

PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH SALAK MENGGUNAKAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH

Ricka Islamiyati¹, Endra Pujiastuti²
^{1,2} Program Studi Farmasi STIKES Cendekia Utama Kudus
Jl. Lingkar Raya Kudus-Pati Km.5 Jepang Kec.Mejobo, Kab.Kudus
Email: islamiyatirika@gmail.com; endra.pujiastuti@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman salak merupakan salah satu buah khas dari Indonesia yang dapat ditemukan hampir di setiap daerah. Kulit dan daging buah salak secara hasil fitokimia mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, hidrokuinon, steroid dan tanin serta beberapa jenis salak tertentu mengandung senyawa saponin. Senyawa-senyawa tersebut dapat berkhasiat dalam pengobatan, diantaranya sebagai antioksidan, antidiabetes, mencegah sembelit dan sebagainya. Setiap orang memerlukan suatu senyawa yang bersifat antioksidan untuk melindungi sel-sel tubuh dari efek negatif radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital paling luar sehingga sifatnya secara kimiawi sangat reaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi N-Heksan, etil asetat dan air ekstrak etanol kulit buah salak. Hasil dari regresi linier fraksi n-heksan diperoleh IC_{50} 388,82 ppm menunjukkan bahwa fraksi n-heksan kulit buah salak memiliki sifat antioksidan lemah. Hasil dari fraksi etil asetat diperoleh IC_{50} 229,88 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah salak memiliki sifat antioksidan sedang. Hasil dari fraksi air diperoleh IC_{50} 60,19 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi air kulit buah salak memiliki sifat antioksidan kuat. Hasil dari analisis statistika varian satu arah (ANOVA *one-way*) menunjukkan bahwa semua kelompok antioksidan memberikan nilai signifikan $p < 0,05$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara antioksidan fraksi air, etil asetat dan n heksan kulit buah salak.

Kata Kunci: Kulit Buah Salak; DPPH; Antioksidan; Fraksi

ABSTRACT

Zalacca plant is one of the typical fruits from Indonesia which can be found in almost every region. The peel and flesh of zalacca, according to phytochemical results, contain alkaloid, flavonoid, hydroquinone, steroid and tannin compounds, as well as certain types of zalacca containing saponin compounds. These compounds can be efficacious in medicine, including as antioxidants, anti-diabetes, preventing constipation and so on. Everyone needs a compound that is antioxidant to protect body cells from the negative effects of free radicals. A free radical is an atom, a group of atoms that has one or more unpaired electrons in the outermost orbital so that it is chemically very reactive. This study aims to determine antioxidant activity of the N-hexane, ethyl acetate and water fractions of the ethanol extract of the peel of the zalacca. The results of the linear regression of the n-hexane fraction get IC_{50} 388,82 ppm, indicating that the n-hexane fraction of the zalacca peel has weak antioxidant properties. The results of the ethyl acetate fraction get IC_{50} 229,88 ppm which indicated that the ethyl acetate fraction of the zalacca peel had moderate antioxidant properties. The results of the water fraction find IC_{50} 60,19 ppm which indicated that the water fraction of the zalacca peel had strong antioxidant properties. The results of the statistical analysis of one-way variance (one-way ANOVA) showed that all antioxidant

groups gave a significant value of $p < 0,05$. It can be concluded that there is a significant difference between the antioxidant fraction of water, ethyl acetate and n hexane of zalacca peel.

Keywords: *Zalacca peel ; DPPH; Antioxidants; Fraction*

LATAR BELAKANG

Penyakit degeneratif, kanker, dan penuaan dini menjadi masalah baru dalam dunia kesehatan. Salah satu penyebabnya akibat proses peroksidasi lipid sel tubuh akibat senyawa radikal bebas (Falahudin, 2010). Radikal bebas merupakan molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital atomnya. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya yang dapat menimbulkan kerusakan diberbagai bagian sel, protein, DNA, dan lipid (Puryono *et al.*, 2015). Penggunaan antioksidan dapat sebagai alternatif dalam mencegah radikal bebas dalam tubuh.

Salak (*Salacca zalacca*) merupakan tanaman asli Indonesia yang termasuk dalam famili *Arecaceae*, serumpun dengan kelapa, kelapa sawit, aren (enau), palem, pakis yang bercabang rendah. Batang berduri pada tanaman ini menyebabkan tumbuhnya tunas baru yang dapat menjadi tunas bunga buah salak dalam jumlah yang banyak (Rahmah, 2016). Buah salak memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, vitamin C, kalsium, fosfor, zat besi, serta antioksidan (Dhyanaputri, Karta, & Krisna 2016). Selain itu kulit buah salak juga berkhasiat sebagai obat. Hasil uji fitokimia menunjukkan kulit buah salak mengandung senyawa flavonoid dan tannin, serta sedikit alkaloid. Kandungan flavonoid yang terkandung dalam kulit buah salak memiliki efek pada penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi sukrosa (Kanon, Fatimawali & Bodhi, 2012).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan masing-masing fraksi N-Heksan, etil asetat dan air ekstrak etanol kulit buah salak. Serta mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi N-Heksan, etil asetat dan air ekstrak etanol kulit buah salak.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2020 di Laboratorium Teknologi Farmasi, Mikrobiologi dan Farmakognosi STIKES Cendekia Utama kudas.

Alat dan Bahan

Alat: Spektrofotometer UV-Visibel, kuvet kuarsa, labu ukur, timbangan analitik, waterbath dan *rotary evaporator*.

Bahan: Kulit buah salak, etanol 96 %, etil asetat, n-heksan, aquadest, etanol p.a, $AlCl_3$, natrium asetat, kuersetin dan DPPH.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Serbuk Simplisia

Kulit buah salak dibersihkan dengan air mengalir kemudian dipotong dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan. Sampel diserbuk dan diayak dengan ayakan mesh no.40.

Pembuatan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Salak

Serbuk kulit buah salak dimaseri dengan etanol 96% selama 2x24 jam sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dan diremaserasi sampai jernih. Maserat yang didapat dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Kulit Buah Salak

Ekstrak kental kulit buah salak dimasukkan dalam corong pisah, ditambahkan aquadest 25 mL dan pelarut n-heksan 25 mL. Dikocok sampai larut dan didiamkan sampai memisah. Fraksi tidak larut n-heksan difraksinasi menggunakan etil asetat 25 mL kemudian dikocok sampai larut, didiamkan dan dipisahkan antara fraksi etil asetat dan fraksi air. Direplikasi sebanyak 3 kali. Hasil fraksi diupkan menggunakan *rotary evaporator*.

Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH

Penentuan λ Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM diambil 2,0 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL ditambah etanol p.a hingga tanda batas diukur pada panjang gelombang 500-600 nm.

Penentuan *Operating Time*

Larutan pembanding kuersetin 50 ppm sebanyak 2 mL ditambah 2 mL larutan DPPH 0,2 mM dan etanol p.a ad 10 mL. Dibaca absorbansinya pada λ maksimum 516 nm.

Larutan Uji Kuersetin

Larutan induk kuersetin 1000 ppm dibuat deret konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 2,0 mL ditambahkan 2,0 mL larutan DPPH 0,2 mM ditambahkan etanol p.a ad 10 mL, kemudian didiamkan selama 30 menit dan diukur serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 516 nm.

Larutan Uji Fraksi

Larutan induk fraksi konsentrasi 1000 ppm dibuat deret konsentrasi 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 2,0 mL ditambahkan 2,0 mL larutan DPPH 0,2 mM ditambahkan etanol p.a ad 10 mL, kemudian didiamkan selama 30 menit dan diukur serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 516 nm.

Analisis Data

Data hasil pengukuran antioksidan dianalisis menggunakan regresi linier dan spss. Nilai $P < 0.05$ menunjukkan hubungan yang signifikan yang akan mengetahui ada tidaknya perbedaan antara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air terhadap aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Antioksidan

Pengujian Antioksidan menggunakan metode DPPH yang dinyatakan dalam IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} ditentukan dari kurva hubungan antara % inhibisi terhadap larutan uji. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan akan semakin baik.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah salak fraksi N-heksan

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	\bar{x} % Inhibisi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
100	0,700	11,61	8,83	$y = 0,14176x - 5,12$ $R = 0,999$	388,82
	0,697	11,99			
150	0,769	2,90	16,53		
	0,659	16,79			
	0,654	17,42			
	0,670	15,40			
200	0,621	21,59	23,18		
	0,619	21,84			
	0,585	26,13			
250	0,584	26,26	30,17		
	0,579	26,89			
	0,496	37,37			
300	0,546	31,06	37,45		
	0,539	31,94			
	0,401	49,36			

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah salak fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	\bar{x} % Inhibisi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
100	0,461	41,79	28,44	$y = 0,16618x + 11,798$ $R = 0,999$	229,88
	0,548	30,80			
150	0,691	12,75	36,82		
	0,430	45,70			
	0,485	38,76			
	0,586	26,01			
200	0,400	49,49	44,77		
	0,415	47,60			
	0,497	37,24			
250	0,364	54,04	53,49		
	0,350	55,80			
	0,391	50,63			
300	0,333	57,95	61,65		
	0,289	63,51			
	0,289	63,51			

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah salak fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	\bar{x} % Inhibisi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
100	0,442	44,19	52,98	y = 0,07442x + 45,52 R = 0,999	60,19
	0,290	63,38			
	0,385	51,38			
150	0,414	47,72	56,68		
	0,270	65,90			
	0,345	56,43			
200	0,392	50,50	60,35		
	0,252	68,18			
	0,298	62,37			
250	0,366	53,78	64,17		
	0,231	70,83			
	0,254	67,92			
300	0,340	57,07	67,84		
	0,210	73,48			
	0,214	72,97			

Tabel 4. Aktivitas antioksidan darikuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	\bar{x} % Inhibisi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
2	0,513	35,22	24,44	y = 10,608x + 3,226 R = 0,999	4,40
	0,643	18,81			
	0,639	19,31			
3	0,436	44,94	35,01		
	0,565	28,66			
	0,543	31,43			
4	0,372	53,03	45,66		
	0,470	40,65			
	0,449	43,30			
5	0,299	62,24	56,39		
	0,385	51,38			
	0,352	55,55			
6	0,233	70,58	66,79		
	0,290	63,38			
	0,266	66,41			

Penentuan nilai IC₅₀ dilakukan dengan memasukkan nilai hasil perhitungan ke dalam persamaan regresi linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis (X) dan nilai % inhibisi sebagai ordinat (Y), nilai IC₅₀ dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50 dengan persamaan Y = bx + a.

Hasil dari ketiga replikasi uji aktivitas antioksidan kulit salak fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan perbandingan (kuersetin) dengan metode DPPH didapatkan IC₅₀ pada tabel 1,2,3 dan 4. Hasil dari regresi linier fraksi n-heksan diperoleh IC₅₀ 388,82 ppm menunjukkan bahwa fraksi n-heksan kulit buah salak memiliki sifat antioksidan lemah. Hasil dari fraksi etil asetat diperoleh IC₅₀ 229,88 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah salak memiliki sifat antioksidan sedang. Hasil dari fraksi air diperoleh IC₅₀ 60,19 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi air kulit buah salak memiliki sifat antioksidan kuat. Sedangkan

aktivitas antioksidan dari pembanding (kuersetin) diperoleh IC_{50} 4,40 ppm yang menunjukkan bahwa kuersetin memiliki sifat antioksidan sangat kuat. Hasil perhitungan IC_{50} ekstrak kulit buah salak dari ketiga fraksi, fraksi air memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi n heksan.

Hasil dari analisis statistika varian satu arah (ANOVA *one-way*) menunjukkan bahwa semua kelompok antioksidan memberikan nilai signifikan $p < 0,05$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara antioksidan fraksi air, etil asetat dan n heksan kulit buah salak.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pengujian aktivitas antioksidan kulit buah salak fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} memiliki perbedaan yang signifikan berdasarkan uji statistika dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air kulit buah salak dengan nilai berturut-turut sebesar 388,82 ppm, 229,88 ppm dan 60,19 ppm. Intensitas aktivitas antioksidan berturut-turut dari yang tertinggi adalah fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan.

Saran

Peneliti selanjutnya perlu melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dari kulit buah salak menggunakan metode lain seperti metode ABTS, FRAP dan TRAP. Melakukan isolasi lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dhyanaputri, I Gusti Ayu Sri, I Wayan Karta, & Luh Ade Wilan Krisna. (2016). Analisis Kandungan Gizi Ekstrak Kulit Salak Produksi Kelompok Tani Abian Salak Desa Sibetan Sebagai Upaya Pengembangan Potensi Produk Pangan Lokal. *Meditory*, vol.4.
- Falahudin, Dede. (2010). Bioassay antioksidasi ekstrak daging buah salak bongkok (*salaccaedulis reinw.*) dengan khamir *Candida* sp. Y390. *Puslit Oseanografi-LIPI*.
- Kanon, Muharli Qadri, Fatimawali, & Widdhi Bodhi. (2012). Uji efektivitas ekstrak kulit buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*L.) yang diinduksi sukrosa. *Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado*.
- Puryono, Rahayenda Ivory, Endah Puspitasari, & Indah Yulia Ningsih. (2015). Uji aktivitas antioksidan dari berbagai varietas ekstrak buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (antioxidant assay of some *salacca zalacca* (Gaertn.) Voss varieties using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Rahmah, Umi. (2016). Pengaruh ekstrak kulit buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jambi*.