah, 2010)



Gambar 5. Kurva Standar Baku Asam Galat pada Panjang Gelombang 743,60 nm