

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, ANALISIS TOTAL FENOL, FLAVONID DAN TANIN DARI EKSTRAK BUAH SALAK

Olvie Syenni Datu<sup>1\*</sup>, Julianri Sari Lebang<sup>2)</sup>, Utami Sasmita Lestari<sup>3)</sup>

Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT, Manado  
Program Studi Kedokteran, FMIPA UNSRAT, Manado  
\*olvie.datu@unsrat.ac.id

### ABSTRACT

*Diabetes mellitus (DM) is a global problem that affects many people and causes high morbidity and mortality rates. The pathogenesis of DM is linked to the influence of free radicals, and various studies have been conducted to overcome this problem by utilizing potential natural materials that are available and have medicinal effects. North Sulawesi has a variety of potential plants and fruits that can be utilized for health, one of which is Snake fruit (*Salacca zalacca*). This study aims to determine antioxidant activity, phenol, flavonoid, and tannin levels in Snake fruit extract. The research method used was maceration using 96% ethanol solvent, then evaporated to obtain a thick extract. The extract was then tested for total phenol, flavonoid and tannin levels using a UV-Vis spectrophotometer. Antioxidant testing was carried out using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method measured using a UV-Vis spectrophotometer, total phenol content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent with gallic acid as a comparison. Flavonoid content was determined with quercetin using AlCl<sub>3</sub> reagent. Tannin content was determined using tannic acid as a comparator. The results showed that the total phenol content of snake fruit extract was  $29.44 \pm 1.02$  mg Gallic Acid Equivalent (GAE)/g extract, while the total flavonoid content was  $8,609 \pm 1.69$  mg Quercetin Equivalent (QE)/g extract, tannin content was  $0.08184 \pm 0.02$  mg tannic acid equivalent (TAE)/g extract. The IC<sub>50</sub> value of snake fruit extract is 22.16 ppm which is included in the strong antioxidant category. Based on these results, Snake fruit has the potential to be developed into pharmaceutical preparations that can be used to prevent or treat degenerative diseases.*

**Keywords:** *Diabetes mellitus, Antioxidant, Flavonoid, Fenol and Tanin*

### ABSTRAK

Diabetes melitus (DM) adalah masalah global yang mempengaruhi banyak orang dan menyebabkan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Patogenesis DM dihubungkan dengan pengaruh radikal bebas, dan berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan alam potensial yang tersedia dan memiliki efek sebagai obat. Sulawesi Utara memiliki beragam potensi tanaman dan buah-buahan yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan, salah satunya adalah buah salak (*Salacca zalacca*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, kadar Fenol, flavonoid, dan tanin dalam ekstrak buah salak. Metode penelitian yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kemudian diuji kadar total Fenol, flavonoid dan tanin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur menggunakan alat uji Spektrofotometer UV-Vis, Kandungan Fenol total ditentukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai pembanding. Kandungan flavonoid ditentukan dengan kuersetin menggunakan pereaksi AlCl<sub>3</sub>. Kandungan tanin ditentukan dengan menggunakan asam tanat sebagai pembanding Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan Fenol total ekstrak buah salak sebesar  $29,44 \pm 1,02$  mg *Gallic Acid Equivalent* (GAE)/g ekstrak, sedangkan kandungan flavonoid total sebesar  $8.609 \pm 1,69$  mg *Quercetin Equivalent* (QE)/g ekstrak kandungan tanin sebesar  $0,08184 \pm 0,02$  mg *tannic acid equivalent* (TAE)/g ekstrak. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak buah salak adalah 22,16 ppm yang masuk dalam kategori antioksidan kuat. Berdasarkan hasil tersebut, buah salak berpotensi untuk dikembangkan menjadi sediaan farmasi yang dapat digunakan untuk mencegah atau mengobati penyakit degeneratif.

**Kata kunci:** Diabetes Melitus, Antioksidan, Flavonoid, Fenol dan Tanin

## Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah global yang telah mempengaruhi sekitar 250 juta orang, dan diperkirakan pada tahun 2025, akan terjadi peningkatan 72% pasien diabetes (Singh, 2020). Diabetes melitus yang tidak ditangani dengan baik akan menimbulkan berbagai komplikasi, seperti gangguan pada jantung, ginjal, nyeri neuropati dan kebutaan. Kondisi inilah yang menyebabkan tingginya angka kematian dan kesakitan akibat DM. Dalam beberapa tahun terakhir, diketahui radikal bebas berperan dalam patogenesis dan komplikasi degeneratif termasuk DM (Anandakirouchenane, 2013).

Radikal bebas diproduksi dalam tubuh sebagai hasil proses metabolisme dan interaksi dengan lingkungan, dan menimbulkan kondisi stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif disebabkan karena ketidakseimbangan antara produksi radikal dan penangkap radikal (antioksidan) (Anandakirouchenane, 2013). Radikal bebas tidak hanya menyebabkan DM namun juga memperburuk kondisi DM rawitasari, 2019).

Terdapat berbagai sumber antioksidan yang dapat di manfaatkan seperti sayuran dan buah-buahan. Buah-buahan merupakan sumber antioksidan terbaik bagi manusia. Penelitian menunjukkan terdapat korelasi positif korelasi antara konsumsi buah-buahan yang kaya antioksidan alami dan penurunan kejadian penyakit tidak menular termasuk gangguan kardiovaskular dan DM (Datu, 2022). *Salacca zalacca* terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan dan dapat memperbaiki profil lipid pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak (Datu, 2021; Datu, 2022).

*Salacca zalacca* merupakan buah yang mudah untuk didapatkan, *Salacca zalacca* adalah genus *Arecaceae*, yang merupakan keluarga palm. Keluarga *Arecaceae* terdiri dari 185 genus dan 2522 spesies. Sulawesi Utara di kenal dengan dua varietas salak yaitu varietas *zalacca* terdapat di Tagulandang Sangihe Talaud dan varietas *amboinensis* di desa Pangu, Minahasa Tenggara.

Ketersediaan buah salak di daerah Sulawesi Utara khususnya Desa Pangu, Kecamatan Ratahan Timur Minahasa Tenggara melimpah, karena memang salak pangu dikenal cepat berbuah, antara 3 – 4 tahun (Manurung, 2013).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu diketahui aktivitas antioksidan, total Fenol, flavonoid dan tanin dari ekstrak buah salak Pangu (*Salacca zalacca* varietas *amboinensis*), yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan

## Metode Penelitian

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan sejak bulan April-September 2023 di laboratorium farmasi lanjut program studi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

### Jenis Penelitian

Jenis dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan pengujian aktivitas antioksidan, total Fenol, flavonoid dan tanin dari ekstrak etanol buah salak

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrometer, alat-alat gelas, timbangan analitik, rotary evaporator, dan mikro pipet tetes.

#### Bahan

Etanol 96%, DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil), ekstrak buah salak, ethanol p.a, methanol p.a, tannic acid, gallic acid, Folin-Ciocalte, quercetin, natrium nitrit, natrium hydroxide, aquadest,

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel buah salak diperoleh dari Desa Pangu, kabupaten Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara. Buah salak yang diambil adalah buah yang telah matang. Buah yang diambil selanjutnya dibersihkan, dikupas dan dipotong-potong kecil dan di timbang sebanyak 3,5 kg dan diblender sampai di capai

konsistensi yang diinginkan.

### Ekstraksi

Buah salak yang sudah halus selanjutnya dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3L selama 3x24 jam dan diremaserasi selama 2x24 jam. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Hasil yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga menghasilkan ekstrak kental.

### Pengujian Antioksidan

#### Pembuatan Larutan Blangko

Larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

#### Pembuatan Larutan induk ekstrak konsentrasi 1000 ppm

Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dengan etanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml, volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas.

#### Pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 2 ml masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0.15 mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

#### Penentuan Persen inhibisi

Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol (DPPH)} - \text{Absorbansi bahan uji}}{\text{Absorbansi Kontrol (DPPH)}} \times 100\%$$

#### Penentuan Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory concentration*)

Konsentrasi sampel dan persen

inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> dari masing-masing sampel dinyatakan sebagai nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC<sub>50</sub>

#### Penentuan kadar Flavonoid

Ditimbang 100 mg ekstrak buah salak dilarutkan dalam 10 mL metanol. Diambil 1 mL l tambahan 3 mL metanol, ditambahkan 0,2 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, tambahkan 0,2 mL kalium asetat, dan dicukupkan dengan aquadestilata sampai 10 mL, simpan 30 menit pada tempat gelap dengan suasana suhu kamar, absorbansinya di ukur pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 431 nm. Larutan sampel dibuat dalam tiga kali replikasi sehingga kadar flavonoid yang diperoleh sebagai ekuivalen kuersetin

#### Penentuan kadar Fenol

Penentuan kadar total Fenol dilakukan dengan cara diambil 100 µL sampel dan ditambahkan 0.5 ml larutan Folin-Ciocalteu. Setelah tercampur dibiarkan selama 2 menit kemudian ditambahkan 2 ml larutan sodium karbonat 7.5% dan aquades sampai volume 10 ml. Larutan di inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 750 nm. Penyerapan larutan standar Fenol menggunakan larutan asam galat yang diukur pada kondisi yang sama untuk membuat kurva kalibrasi. Semua penentuan dilakukan rangkap tiga.

#### Penentuan kadar Tanin

Penentuan kadar tanin dilakukan dengan cara diambil 0,5 gram ekstrak dan dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 ml, selanjutnya Dipipet 1,0 ml sampel dengan seksama, dimasukkan ke dalam wadah berukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilat. Ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin denis, didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 1,0 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh. Diinkubasi selama 15 menit, kemudian

dibaca serapannya pada panjang gelombang 740. Penyerapan larutan standar tanin menggunakan larutan asam tanat diukur pada kondisi yang sama untuk membuat kurva kalibrasi. Semua penentuan dilakukan tiga kali.

**Analisis Data**

Analisis data dilakukan dengan merepresentasikan data hasil penelitian sebagai mean ± standar deviasi (SD) menggunakan perangkat Microsoft Excel yang ditentukan dari hasil pengujian masing-masing sampel sebanyak tiga replikasi.

**Hasil dan Pembahasan**

**Hasil Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, sebanyak 3,5 Kg buah salak yang sudah dibersihkan, selanjutnya di haluskan dengan menggunakan blender dan di maserasi dengan 3L etanol 96%. Setelah dikeringkan menggunakan rotary evaporator menghasilkan rendemen sebanyak 132g atau 26%.

**Hasil Aktivitas Antioksidan**

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH. Pengujian dengan menggunakan DPPH didasarkan pada reduksi senyawa radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi warna kuning karena terjadinya reaksi transfer atom hidrogen oleh senyawa antioksidan sehingga radikal DPPH.

**Penentuan nilai IC<sub>50</sub>**

Penentuan Nilai IC<sub>50</sub> dilakukan dengan membuat kurva hubungan linear antara konsentrasi dan % inhibisi dengan menggunakan rumus persen inhibisi

Tabel 2. **Persen inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>**

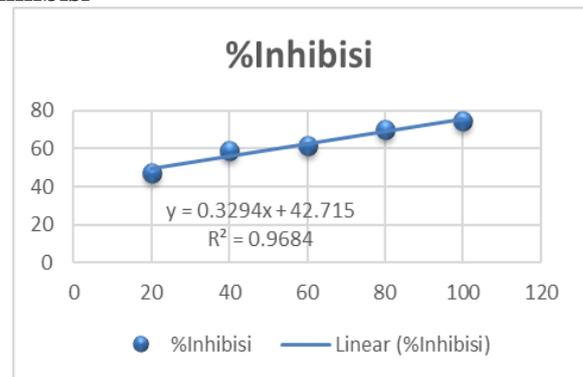
No.	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
1.	20	47.35	
2.	40	58.64	
3.	60	61.74	22.116

4.	80	70.09
5.	100	74.56

Berdasarkan hasil uji antioksidan diperoleh, ekstrak buah salak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Hasil persen inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub> tersaji pada tabel 2.

Nilai IC<sub>50</sub> pada masing– masing konsentrasi ekstrak etanol ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva hubungan konsentrasi sampel terhadap persen inhibisi dengan persamaan Y= ax + b, konsentrasi sampel (ppm) sebagai sumbu (X) dan nilai persentase inhibisi sebagai sumbu (Y). dengan nilai R<sup>2</sup> = 0,9684. Persamaan garis linear dan % inhibisi tersaji dalam gambar 1.

Gambar 1. **Persamaan garis regresi % inhibisi**



**Total Fenol**

Kandungan Fenol total pada ekstrak buah salak diuji menggunakan reagen Folin Ciocalteu kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa Fenol akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu dan membentuk senyawa kompleks berwarna biru dengan intensitas warna sesuai dengan kandungan senyawa Fenol yang ada. Larutan standar yang digunakan adalah asam galat yang merupakan senyawa Fenol turunan asam hidroksibenzoat yang stabil dan sederhana

Kandungan total Fenol pada ekstrak tergantung pada polaritas pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Kelarutan tinggi senyawa Fenol dalam pelarut polar memberikan konsentrasi tinggi pada ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut polar pada saat ekstraksi. Kadar total Fenol pada ekstrak buah salak dihitung dengan

menggunakan persamaan regresi linier. Kandungan total Fenol total dinyatakan dalam ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

Hasil analisis menunjukkan, kandungan Fenol total dalam ekstrak etanol buah salak  $29,44 \pm 1,02$  mg/GAE/g. Hasil uji total Fenol tersaji pada tabel 3

**Tabel 3. Hasil Kadar Total Fenol Ekstrak Buah Salak**

Pengulangan	Kandungan Fenol Total mg/GAE/g Ekstrak
1	28.43
2	30.47
3	29.41
x + SD	$29.44 \pm 1,02$

### Flavonoid

Kadar flavonoid ditentukan dengan menggunakan perbandingan kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai standar karena termasuk dalam kelompok flavonol terbesar yang sering ditemukan pada tumbuhan, dimana jumlahnya antara 60–75%. Selain itu, kuersetin juga memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5, yang dapat bereaksi membentuk kompleks asam dengan  $AlCl_3$  (Wulandari, 2020).

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linear  $y = 0.0048x + 0.0991$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9792. Hasil uji total flavonoid tersaji pada tabel 4. Nilai  $r$  yang mendekati 1 menunjukkan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai serapan dan mengikuti persamaan regresi linear.

Hasil analisis menunjukkan, kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol buah salak adalah  $8,60 \pm 1,69$  mg *Quercetin Equivalent* (QE)/g ekstrak.

**Tabel 4. Hasil Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Salak**

Pengulangan	Kandungan Flavonoid mg/QE/g Ekstrak
1	6,64
2	9,51
3	9,64
x + SD	$8,60 \pm 1,69$

### Total Tanin

Tanin merupakan senyawa poliFenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Penentuan kandungan total tanin dalam ekstrak buah salak menggunakan metode Fenol total dengan menggunakan pereaksi Folin Ciocalteu dan standar asam tanat. Kelebihan metode ini adalah penampakan warna yang lebih baik, sehingga memperkecil kemungkinan perbedaan pada saat pengujian dan juga merupakan metode yang spesifik. Metode Folin tidak membedakan antar jenis komponen Fenol. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil Fenol, maka komponen Fenol yang terdeteksi akan semakin tinggi (Malangi, 2012).

Hasil analisis menunjukkan, kandungan total tanin dalam ekstrak etanol buah salak  $0,08184 \pm 0,02$  mg TAE/g.

**Tabel 4. Hasil Kadar Tanin Ekstrak Buah Salak**

Pengulangan	Kandungan Tanin mg/TAE/g Ekstrak
1	0,06
2	0,09
3	0,08
x + SD	$0,08 \pm 0,02$

Tanin merupakan senyawa antioksidan yang sangat baik pada tumbuhan dan aktivitasnya bergantung pada kuantitasnya. Karena merupakan senyawa poliFenol mempunyai aktivitas menetralkan radikal bebas.

Fenol dan flavonoid merupakan antioksidan kuat. Senyawa flavonoid memiliki ciri khas

dengan adanya satu atau lebih gugus Fenol di dalam strukturnya. Struktur ini memungkinkan asam Fenol dan flavonoid untuk menyumbangkan atom hidrogennya, mengurangi radikal ke bentuk netral. Fenol ataupun flavonoid merupakan metabolit sekunder yang tersebar dalam tumbuhan dimana diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan Fenol maka semakin besar aktivitas antioksidannya

Salak memiliki zat aktif yang berkhasiat sebagai antioksidan baik Fenol, flavonoid dan tanin. Senyawa-senyawa ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi.

### Kesimpulan

Ekstrak etanol buah salak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat berdasarkan nilai  $IC_{50}$  dan kaya akan kandungan Flavonoid, Fenol dan tannin

### Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sam Ratulangi, melalui LPPM yang telah membiayai penelitian ini, melalui Skema Riset Dasar Terapan Unggulan Unsrat tahun 2023.

---

### Daftar Pustaka

Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar Fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1)

Anandakirouchenane, Elumalai., Chandiran, IS., Kanimozhi, Veerasamy., Kadalmani, Balamuthu. 2013. Antioxidant and protective effect of *Curculigo orchoides* on liver, pancreas and kidney tissue in alloxan induced diabetic experimental rats. *Drug Intervention today*.

Barbosa, M. C. S., de Souza Barbosa, C., de Oliveira, J. T., Moreira, N. C. S., de Miranda Martins, N. R., Gomes, G.

Datu, Ovie., Julianri Lebang, Elly Suoth. 2022. Efek Pemberian Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca*) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model Diabetes melitus. *Jurnal MIPA* 12(1).

Datu, Ovie. Julianri Lebang., Erladys Rumondor. 2021. Pengaruh Pemberian Sari Buah Salak (*Salacca zalacca*) terhadap Profil lipid dan Berat Badan Tikus Model Hiperlipidemia dan Obesitas. *Jurnal MIPA* 11 (1).

Manurung, Vina. Djarkasi, T. M. Langi dan L.E. Luluju Prawitasari, Dita Sukmaya. 2019. Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, Vol.1(1), 47-51, Desember 2019.

Singh, H., Singh, R., Kaur, S., Arora, R., Mannan, R., Buttar H.S., Arora, S., Singh, B. 2020. Protective role of *Phyllanthus fraternus* in alloxan-induced diabetes in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*.

Wulandari, L., Bayu Dwi Permana., Nia Kristiningrum. 2020. Determination of Total Flavonoid Content in Medicinal Plant Leaves Powder Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Indones. J. Chem.* 20 (5)