

Jenis Naskah (Research Paper)

**IDENTIFICATION OF PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SALAK PONDOH
(SALACCA ZALACCA (GAERTN.) VOSS) SKIN EXTRACT IN VARIOUS SOLVENTS**

**(IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT SALAK
PONDOH (SALACCA ZALACCA (GAERTN.) VOSS) PADA BERBAGAI JENIS PELARUT)**

Boy Chandra ¹, Restu Anastasia ², Zikra Azizah ³, Meilinda Mustika ⁴ Uly Chairunisa

^{1,2,3}Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi STIFARM Padang; Boy_kimia89@yahoo.com, ⁴Fakultas Farmasi,
Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat, Departement Pharmaceutical Technology

Abstract:

Salak pondoh peel is an agricultural by-product that contains secondary metabolites with potential as natural antioxidants. This study aims to identify phytochemical compounds and evaluate the antioxidant activity of salak pondoh peel extracts using 70% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. Extraction was carried out using the Ultrasound Assisted Extraction (UAE) method, and antioxidant activity was tested using the DPPH method. Phytochemical screening results showed that the ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, saponins, and terpenoids; the ethyl acetate extract contained alkaloids and steroids; while the n-hexane extract contained only steroids. The antioxidant activity of each extract was indicated by IC_{50} values: ethanol extract 18.05 $\mu\text{g/mL}$ (very strong), ethyl acetate 108.02 $\mu\text{g/mL}$ (moderate), and n-hexane 200.72 $\mu\text{g/mL}$ (very weak). As a comparison, gallic acid showed an IC_{50} value of 17.48 $\mu\text{g/mL}$. ANOVA statistical analysis revealed a significant difference ($p < 0.05$) among the three extracts.

Keywords: Salacca zalacca, phytochemical screening, antioxidant activity, Ultrasound Assisted Extraction (UAE), DPPH assay

Abstrak:

Kulit salak pondoh merupakan produk samping hasil pertanian yang mengandung senyawa metabolit sekunder dengan potensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dan mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak kulit salak pondoh menggunakan pelarut etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan. Ekstraksi dilakukan dengan metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE), dan pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid; etil asetat mengandung alkaloid dan steroid; sedangkan n-heksan hanya mengandung steroid. Aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak ditunjukkan oleh nilai IC_{50} : etanol 18,05 $\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat), etil asetat 108,02 $\mu\text{g/mL}$ (sedang), dan n-heksan 200,72 $\mu\text{g/mL}$ (sangat lemah). Sebagai pembanding, asam galat memiliki IC_{50} sebesar 17,48 $\mu\text{g/mL}$. Uji statistik ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar ketiga ekstrak.

Kata kunci: Salacca zalacca, skrining fitokimia, aktivitas antioksidan, Ultrasound Assisted Extraction (UAE), uji DPPH

1. Pendahuluan

Penggunaan tanaman obat sebagai bagian dari pengobatan tradisional telah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. Praktik ini diwariskan secara turun-temurun dan berperan penting dalam menjaga kesehatan serta mengobati berbagai penyakit ringan hingga kronis (Kanon et al., 2012). Keanekaragaman hayati Indonesia memungkinkan pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan sebagai bahan alami pengobatan.

Salah satu tantangan dalam menjaga kesehatan adalah keberadaan senyawa oksigen reaktif atau Reactive Oxygen Species (ROS) yang terbentuk dari proses metabolisme normal. ROS, termasuk radikal bebas, dapat merusak lipid, protein, dan DNA sel yang memicu berbagai penyakit degeneratif (Singh et al., 2004). Oleh karena itu, tubuh membutuhkan antioksidan untuk menetralkan efek berbahaya dari radikal bebas.

Antioksidan adalah senyawa yang mampu mencegah atau memperlambat kerusakan sel akibat oksidasi. Peran antioksidan sangat penting dalam mencegah penyakit kronis seperti kanker, diabetes, dan penyakit jantung (Werdhawati, 2014). Sumber antioksidan bisa berasal dari senyawa alami yang terkandung dalam tanaman.

Kulit buah salak (*Salacca zalacca*), yang selama ini dianggap limbah, ternyata memiliki manfaat farmakologis. Sebagian masyarakat mengolahnya menjadi teh herbal untuk membantu menurunkan kadar gula darah, khususnya pada penderita diabetes tipe 2. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kulit dan daging buah salak mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid (Shabir et al., 2018), di mana flavonoid berperan sebagai senyawa aktif utama (Mustapa et al., 2019).

Kulit salak juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, imunomodulator, antidiabetes, dan menurunkan kadar kolesterol (Joshua & Sinuraya, 2018). Namun, efektivitas senyawa aktif tersebut sangat tergantung pada metode ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh kandungan bioaktif dari sampel tanaman.

Metode ekstraksi ultrasonik menjadi pilihan karena mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa aktif melalui gelombang ultrasonik dan pengadukan yang menghasilkan kontak lebih luas antara pelarut dan partikel sampel (Buanasari et al., 2019). Efektivitas antioksidan dari hasil ekstrak biasanya diuji menggunakan metode DPPH dengan parameter IC_{50} sebagai indikator kemampuan penangkapan radikal (Molyneux, 2004).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit salak menggunakan metode maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat lemah ($IC_{50} = 229,27 \mu\text{g/mL}$) (Fitrianingsih et al., 2014). Sementara itu, pada daun dewandaru, perbedaan pelarut ekstraksi menyebabkan variasi signifikan pada aktivitas antioksidannya (Martiani et al., 2017). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan kandungan fitokimia dari ekstrak kulit salak pondoh dengan menggunakan pelarut yang berbeda.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi spektrofotometer UV-Vis (UV-1800, Shimadzu), rotary evaporator (RV 10 Basic, IKA®), sonikator (Branson), timbangan analitik (Precisa dan

Kern), oven (Yenaco), furnace (Carbolite Gero), blender (Philips), serta alat-alat gelas standar laboratorium (Iwaki).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi kulit buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss), etanol 70% (Novalindo), etil asetat (Novalindo), n-heksan (Novalindo), besi(III) klorida (FeCl_3) 1% (Merck), asam klorida (HCl) (Merck), metanol p.a. (Smart-Lab), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$) (Sigma-Aldrich), dan asam galat ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) (Sigma-Aldrich).

2.3 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah kulit buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) sebanyak 15 kg, diperoleh dari petani lokal di Desa Puhun Kabun, Kecamatan Mandiangin, Kota Bukittinggi, Provinsi Sumatera Barat.

2.4 Proses Pembuatan Simplisia

Kulit buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) sebanyak 3 kg disortasi secara basah untuk membuang kotoran dan bagian yang tidak diperlukan, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, sampel dirajang tipis dan dikeringanginkan selama 6 hari. Selanjutnya dilakukan sortasi kering, lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan mesh no. 40 sebelum disimpan dalam wadah tertutup (Departemen Kesehatan RI, 1985; Robbiyan *et al.*, 2021; Luliana *et al.*, 2016).

2.5 Pembuatan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan Kulit Salak Pondoh dengan Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Sebanyak 100 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan 500 mL pelarut (etanol 70%, etil asetat, atau n-heksan) dengan perbandingan 1:5 (b/v). Campuran diekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik frekuensi 50 kHz selama 30 menit. Proses dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dan kecepatan 70 rpm hingga diperoleh ekstrak kental (Januarti *et al.*, 2017).

2.6 Karakterisasi Ekstrak Kulit Salak Pondoh

a) Uji Organoleptik

Ekstrak diamati secara visual untuk menentukan warna, bentuk, bau, dan rasa menggunakan panca indera (Depkes RI, 2000).

b) Penetapan Susut Pengerinan

Sebanyak 2 gram ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C hingga berat konstan, dengan batas susut maksimal 10% (Depkes RI, 2000).

c) Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak ± 2 gram ekstrak dipijarkan dalam krus porselen pada suhu 700–800°C hingga arang habis, lalu ditimbang. Nilai kadar abu total tidak boleh melebihi 25% (Depkes RI, 2000).

d) Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu dari ekstrak direaksikan dengan asam sulfat encer, disaring, dan dipijarkan kembali hingga bobot tetap. Kadar abu tidak larut asam dinyatakan dalam persen dan tidak boleh lebih dari 25% (Depkes RI, 2000).

2.7 Pembuatan Reagen

a) Reagen Dragendorff

Larutan A dibuat dengan melarutkan 4 g $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 mL asam nitrat. Larutan B dibuat dengan melarutkan 13,6 g KI dalam 25 mL air. Campurkan larutan A dan B, diamkan hingga memisah, kemudian ambil lapisan jernih (berwarna oranye) dan encerkan hingga 50 mL (Rivai et al., 2016).

b) Reagen Mayer

Larutkan 1,35 g HgCl_2 dan 50 g KI dalam air hingga volume 1000 mL (Rivai et al., 2016).

c) Reagen Wagner (Bouchardat)

Larutkan 1 g I_2 dan 2 g KI dalam air hingga volume 50 mL (Rivai et al., 2016).

d) Larutan HCl 2N

Pipet 1,6 mL HCl pekat, encerkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga volume 10 mL, lalu homogenkan (Depkes RI, 2008).

e) Larutan FeCl_3 1%

Larutkan 1 g FeCl_3 dalam aquadest hingga volume 100 mL dan homogenkan (Depkes RI, 2008).

2.8 Uji Fitokimia

a) Alkaloid

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL HCl 2N, dibagi ke tiga tabung, masing-masing ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner, Dragendorff, dan Mayer. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga-merah kecoklatan, jingga, atau putih-kekuningan (Simaremare, 2014).

b) Flavonoid

Sebanyak 10 mg ekstrak dididihkan, ditambahkan serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, lalu dikocok. Warna merah, kuning, atau jingga menandakan hasil positif (Illing et al., 2017).

c) Saponin

Sebanyak 10 mg ekstrak ditambah 10 mL air panas, didinginkan dan dikocok kuat. Buih stabil ≥ 1 cm selama ≥ 10 menit yang tidak hilang setelah penambahan HCl 2N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1979).

d) Tanin

Sebanyak 10 mg ekstrak ditambah 3–5 tetes larutan gelatin 10%. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tanin (Lumowa & Syahril, 2018).

e) Fenol

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 3 mL etanol, diambil 2 tetes lalu ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol (Harborne, 1987).

f) Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 10 mg ekstrak ditambah 10 tetes asam asetat glasial dan 2 tetes H_2SO_4 pekat. Warna biru/hijau menunjukkan steroid, sedangkan merah/ungu menunjukkan terpenoid (Shabir et al., 2018).

2.9 Pembuatan Larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$

Sebanyak ± 10 mg DPPH (BM 394,33) dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 100 mL dalam labu ukur yang dibungkus aluminium foil untuk memperoleh larutan stok DPPH 100 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya, sebanyak 30 mL larutan stok tersebut diencerkan dengan metanol p.a hingga volume 100 mL untuk mendapatkan larutan DPPH konsentrasi 30 $\mu\text{g/mL}$ (Molyneux, 2004).

2.9.1 Pembuatan Larutan Kontrol dan Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 3,8 mL larutan DPPH (30 $\mu\text{g/mL}$) dicampur dengan 0,2 mL metanol p.a, dihomogenkan dalam vial yang dilapisi aluminium foil, lalu diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Spektrum serapan ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–800 nm (Andayani et al., 2008).

2.9.2 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Galat dan Penetapan IC_{50}

Sebanyak 10 mg asam galat dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 100 mL untuk memperoleh larutan stok 100 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 4, 8, 12, 16, dan 20 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara memipet 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; dan 2 mL larutan stok ke dalam labu ukur 10 mL, lalu dicukupkan dengan metanol p.a.

Sebanyak 0,2 mL dari masing-masing larutan diinkubasi dengan 3,8 mL larutan DPPH (30 $\mu\text{g/mL}$) dalam vial yang dilapisi aluminium foil, kemudian disimpan di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Persentase inhibisi dihitung dan diplot dalam grafik dengan konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu-x dan % inhibisi sebagai sumbu-y, kemudian dianalisis dengan persamaan regresi linear $y=a+bx$. Nilai IC_{50} ditentukan dari titik saat % inhibisi mencapai 50% (Andayani et al., 2008).

2.9.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan Kulit Salak Pondoh

Sebanyak 25 mg masing-masing ekstrak dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 25 mL untuk memperoleh larutan stok 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan ini diencerkan menjadi 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan memipet 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan dengan metanol p.a. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi 4, 8, 12, 16, dan 20 $\mu\text{g/mL}$ dengan memipet 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; dan 2 mL larutan, lalu dicukupkan hingga 10 mL.

Sebanyak 0,2 mL dari masing-masing konsentrasi dicampur dengan 3,8 mL larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ dalam vial yang dibungkus aluminium foil, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Andayani et al., 2008).

2.10 Analisis Data

Rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot sampel kering}} \times 100\%$$

Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan persentase inhibisi radikal bebas DPPH menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} dihitung dari persamaan regresi linear:

$$Y = a + bx$$

dengan y adalah persentase inhibisi dan x adalah konsentrasi. Nilai IC_{50} diperoleh saat $y = 50\%$

3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) yang diperoleh dari petani lokal di Desa Puhun Kabun, Kecamatan Mandiangin, Kota Bukittinggi, Sumatera Barat. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Laboratorium Botani FMIPA Universitas Riau dan dikonfirmasi sebagai anggota famili *Arecaceae*.

Sebanyak 3 kg kulit salak dikumpulkan dan melalui proses sortasi basah, pencucian air mengalir, dan perajangan guna mempermudah pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan metode kering angin selama 5 hari untuk mengurangi kadar air, menghentikan aktivitas enzim, serta mencegah pertumbuhan mikroba (Prasetyo, 2013).

Setelah itu dilakukan sortasi kering, lalu penghalusan menggunakan blender dan pengayakan dengan mesh no.40 untuk memperoleh serbuk berukuran seragam. Dari proses ini dihasilkan serbuk simplisia sebanyak 505 gram dari bahan segar 3 kg.

Rendemen simplisia dihitung untuk mengetahui perbandingan bobot serbuk kering terhadap berat awal bahan segar. Nilai rendemen simplisia kulit salak pondoh yang diperoleh adalah 16,83% (Utami et al., 2017).

Ekstraksi dilakukan dengan metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) menggunakan sonikator pada frekuensi 50 kHz selama 30 menit, diulang sebanyak tiga kali. UAE dipilih karena efisien dalam waktu, suhu rendah, dan mampu meningkatkan hasil ekstraksi (Kristina et al., 2022).

Tiga pelarut dengan kepolaran berbeda digunakan: etanol 70% (polar) untuk melarutkan flavonoid dan alkaloid, n-heksan (non-polar) untuk melarutkan senyawa lemak, minyak, serta steroid/terpenoid, dan etil asetat (semi-polar) untuk menarik senyawa fenol dan alkaloid (Sani et al., 2014; Edison et al., 2020). Hasil ekstrak diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Salak Pondoh Tabel 1 :

Ekstrak	Berat Awal	Berat Akhir	Rendemen
---------	------------	-------------	----------

Ekstrak Etanol	100 gram	8,1857 gram	8,19%
Ekstrak Etil Asetat	100 gram	4,2111 gram	4,21%
Ekstrak N- Heksan	100 gram	4,1594 gram	4,16%

Karakterisasi Fisik Ekstrak

Setiap ekstrak kulit salak pondoh yang dihasilkan dikarakterisasi untuk mengetahui kualitas fisiknya. Hasil **uji organoleptik** menunjukkan bahwa ketiga jenis ekstrak (etanol, etil asetat, dan n-heksan) memiliki bentuk kental dengan bau khas dan rasa pahit. Warna ekstrak etanol dan etil asetat berwarna coklat, sedangkan ekstrak n-heksan berwarna hijau tua. Nilai **susut pengeringan** dari ketiga ekstrak masih berada dalam batas aman sesuai standar farmakope (<10%).

Berikut Tabel Karakterisasi Fisik Ekstrak Kulit Salak Pondoh berdasarkan hasil biologis. Hasil pengujian menunjukkan:

Tabel 2. Karakterisasi Fisik Ekstrak Kulit Salak Pondoh

No	Parameter	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak N-Heksan
1	Warna	Coklat	Coklat	Hijau tua
2	Bau	Khas	Khas	Khas
3	Rasa	Pahit	Pahit	Pahit
4	Bentuk	Kental	Kental	Kental
5	Susut Pengeringan (%)	7,35 ± 0,0057	9,23 ± 0,0057	9,83 ± 0,0057
6	Kadar Abu Total (%)	3,45 ± 0,1721	4,11 ± 0,1343	3,52 ± 0,1338
7	Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	0,65 ± 0,0406	0,51 ± 0,0499	0,38 ± 0,0451

Uji Fitokimia Kualitatif

Pengujian fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Kulit Salak Pondoh terlihat di table 3

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Kulit Salak Pondoh

Senyawa Fitokimia	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak N-Heksan
Alkaloid	+	+	—
Flavonoid	+	—	—
Fenol	+	—	—

Tanin	+	—	—
Saponin	+	—	—
Terpenoid	+	—	—
Steroid	—	+	+

Keterangan:

- (+) = Terdeteksi
- (—) = Tidak terdeteksi

Dominasi senyawa aktif pada ekstrak etanol sejalan dengan kepolaran pelarut tersebut, yang mampu menarik berbagai senyawa baik polar maupun semi-polar. Keberadaan flavonoid dan fenol, khususnya dalam ekstrak etanol, berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan tinggi yang diamati pada pengujian lebih lanjut. Hal ini sejalan dengan literatur yang menyatakan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid

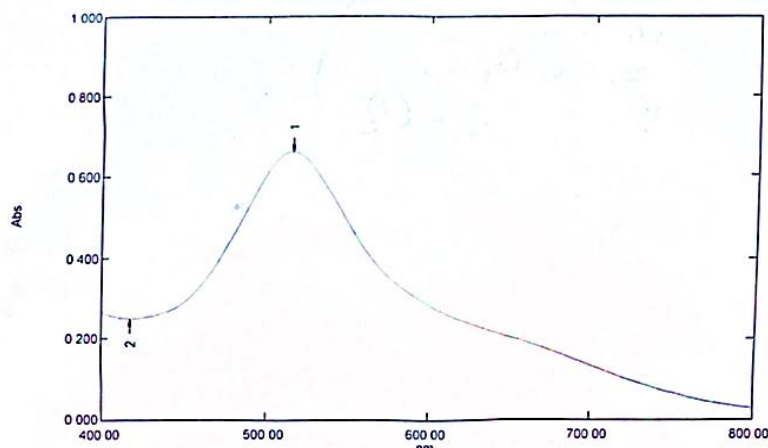
penangkap melalui hidrogen (Blois,

Penentuan

Gelombang

dilakukan aktivitas

terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum larutan DPPH 30 µg/mL. Langkah ini penting karena panjang gelombang maksimum merupakan titik serapan tertinggi dari senyawa DPPH, yang menunjukkan sensitivitas maksimum pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



bertindak sebagai radikal bebas donasi atom dan electron (Blois, 1958).

Panjang

Maksimum DPPH

Sebelum pengukuran antioksidan,

Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum 1,1-

Diphenyl,2- picrylhydrazyl (DPPH) 30 µg/mL

Sebanyak 3,8 mL larutan DPPH 30 µg/mL dicampur dengan 0,2 mL metanol p.a, kemudian dihomogenkan dalam vial yang dilapisi aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang

gelap. Campuran ini kemudian diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, (2004)).

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum (λ maks) dari larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ adalah 516 nm, dengan nilai absorbansi sebesar 0,660. Panjang gelombang ini selanjutnya digunakan untuk semua pengukuran aktivitas antioksidan, baik terhadap ekstrak kulit salak pondoh maupun pembanding asam galat.

Penentuan λ maks ini penting karena DPPH merupakan senyawa yang menyerap cahaya secara intens pada daerah panjang gelombang 515–517 nm. Ketika bereaksi dengan antioksidan, senyawa DPPH akan mengalami reduksi dan warnanya berubah dari ungu gelap menjadi kuning pucat, ditandai dengan penurunan nilai absorbansi. Oleh karena itu, pemilihan panjang gelombang maksimum yang tepat akan meningkatkan akurasi dan sensitivitas analisis daya penangkal radikal bebas (Molyneux., 2004).

Pembuatan Larutan Pembanding Asam Galat dan Penetapan IC_{50}

Sebagai kontrol

positif dalam uji aktivitas antioksidan, digunakan asam galat karena sifatnya yang stabil, murni, dan memiliki potensi antioksidan tinggi (Shahidi & Zhong, 2015). Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang lalu dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 100 mL, untuk menghasilkan larutan stok 100 $\mu\text{g/mL}$.

Dari larutan stok tersebut, dibuat seri konsentrasi 4, 8, 12, 16, dan 20 $\mu\text{g/mL}$ dengan memipet masing-masing 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; dan 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan metanol p.a hingga batas tanda. Masing-masing larutan sebanyak 0,2 mL dicampurkan dengan 3,8 mL larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ dalam vial yang dilapisi aluminium foil, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorban DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ + Larutan Asam Galat

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban		%Inhibisi	IC_{50}
		A1	A2		
1	4	0,660	0,591	10,45	17,4801 $\mu\text{g/mL}$
2	8		0,516	21,81	
3	12		0,439	33,48	
4	16		0,351	46,81	
5	20		0,285	56,81	

Keterangan:

A1 : Serapan larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ pada Panjang gelombang 516 nm

A2 : Serapan larutan DPPH 30 µg/mL + larutan asam galat

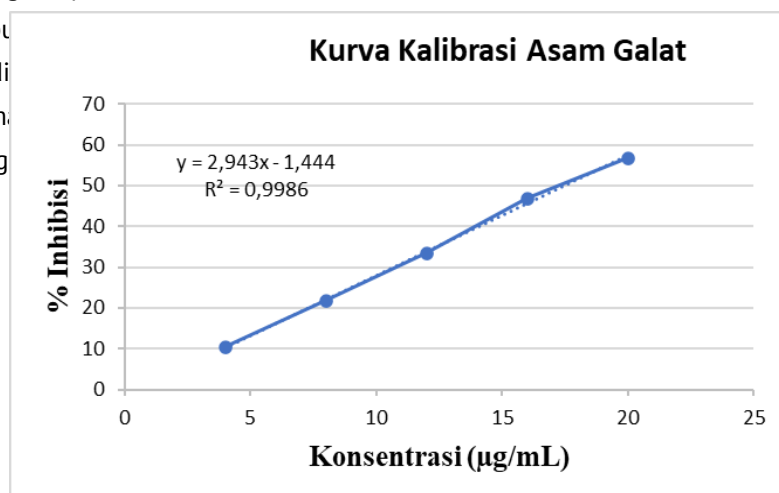
Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi dengan % inhibisi asam galat

Berdasarkan kategori yang telah ditentukan oleh BBRIS (1958), nilai IC_{50} asam galat sebesar 17,48 µg/mL termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ µg/mL). Hal ini menunjukkan bahwa asam galat merupakan senyawa perbandingan yang sangat efektif dalam menangkap radikal bebas, dan dapat dijadikan acuan untuk menilai efektivitas ekstrak kulit salak pondoh.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Ekstrak dari masing-masing pelarut (etanol, 70%, etil asetat, dan n-heksan) terlebih dahulu diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi: 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL. Sebanyak 0,2 mL larutan ekstrak pada masing-masing konsentrasi dicampurkan dengan 3,8 mL larutan DPPH 30 µg/mL dalam vial yang dilapisi aluminium foil.

Campuran ini akan digunakan untuk mencegah degradasi radikal bebas yang terukur pada panjang gelombang maksimum masing-masing pelarut metanol sebagai kontrol.



yang untuk mencegah degradasi radikal bebas yang terukur pada panjang gelombang maksimum masing-masing pelarut metanol sebagai kontrol.

Tabel 5. Nilai rata-rata IC₅₀ sampel

Gambar 3. Kurva Batang Aktivitas Antioksidan Pada Sampel Uji

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak kulit salak pondoh menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 18,05 µg/mL yang termasuk dalam kategori sangat kuat, mendekati nilai IC₅₀ asam galat sebagai pembanding (17,48 µg/mL). Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 108,02 µg/mL, sementara ekstrak n-heksan memiliki aktivitas yang sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 200,72 µg/mL.

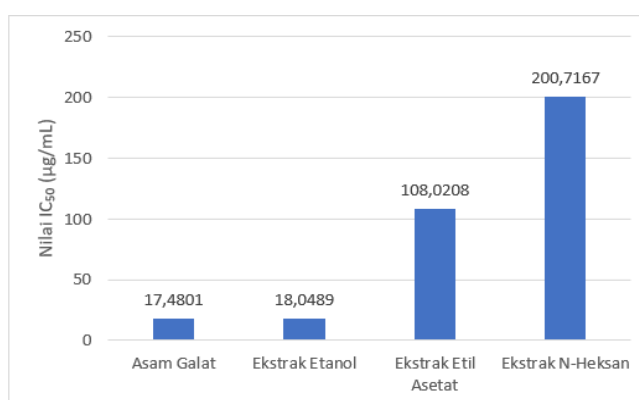
Perbedaan nilai IC₅₀ ini mencerminkan efektivitas masing-masing pelarut dalam mengekstrak senyawa antioksidan dari kulit salak pondoh. Pelarut etanol yang bersifat polar mampu melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid lebih optimal dibandingkan pelarut semi-polar dan non-polar, yang terbukti dari hasil skrining fitokimia sebelumnya. Berdasarkan kategori Blois, ekstrak etanol tergolong sangat kuat, etil asetat sedang, dan n-heksan sangat lemah dalam aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (Blois, 1958).

Hasil analisis yang signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar pelarut yang digunakan.

Kesimpulan

Ekstrak etanol memiliki nilai IC₅₀ yang rendah (18,05 µg/mL) dan dikategorikan sebagai sangat kuat menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dalam ekstrak etanol dibandingkan ketiga ekstrak lainnya.

Saran



terdapat perbedaan yang signifikan antar jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi kulit salak pondoh.

Nilai IC₅₀ yang tinggi (IC₅₀ = 18,05 µg/mL) untuk ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Ekstrak etil asetat dan n-heksan menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah karena nilai IC₅₀ yang lebih tinggi. Perbedaan yang signifikan antar jenis pelarut.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk isolasi senyawa aktif utama dan uji farmakologi lanjutan guna mendukung potensi ekstrak etanol sebagai antioksidan alami.

Daftar Pustaka

1. Andayani, R., Maimunah, & Lisawati, Y. (2008). Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total Dan Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*, 13(1), 31–37..
2. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
3. Buanasari, Febrianto, Y., Cholifah, & Chakim, A. (2019). Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif Dari Bahan Alam. *Jurnal Farmasi Dan Sains Indonesia*, 2(1), 106–111.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). Cara Pembuatan Simplisia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). Farmakope Herbal Indonesia (Edisi I). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
6. Edison., Diharmi, A., Ariani, N.M., & Ilza, M. (2020). Komponen Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar *Sargassum plagyophyllum*. *JPHPI*, 23 (1).
7. Fitrianiingsih, S. P., Lestari, F., & Aminah, S. (2014). Uji Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss) Dengan Metode Peredaman Dpph. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan PKM Sains, Teknologi Dan Kesehatan*, 49–54.
8. Januarti, I. B., Santoso, A., & Razak, A. S. (2017). Flavonoid Extraction of Teak Leaf (*Tectona grandis* L.) with Ultrasonic identiod. *Media Farmasi Indonesia*, 12(2), 1263–1270.
9. Joshua, & Sinuraya, R. K. (2018). Review Jurnal: Keanekaragaman Aktivitas Farmakologi Tanaman Salak (*Salacca zalacca*). *Farmaka*, 16(1), 99–107.
10. Kanon, M., Fatimawali, & Bodhi, W. (2012). Uji Efektifitas Ekstrak Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.) Yang Diinduksi Sukrosa. *Pharmacon*, 1(2), 52–58.
11. Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
12. Martiani, I., Azzahra, I. F., & Perdana, F. (2017). Antioxidant Activities Of N heksan, Ethyl Acetate, And Methanol Extracts Of Dewandaru Leaves (*Eugenia uniflora* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 8(2), 31–39.
13. Mustapa, A., Taupik, M., & Lalapa, A. R. (2019). Analisis Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Dalam Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* V.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 1(1), 21–27.
14. Rivai, H., Meliyana, & Handayani, D. (2016). Karakterisasi Ekstrak Spon Laut *Axinella Carteri* Dendy Secara Fisika, Kimia Dan Fisiokimia. *Jurnal Farmasi Higea*, 2(1), 1–12.

15. Robbiyan, Pandapotan, M. M., & Apriani, R. (2021). Penentuan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Kulit salak (*Salacca zalacca*. Reinw) Berdasarkan Perbedaan Pengeringan Simplisia. *Lantanida Journal*, 9(1), 1–12.
16. Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., & Maligan, J. M. (2014). Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut (*Tetraselmis chuii*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 121–126.
17. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
18. Shabir, E. S., Rahmadani, A., Meylina, L., & Kuncoro, H. (2018). Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca*) dan Pengaruh Ekstrak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan Jamur *Candida albicans*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 2614-4778.
19. Singh, R. P., Sharad, S., & Kapur, S. (2004). Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases : Relevance of Dietary Antioxidants. *Jiacm*, 5(3), 218–225.
20. Utami, P. Y., Umar, H. abdul, Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
21. Werdhawati, A. (2014). Peran Antioksidan Untuk Kesehatan. *Biotek Medisiana Indonesia*, 3(1), 59–68.



© 2021 by the Authors. Licensee Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Muhammadiyah University of Sumatera Barat, Padang, Indonesia. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).