

## AKTIVITAS ANTIFOTOOKSIDASI DAN PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN AGEs (*ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS*) EKSTRAK KULIT BUAH PISANG GOROHO (*Musa acuminata*)

Jane Beatrix Rety Kowaas<sup>1</sup>), Edi Suryanto<sup>2</sup>), Defny Silvia Wewengkang<sup>3</sup>)

<sup>1</sup>)Program studi Farmasi FMIPA Unsrat Manado, 95115

<sup>2</sup>)Jurusan Kimia FMIPA Unsrat Manado, 95115

### ABSTRACT

*This study aims to determine the activity of antiphotooxidation and inhibition of the formation of AGEs (Advanced Glycation End Products) of Goroho Banana Fruit Bark Extract (Musa acuminata). The research was started by extracting goroho banana peel using infusion method for 15 minutes with 50% ethanol, 100% ethanol, and distilled water at 90 °C. Then determined the total phenolic content, free radical antidote activity, photooxidation potential against linoleic acid, and determination of inhibition of the formation of AGEs (Advanced Glycation End Products) in vitro. The results showed that 100% ethanol extract had the highest total phenolic content with a value of 114.49 µg / g, followed by distilled water extract with a value of 62.04 µg / g, and 50% ethanol extract with a value of 40.91 µg / g. The 100% ethanol extract also has the highest total content of free radical antidote compared to other extracts. In antiphotooxidation testing of linoleic acid, 100% ethanol extract also showed the greatest activity in counteracting lipid oxidation and has an inhibition of the formation of AGEs (Advanced Glycation End Products) more effectively than other extracts. Based on this study, it can be concluded that 100% ethanol extract can act as antiphotooxidation and inhibitors of AGEs (Advanced Glycation End Products) formation better than other extracts.*

**Keywords:** Antiphotooxidation, AGEs (Advanced Glycation End Products), Fruit Skin Goroho Banana (*Musa acuminata*)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antifotooksidasi dan penghambatan pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End Products*) Ekstrak Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata*). Penelitian dimulai dengan mengekstraksi kulit buah pisang goroho menggunakan cara infusa selama 15 menit dengan pelarut etanol 50%, etanol 100%, dan aquades pada suhu 90°C. Kemudian ditentukan kandungan total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas, potensi fotooksidasi terhadap asam linoleat, dan penentuan penghambatan pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End Products*) secara *in vitro*. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 100% memiliki kandungan total fenolik tertinggi dengan nilai 114,49 µg/g, diikuti ekstrak aquades dengan nilai 62,04 µg/g, dan ekstrak etanol 50% dengan nilai 40,91µg/g. Ekstrak etanol 100% juga memiliki kandungan total aktivitas penangkal radikal bebas yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak lain. Pada pengujian antifotooksidasi terhadap asam linoleat, ekstrak etanol 100% juga menunjukkan aktivitas terbesar dalam menangkal oksidasi lipid dan memiliki penghambatan pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End Products*) lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 100% dapat berperan sebagai antifotooksidasi dan penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End Products*) lebih baik dibandingkan dengan ekstrak lainnya.

**Kata kunci :** Antifotooksidasi, Penghambat AGEs (*Advanced Glycation End Products*), Kulit BuahPisang Goroho (*Musa acuminata*)

## PENDAHULUAN

Tubuh manusia secara terus-menerus mengalami proses oksidasi yang menghasilkan oksigen aktif dan radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung elektron yang tidak berpasangan yang bisa bertindak sebagai asektor elektron dan merupakan derivat dari oksigen yang disebut sebagai spesies oksigen reaktif (SOR). Produksi spesies oksigen reaktif (SOR) yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan kerusakan akan berantai untuk menghasilkan SOR lagi (Halliwell dan Aruoma, 1997).

Spesies oksigen reaktif (SOR) dapat dengan mudah terbentuk di dalam

tubuh dengan adanya bantuan cahaya atau reaksi fotooksidasi. Fotooksidasi merupakan oksidasi yang dipicu oleh cahaya dan melibatkan sensitizer yang mengubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet yang lebih reaktif. Efek dari reaksi fotooksidasi dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti pigmentasi, katarak, penuaan kulit, dan kanker (Davies *et al.*, 2001). Stres oksidatif dapat menyebabkan pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) yang dapat memicu patogenesis penyakit diabetes, alzheimer, stroke, jantung koroner, osteoporosis, bahkan kanker (Ganeshan *et al.*, 2015).

## BAHAN DAN METODE

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu alat-alat gelas pyrex Iwaki dan Schott Duran (tabung reaksi, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur), rak tabung, mikropipet, mikro buret, aluminium foil, botol vial, vortex, cawan porselin, spatula stainless steel, timbangan analitik, *rotary evaporator*, lampu philips 45 watt, kotak cahaya 70 x 50 x 60 cm, oven Mammert, spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit buah pisang goroho (*Musa*

### Alat dan Bahan

*acuminata*) yang diperoleh dari pasar lokal Bahu, Manado. Bahan kimia yang digunakan yaitu, etanol 50%, etanol 100%, aquades, natrium karbonat 2% , Reagen *Folin-Ciocalteu* 50 % , *1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl* (DPPH), eritrosin, tween 20, asam linoleat, BSA (*Bovine Serum Albumine*), glukosa, natrium azida, larutan penyangga phosphate pH 7, larutan 4-dinitrofenilhidrazin (DNPH), larutan potasium hidroksida (KOH) 1N.

### Cara Kerja

Pisang goroho (*Musa acuminata*) dari pasar Bahu kota Manado diambil kemudian dibawa ke UPT Laboratorium Terpadu Universitas Sam Ratulangi untuk

dipreparasi. Kulit pisang goroho diambil kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor. Selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dikeringkan.

## Ekstraksi

Ditimbang sampel kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) sebanyak 30 g, diekstraksi menggunakan metode infus. Sebanyak 30 g sampel kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) dimasukkan ke dalam gelas piala 500 mL dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 50%, etanol 100%, dan aquades sebanyak 250 mL diinfus selama 15 menit (dihitung setelah mendidih) dengan suhu 90°C. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat serta endapan. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

## Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik dari serbuk biji jagung Manado ditentukan menggunakan metode Jeong et al. (2004). Sebanyak 0,1 mL larutan masing-masing ekstrak 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

## Penentuan Aktivitas Antifotooksidasi terhadap Asam Linoleat

Dibuat stok emulsi dari 1,5 g asam linoleat ditambah 6 mL aquades, distirer selama 5 menit, lalu ditambah 2,5 gr *tween* 20 kemudian distirer kembali selama 10 menit. Diambil 1 g dari stok tersebut, dan ditambah 5 mL aquades distirer selama 2 menit, selanjutnya ditambah 5 mL aquades sebanyak 4 kali penambahan sehingga total stirer 10 menit. Pengaruh masing-masing ekstrak terhadap oksidasi oksigen singlet diuji dalam asam linoleat yang mengandung 5 µg/mL eritrosin dalam

2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada  $\lambda$  750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar asam galat yang dipersiapkan dengan cara yang sama.

## Penentuan Penangkal Radikal Bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH)

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) ekstrak kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) ditentukan dengan metode Burda & Oleszeck (2001). Sebanyak 0,5 mL masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 1,5 mL larutan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

emulsi sebagai sensitiser. Efek fraksi terhadap fotooksidasi asam linoleat menggunakan konsentrasi 500 µg/mL. Sampel dari campuran tersebut diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam botol serum berukuran 10 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Analisis diena terkonjugasi dilakukan selama 5 jam penyinaran. Pengukuran nilai hidroperoksida diena terkonjugasi dimulai dengan memipet sampel emulsi 30 µL. Sampel tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 3 mL methanol absolut. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 234 nm.

### Penentuan Aktivitas Penghambat Pembentukan AGEs (*Advanced*

Diambil sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*), glukosa, natrium azida, dan larutan penyangga phosphate pH 7 untuk dijadikan sebagai kontrol. Sebanyak 1 mL dari setiap ekstrak kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) ditambahkan dengan 1 mL dari masing-masing larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*), glukosa, natrium azida, dan larutan penyangga fosfat pH 7 untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 21 hari.

Sebelum dianalisis, dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak

### *Glycation End-Products*) secara *In Vitro*

0,1 masing-masing sampel dilarutkan ke dalam 10 mL larutan penyangga phosphate pH 7. Lalu, dianalisis menggunakan metode Lappin (1951). Sebanyak 0,25 mL masing-masing sampel ditambahkan 0,25 mL larutan DNPH (2,4-dinitrophenylhidrazine) dan 1 tetes HCl pekat. Campuran dipanaskan selama 30 menit pada suhu 50°C dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan KOH 1 N, digojok sampai homogen dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*). Kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) dipotong kecil-kecil untuk memperkecil ukuran sampel. Semakin kecil ukuran sampel, semakin besar luas permukaan sehingga bisa mempengaruhi interaksi sampel dengan pelarut maka proses ekstraksi berlangsung optimal dan menghasilkan ekstrak yang maksimal. Penelitian ini menggunakan proses ekstraksi infus. Sampel 30 g dari kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) ini menggunakan pelarut yang menghasilkan rendemen (%) ekstrak aquades sebanyak 3,616%, etanol 50%

2,777% , dan etanol 100% 1,273%. Infus merupakan metode ekstraksi dengan bantuan panas. Metode ini dilakukan dengan waktu yang singkat yaitu hanya 15 menit, namun dari segi suhu metode ini menggunakan penambahan panas dengan suhu 90°C yang dapat membantu mempercepat terjadinya proses ekstraksi. Penggunaan waktu yang singkat bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan terhadap senyawa pada sampel akibat pemanasan yang terlalu lama.. Metode ini juga digunakan sebagai salah satu sarana dalam pembuatan ekstrak karena alat yang digunakan sangat sederhana dan harganya juga jauh lebih ekonomis.

### Kandungan Total Fenolik Ekstrak Pelarut

Penentuan kandungan total fenolik masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Ekuivalen asam galat

merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsilp *et al.*, 2004).

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa kandungan total fenolik tertinggi yaitu hasil ekstrak etanol 100% sebesar 114,49 µg/mL diikuti dengan hasil aquades 62,04 µg/mL, dan hasil ekstrak etanol 50% (40,91%) µg/mL. Hal ini dikarenakan pelarut etanol 100% dapat

melarutkan senyawa fenolik yang lebih banyak sehingga menunjukkan sebagian besar senyawa fenolik yang merupakan senyawa bersifat semipolar. Pelarut etanol 100% sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fenolik ( Rahman *et al.*, 2012).

**Aktivitas Penangkal Radikal Bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) Ekstrak Pelarut**

Pengukuran aktivitas antioksidan kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

sebagai media pengujian aktivitas penangkal radikal bebas. Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan metode yang sederhana, mudah untuk aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, efektif dan praktis (Molyneux, 2003).

Sampel	Total fenolik (µg/mL)
Ekstrak Aquades	62,04±0 <sup>a</sup>
Ekstrak Etanol 50%	40.91±0 <sup>a</sup>
Ekstrak Etanol 100%	114,49±0,07 <sup>b</sup>

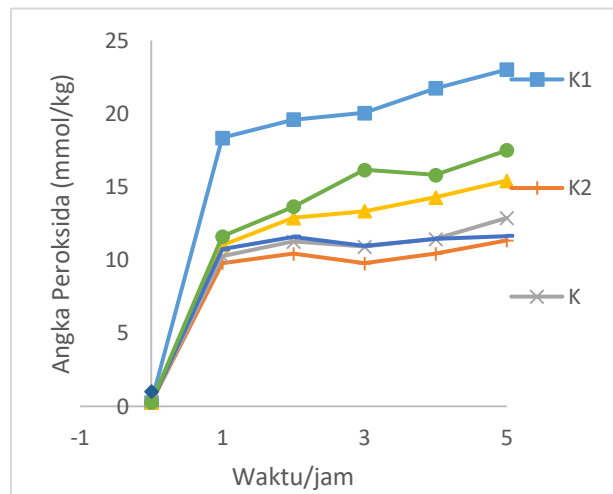
Hasil analisis penangkal radikal bebas terhadap ekstrak etanol 100% menunjukkan bahwa persentase penangkal radikal bebas pada kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi etanol 100% (60,92%) apabila dibandingkan dengan ekstrak aquades (42,82%), dan ekstrak etanol 50% (50,24%). Hal ini membuktikan bahwa

pelarut etanol 100% paling efektif dalam mengikat senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang terdapat pada ekstrak kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) . Hasil ini juga menunjukkan bahwa tingginya aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan kandungan fenolik dari hasil masing-masing ekstrak tersebut.

**Pengujian Antifotooksidasi terhadap Asam Linoleat**

Kandungan diena terkonjugasi dalam emulsi dengan ekstrak kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) dengan

konsentrasi 500 µg/mL pada Gambar 4. Dari gambar 4, dapat diketahui bahwa kandungan diena terkonjugasi terendah ditunjukkan oleh ekstrak etanol 100%.



Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 100% mampu melindungi lipid

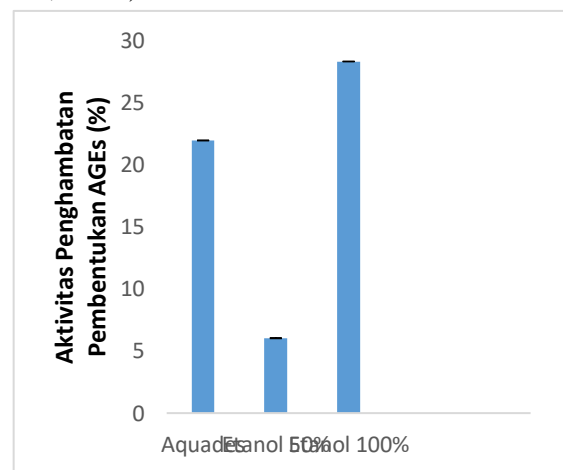
### Aktivitas Penghambat Pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End Products*)

AGEs (*Advanced Glycation End Products*) pertama kali diidentifikasi pada makanan yang dimasak sebagai produk akhir dari reaksi non-enzimatik antara gula dan protein yang disebut reaksi Maillard (Ganeshan *et al.*, 2015). Reaksi Maillard atau yang dikenal juga dengan glikasi yaitu glukosa bereaksi dengan kelompok protein amino (NH<sub>2</sub>) akan membentuk basa Schiff. Reaksi ini terjadi cepat dan reversibel, tergantung pada konsentrasi substrat (Basta *et al.*, 2004).

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pisang goroho mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tannin terkondensasi dan memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Suryanto *et al.*, 2011; Kiay *et al.*, 2011). Hal ini dikarenakan senyawa yang terdapat pada kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) memiliki sistem perlindungan terhadap stres oksidatif. Stres oksidatif dapat membentuk AGEs. Pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*)

yang terdapat pada sistem emulsi. Diikuti dengan ekstrak aquades, dan ekstrak etanol 50%. Hal ini berarti kemampuan ekstrak etanol 100% lebih tinggi dalam melindungi lipid pada sistem emulsi yang induksi dengan cahaya UV-B. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kemampuan hasil ekstrak etanol 100% kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata*) berpotensi sebagai penstabil oksigen singlet yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak yang lain. Rendahnya kandungan diena terkonjugasi dari ekstrak etanol 100% tersebut berbanding lurus dengan kandungan fenolik dari sampel yang dimiliki.

yang meningkat akan memicu beberapa penyakit kronis yaitu diabetes melitus dan disfungsi beberapa organ seperti kulit, otak, jantung, mata, saraf, ginjal (Ford *et al.*, 2004).



Gambar 5 menunjukkan bahwa sampel ekstrak etanol 100% memiliki aktivitas penghambat pembentukan AGEs yang tertinggi. Hal ini dikarenakan adanya aktivitas penangkal radikal bebas (DPPH) atau antioksidan yang tinggi atau sangat kuat. Sehingga dapat menghambat terjadinya oksidasi radikal bebas yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol 100% memiliki kandungan total fenolik, total *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), aktivitas anti fotooksidasi, serta memiliki aktivitas penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) yang lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak aquades dan etanol 50%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Halliwell, B & J.M.C. Gutteridge. 2001. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, London.
- Davies, K.J. dan Goldberg, A.L. 2001. Protein Damaged by Oxygen Radicals Are Rapidly Degraded in Extracts of Red Blood Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 262: 8227–8234.
- Ganeshan, S., A. Balasubramaniam., & V. Perumal. 2015. Phlorotannins From Brown Algae : Inhibition Of Advanced Glycation End Products Formation In High Glucose Induced *Caenorhabditis elegans*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 53 :371-379.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. dan Lee, S.C. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 3389-3393.
- Burda, S., dan W. Oleszek. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 49: 2774-2779.
- Rahman MA, A Arshad, K Marimuthu, R Ara and SMN Amin. 2012. Inter-specific Hybridization and Its Potential for Aquaculture of Pin Fishes. *Asian Journal Of Animal and Veterinary Advances*. 8: 139-153
- Ganeshan, S., A. Balasubramaniam., & V. Perumal. 2015. Phlorotannins From Brown Algae : Inhibition Of Advanced Glycation End Products Formation In High Glucose Induced *Caenorhabditis elegans*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 53 :371-379.
- Suryanto, E., L.I. Momuat., M. Taroreh., F, Wehantouw. 2011. *Potensi Senyawa Polifenol Antioksidan dari Pisang Goroho (Musa sapient sp.)*. *Agritech*. 31: 289-296
- Kiay, N., E. Suryanto & L. Mamahit. 2011. Efek Lama Perendaman Ekstrak Kalamansi (*Citrus Microcarpa*) terhadap Aktivitas Antioksidan Tepung Pisang Goroho (*Musa spp.*). *Chem. Prog.* 4: 27-33.