

**KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH SALAK (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss)
VARIAN GULA PASIR MENGGUNAKAN METODE PENANGKAPAN RADIKAL DPPH**

**ANTIOXIDANT CAPACITY OF GULA PASIR VARIANT OF SALAK (*Salacca zalacca* (Gaertn.)
Voss) FRUIT EXTRACT USING DPPH RADICAL SCAVENGING METHOD**

Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih

Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember
Email: indahyulianingsih.farmasi@unej.ac.id (Indah Yulia Ningsih)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan dari ekstrak air buah salak *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss varian gula pasir melalui aktivitas penangkapan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Harga *Inhibition Concentration* (IC_{50}) dari ekstrak buah salak yang menunjukkan kemampuan suatu bahan dalam menghambat 50% dari total 100% radikal DPPH sebesar $40,89 \pm 6,35 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan kontrol positif kuersetin memiliki harga IC_{50} sebesar $8,79 \pm 0,90 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan harga IC_{50} , dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah salak varian gula pasir menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Skrining fitokimia membuktikan adanya kandungan golongan senyawa polifenol yang diduga bertanggung jawab atas aktivitas antioksidannya yang tinggi. Golongan senyawa ini dapat melindungi dari radikal bebas sebagai penginduksi kerusakan biomolekul.

Kata kunci: *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss, gula pasir, antioksidan, DPPH, polifenol.

ABSTRACT

*The aim of this study was to evaluate antioxidant capacity of gula pasir variant of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) water extract using free radical scavenging activity of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH). The inhibition concentration (IC_{50}) sufficient to elicit 50% of a maximum effect estimated in 100% was $40.89 \pm 6.35 \mu\text{g/mL}$ for the DPPH radical scavenging activity. While the positive control, quercetin, had IC_{50} value of $8.79 \pm 0.90 \mu\text{g/mL}$. Based on the IC_{50} value, we concluded that gula pasir variant of snake fruit extract exhibited a very strong antioxidant activity. The phytochemical screening revealed the presence of polyphenol which could be responsible for the high antioxidant activity. This compound may provide protection against free radicals induced damage to biomolecules.*

Key words: *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss, gula pasir, antioxidant, DPPH, polyphenol.

Pendahuluan

Untuk membentuk energi, maka dalam tubuh terjadi proses oksidasi dimana oksigen direduksi untuk membentuk molekul H₂O. Proses reduksi oksigen dalam rangkaian transpor elektron di mitokondria merupakan salah satu awal kejadian yang berpotensi untuk menghasilkan radikal bebas (Muhilal, 1991).

Radikal bebas merupakan molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital atomnya (Halliwell, 2001). Secara teoritis, radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam mendapatkan pasangan elektronnya. Selain itu, dapat terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Akibat sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel makhluk hidup. Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas, antara lain kerusakan membran sel, protein, DNA, dan lipid.

Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, atherosklerosis, dan proses penuaan dini (Muhilal, 1991).

Salah satu penyakit degeneratif yang paling ditakuti adalah kanker. Biaya pengobatan kanker relatif mahal dan tidak ada jaminan bagi penderita untuk dapat sembuh secara total. Hingga saat ini teknik pengobatan kanker yang dapat dilakukan adalah cara pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Penyakit degeneratif ini disebabkan karena antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas (Soekmanto *et al.*, 2007).

Risiko terjadinya penyakit tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas (Hidayat *et al.*, 2007). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah besar, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen.

Salah satu dari jenis buah tropis yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari jenis buah tropis yang lain adalah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.)

Voss). Aktivitas antioksidannya bahkan lebih tinggi dari manggis, alpukat, jeruk, pepaya, mangga, kiwi, pomelo, lemon, nanas, apel, rambutan, pisang, melon, dan semangka (Aralas *et al.*, 2009). Pada penelitian Gorinstein *et al.* (2009), nilai aktivitas antioksidan salak varietas sumalee sebesar $27,42 \pm 1,5$ μ MTE (dengan metode Cuprac); $20,99 \pm 0,9$ μ MTE (dengan metode ABTS); dan $11,28 \pm 0,5$ μ MTE (dengan metode DPPH).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan antioksidan dari ekstrak air buah salak. Salah satu varian buah salak yang terkenal sebagai produk unggulan adalah varian gula pasir. Buah salak jenis ini banyak diminati karena rasanya yang manis. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Selain itu, dilakukan pula analisis kualitatif terhadap golongan senyawa polifenol yang diduga berkorelasi terhadap aktivitas antioksidan (Heim *et al.*, 2002).

Metode Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan uji pada penelitian ini adalah buah salak varian gula pasir yang dipanen antara bulan April - Juni 2015 di daerah Pronojiwo, Kabupaten Lumajang,

Jawa Timur. Tanaman salak tersebut telah dilakukan determinasi di Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Buah salak yang telah matang dikupas bagian luarnya, termasuk kulit arinya. Biji dipisahkan dari daging buah dan dicuci bersih.

Bahan-bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain akuades, DPPH p.a (Sigma-Aldrich), kuersetin p.a (Sigma-Aldrich), metanol p.a (Merck), FeCl₃ p.a (Merck), dan NaCl (Merck). Peralatan yang digunakan adalah ultrasonikator (Elmasonic S180H), *freeze dryer*, dan spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U 1800).

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan ekstrak

Sebanyak 250,0 g daging buah salak ditambah dengan 250,0 mL akuades dan dihaluskan. Kemudian campuran bahan uji tersebut diekstraksi menggunakan ultrasonikator selama 2 jam dan dipekatkan hingga kering dengan metode *freeze drying*. Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam metanol untuk membuat larutan uji dengan berbagai konsentrasi.

2. Analisis kualitatif golongan senyawa polifenol

Analisis kualitatif senyawa golongan polifenol dalam ekstrak buah salak dilakukan dengan menggunakan metode *tube test*. Sebanyak 0,3 g ekstrak ditambah 10 mL akuades panas, dan diaduk pada suhu kamar. Setelah itu, ditambahkan 3- 4 tetes NaCl 10%, diaduk kembali dan disaring. Filtrat dibagi menjadi dua bagian, masing-masing sebanyak \pm 4 mL sebagai blanko dan larutan uji. Larutan blanko tidak diberi larutan FeCl₃, sedangkan larutan uji diberi beberapa tetes larutan FeCl₃, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa polifenol (Depkes RI, 1995).

3. Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah DPPH dilarutkan dengan metanol hingga diperoleh konsentrasi 40 μ g/mL. Larutan DPPH tersebut dilindungi dari cahaya, diletakkan pada suhu rendah, dan segera digunakan.

4. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH dengan konsentrasi 40 μ g/mL ditentukan absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm hingga 600 nm. Berdasarkan absorbansi tertinggi, maka dapat ditentukan panjang gelombang maksimum dari larutan DPPH tersebut.

5. Penentuan *operating time*

Larutan ekstrak dan larutan kontrol positif kuersetin 30 μ g/mL (4:1) ditambah larutan DPPH, dikocok hingga homogen, dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH setiap 5 menit hingga 60 menit. *Operating time* ditentukan pada saat diperoleh absorbansi yang stabil, yaitu tidak terlihat adanya penurunan absorbansi.

6. Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sesuai metode Molyneux (2004) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 800,0 μ L larutan DPPH 40 μ g/mL ditambah 200 μ L larutan uji ekstrak buah salak dengan berbagai konsentrasi, yaitu 1, 3, 5, 7, dan 9 ppm. Campuran tersebut diinkubasi

selama *operating time* dan diukur absorbansinya pada 514 nm dengan blanko berupa larutan metanol, larutan kontrol berupa campuran larutan DPPH : metanol (4:1) dan pembanding berupa larutan kuersetin dengan kadar 1, 3, 5, 7, dan 9 ppm yang mendapatkan perlakuan yang sama dengan larutan uji.

Dari pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data absorbansi kontrol ($Abs_{kontrol}$) dan absorbansi sampel (Abs_{sampel}) dari ekstrak buah salak. Berdasarkan data tersebut dapat dihitung aktivitas antioksidannya dengan rumus berikut:

$$Inhibisi (\%) = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{sampel}}{Abs_{kontrol}} \times 100\%$$

Setelah itu dilakukan pembuatan kurva linear antara konsentrasi larutan uji dan %inhibisi DPPH, sehingga dapat diperoleh harga *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}), yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat meredam radikal DPPH sebesar 50%.

7. Analisis statistik

Data yang diperoleh dinyatakan dengan rata-rata±standar deviasi dari tiga kali replikasi pengujian. Uji *One*

Way Analysis of Variance (ANOVA satu arah) dengan metode *Post Hoc Least Significance Different* (LSD) ($\alpha=0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan diantara sampel yang diuji.

Hasil dan Pembahasan

1. Bahan uji dan rendemen ekstrak air

Bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah buah salak varian gula pasir. Buah salak varian gula pasir bentuknya mirip dengan salak bali, tetapi ukurannya lebih kecil. Hampir sama dengan salak varian pondoh, sejak muda rasa buahnya sudah manis. Setelah matang, rasanya manis, renyah, dan bertekstur seperti pasir atau disebut pasir. Namun, buah salak varian gula pasir tidak mengeluarkan aroma seperti varian pondoh. Bentuk buahnya agak lonjong, ukurannya sedang, dan sisiknya halus. Bijinya relatif kecil, tidak menempel pada daging buah, sehingga bila digoyang akan mengeluarkan bunyi. Kulit buahnya agak sulit dikupas, dan pada Gambar 1 terlihat bahwa daging buahnya berwarna putih kusam. Dalam satu buah berisi satu biji dengan satu-dua anakan buah.

Ukuran bijinya relatif kecil. Salah satu kelebihan dari buah salak varian ini adalah rasanya yang sangat manis seperti gula pasir, sehingga dinamakan salak varian gula pasir (Redaksi Agromedia Pustaka, 2009).



Gambar 1. Bentuk buah salak varian gula pasir.

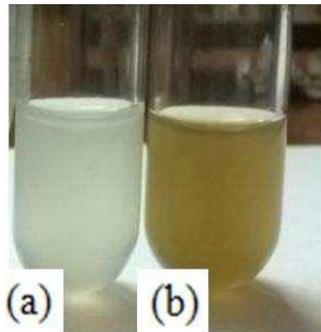
Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ultrasonikasi. Dari 250 g daging buah matang diperoleh ekstrak air yang dipekatkan menggunakan *freeze dryer* hingga kering sebanyak 27,25 g dengan rendemen sebesar 10,9%.

2. Analisis kualitatif golongan senyawa polifenol

Analisis fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman. Salah satu golongan senyawa dalam ekstrak buah salak yang diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah

polifenol. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi golongan senyawa polifenol menggunakan metode *tube test*. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, diketahui bahwa larutan uji mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman bila dibandingkan dengan larutan blanko. Hal ini mengindikasikan bahwa buah salak varian gula pasir mengandung golongan senyawa polifenol. Hasil uji *tube test* tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.

Menurut penelitian Gorinstein *et al.* (2009), buah salak varietas sumalee dalam metanol memiliki kandungan polifenol $8,15 \pm 0,4$ mg GAE; flavonoid $3,33 \pm 0,1$ mg CE; flavonol $0,38 \pm 0,02$ mg CE; tanin $6,48 \pm 0,3$ mg CE; dan asam askorbat $13,98 \pm 0,7$ mg. Ariviani *et al.* (2013) melaporkan kadar fenolik total salak pondoh, nglumut dan bali berturut-turut sebesar $4,60 \pm 1,10$ mg/kg db; $6,09 \pm 0,68$ mg/kg db; dan $6,43 \pm 1,21$ mg/kg db. Sedangkan Leontowicz *et al.* (2006) menyebutkan bahwa kandungan polifenol salak sebesar $14,9 \pm 1,5$ mg GAE/g yang lebih tinggi daripada manggis, yaitu sebesar $9,2 \pm 0,8$ mg GAE/g.



Gambar 2. Hasil analisis kualitatif senyawa polifenol ekstrak buah salak varian: (a) blanko; (b) larutan uji.

3. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum dipilih berdasarkan panjang gelombang yang dapat memberikan absorbansi DPPH maksimal. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan absorbansi larutan kontrol DPPH 40 $\mu\text{g/mL}$ dan larutan uji konsentrasi tertinggi pada panjang gelombang 400-600 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan DPPH 40 $\mu\text{g/mL}$ adalah 514 nm.

4. Penentuan *operating time*

Tahapan ini bertujuan menentukan waktu optimum inkubasi sampel dengan larutan DPPH untuk bereaksi sempurna. Bahan uji ekstrak dengan kontrol positif kuersetin yang direaksikan dengan larutan DPPH dan

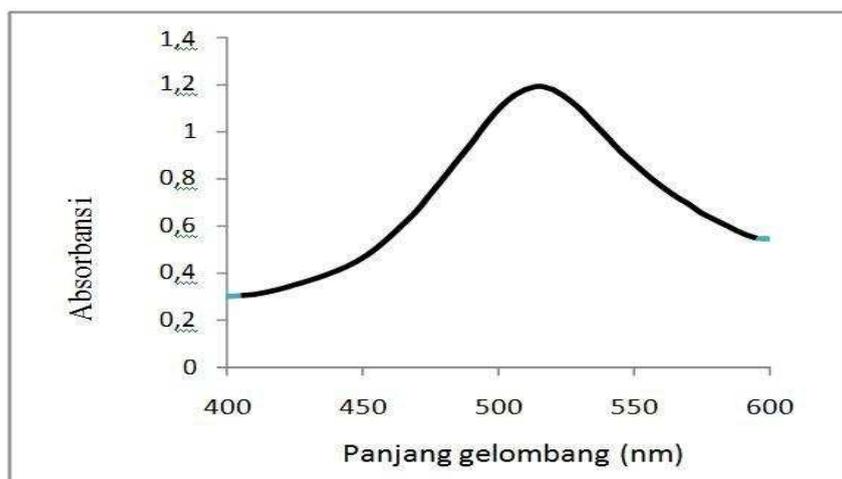
diamati absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm di menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan interval waktu 5 menit. *Operating time* dipilih pada saat penurunan absorbansi yang dihasilkan relatif stabil (Molyneux, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada menit ke-30, absorbansi DPPH relatif konstan, sehingga uji aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan pada menit ke-30 (Tabel 1).

5. Evaluasi aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah salak varian gula pasir dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat, peka, reproduibel, dan hanya memerlukan sedikit sampel (Blois, 1958). Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga menyebabkan DPPH menjadi bentuk tereduksi yang bersifat nonradikal. DPPH dalam bentuk nonradikal akan kehilangan warna ungu. Pudarnya warna ini ditandai pula dengan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan

spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004). Perhitungan persen peredaman (% inhibisi) DPPH dilakukan berdasarkan absorbansi

DPPH pada larutan uji dan absorbansi larutan kontrol, yaitu larutan DPPH tanpa sampel.



Gambar 3. Kurva penentuan panjang gelombang maksimum DPPH.

Tabel 1. Penentuan *operating time* berdasarkan absorbansi DPPH pada larutan kontrol positif kuersetin dan larutan uji

Waktu (menit)	Absorbansi DPPH	
	Kuersetin	Ekstrak Salak
5	0,928	0,954
10	0,924	0,949
15	0,920	0,941
20	0,918	0,936
25	0,908	0,932
30	0,864	0,884
35	0,863	0,881
40	0,860	0,876
45	0,857	0,874
50	0,851	0,867
55	0,847	0,864
60	0,842	0,862

Tabel 2. Persentase inhibisi dari ekstrak buah salak varian gula pasir

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	%inhibisi			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata \pm SD
1	10,55	20,19	17,59	16,11 \pm 4,90
3	10,72	21,04	18,26	16,67 \pm 5,30
5	13,36	24,29	20,52	19,39 \pm 5,50
7	13,53	24,98	21,27	19,93 \pm 5,80
9	19,57	25,14	24,79	23,17 \pm 3,10

Pada Tabel 2 diketahui terjadi peningkatan %inhibisi DPPH seiring dengan kenaikan konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) ekstrak. Berdasarkan persamaan regresi $y = 0,868x + 14,71$ ($R^2 = 0,939$; $R = 0,969$) dapat dihitung harga IC_{50} yang digunakan sebagai parameter untuk menyatakan aktivitas antioksidan ekstrak buah salak, karena IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Menurut Blois (1958), tingkat kekuatan antioksidan adalah sangat kuat bila harga $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$; kuat bila harga $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$; sedang bila harga $IC_{50} 101-150 \mu\text{g/mL}$; dan lemah bila harga $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$. Semakin kecil harga IC_{50} , maka semakin besar daya peredamannya. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh harga IC_{50} ekstrak buah salak varian gula pasir sebesar $40,89 \pm 6,35 \mu\text{g/mL}$ yang termasuk tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat (Tabel

3). Bila dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu kuersetin maka kekuatan antioksidannya lebih rendah. Hal ini ditunjukkan dengan harga IC_{50} kuersetin sebesar $8,79 \pm 0,90 \mu\text{g/mL}$ yang juga termasuk tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat. Tingginya aktivitas tersebut dapat disebabkan oleh kuersetin yang merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak buah salak terdiri dari berbagai macam metabolit sekunder yang saling berinteraksi untuk menimbulkan aktivitas tertentu. Salah satu akibat dari interaksi antar metabolit tersebut adalah peredaman aktivitas tertentu. Untuk menimbulkan kekuatan aktivitas yang sama, maka dimungkinkan untuk dilakukan peningkatan dosis dari ekstrak buah salak varian gula pasir tersebut.

Tabel 3. Harga IC₅₀ hasil pengujian aktivitas antioksidan

Bahan Uji	IC ₅₀ (µg/mL)
Gula pasir	40,89 ± 6,35 ^a
Kuersetin	8,79 ± 0,90 ^b

Data disajikan dalam rata-rata ± SD (n=3). Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antara masing-masing sampel menurut uji *Post hoc* LSD ($P < 0,05$).

Kesimpulan

Ekstrak air dari buah salak varian gula pasir memiliki aktivitas antioksidan dengan tingkatan sangat kuat berdasarkan harga IC₅₀-nya yaitu sebesar 40,89±6,35 µg/mL. Kemampuan ekstrak buah salak varian ini diduga akibat adanya kandungan golongan senyawa polifenol.

Daftar Pustaka

- Aralas, S., Maryati, M., dan Mohd, B.A.F. 2009. Antioxidant properties of selected salak (*Salacca zalacca*) varieties in Sabah, Malaysia. *Nutrition and Food Science Journal*, 39(3):243-250.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199-1200.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia medika Indonesia*. Jilid VI.

Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y.S., Vearasilp, S., Suhaj, M., Hamg, K.S., Heo, B.G., Cho, J.Y., dan Jang, H.G. 2009. The comparative characteristics of snake and kiwi fruits. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 47:1884-1891.
- Halliwell, B. 2015. Free radicals and other reactive species in disease. *eLS*, 1–9.
- Heim, Kelly E., Tagliaferro, Anthony R., dan nBobilya, Dennis J. 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure Activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572–584.
- Hidayat, M.A., Umiyah, dan Ulfa, E.U. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol beberapa varietas buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari daerah Jember. *Berk. Penel. Hayati*, 13(45–50).
- Leontowicz, H., Leontowicz, M., Drzewiecki, J., Haruenkit, Poovarodom, S., Park, Y.S., Jung, S.T., Kang, S.G., Trakhetenberg, S., dan Gorinstein, S. 2006. Bioactive properties of snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) and mangosteen (*Garcinia mangostana*) and their influence on plasma lipid profile and antioxidant activity in rats fed cholesterol. *Journal*

European Food Research and Technology, 233:697-703.

- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal Science Technology*, 26(2):211-219.
- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. *Cermin Dunia Kedokteran*, 73: 9-11.
- Soekmanto, A., Hapsari, Y., dan Simanjuntak, P. 2007. Kandungan antioksidan pada beberapa bagian tanaman mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversitas*, 8(2): 92-95.
- Redaksi Agromedia Pustaka. 2009. *Buku pintar budi daya tanaman buah unggul*. Jakarta: Agromedia Pustaka.