

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Salak

Tanaman salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.) diduga berasal dari Pulau Jawa dan sudah dibudidayakan sejak ratusan tahun silam. Pada masa penjajahan, tanaman ini dibawa ke pulau – pulau lain dan akhirnya tersebar luas sampai ke Filipina, Malaysia, Brunei, dan Thailand (Nazarudin & Kristiawati, 1997 dalam Girsang, 2020). Masyarakat Deli, Sunda, Jawa, Madura, dan Bali menyebutnya salak, masyarakat Minang, Makasar, dan Bugis menamainya sala, sedangkan masyarakat Kalimantan menyebutnya hakam atau tusum. Daerah sebarannya yang luas menyebabkan banyak ragam varietas salak. Keragaman ini semakin meningkat sejalan dengan penggunaan biji sebagai sarana pembiakan. Varietas salak umumnya dikenal berdasarkan daerah tumbuhnya. Salak pondoh dan salak bali merupakan varietas yang memiliki nilai komersial tinggi (Kusumo et al., 1995 dalam Girsang, 2020).

Tanaman salak memerlukan curah hujan rata-rata 200 – 400 mm per bulan. Tanaman ini tidak menyukai penyinaran penuh, intensitas sinar yang dibutuhkan berkisar 50 – 70%, sehingga perlu tumbuhan penaung. Salak tumbuh dengan baik pada tempat beriklim basah dengan pH sekitar 6,5, berupa tanah pasir atau lempung yang kaya bahan organik, dapat menyimpan air dan tidak tergenang, karena sistem perakarannya dangkal. Temperatur optimal 20 – 30°C, apabila kurang dari 20°C perbungaan akan lambat, bila terlalu tinggi akan menyebabkan buah dan biji membusuk (Santoso, 1990 dalam Girsang, 2020). Salak tumbuh baik dari dataran rendah sampai ketinggian sekitar 700 mdpl dan dapat berbuah sepanjang tahun, khususnya pada bulan Oktober dan Januari (Sastroprodjo, 1980 dalam Girsang, 2020).

Di beberapa daerah, tanaman ini berkembang sesuai dengan spesifikasi lokasi, sehingga secara umum komoditas ini dikelompokkan sebagai berikut: salak Jawa (*S. zalacca* (Gaertner) Voss) dengan biji 2 – 3 butir dan daging buah berwarna putih tulang kekuningan, salak Bali (*S. amboinensis* (Becc) Moge) dengan biji 1 – 2 butir dan daging buah berwarna putih tulang kekuningan, dan

salak Padang Sidempuan (*S. sumatrana* (Becc)) yang berdaging agak kemerahan (Nixon, 2009 dalam Girsang, 2020).

Secara umum klasifikasi ilmiah salak adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Ordo : Liliopsida
Famili : Arecaceae
Genus : Salacca
Spesies : Salacca zalacca



Gambar 2.1. Tanaman Salak (Dokumentasi pribadi, 2021)

2.1.1. Buah salak

Salak merupakan komoditas yang kaya dengan kandungan gizi berupa kalori, protein, karbohidrat, mineral, dan vitamin. Komposisi kimia daging buah salak berubah dengan semakin meningkatnya umur buah dan bervariasi menurut varietasnya. Salak mempunyai kandungan kimiawi yang relatif konstan pada umur 5 bulan sesudah bunga mekar. Pada umur tersebut kadar gulanya mencapai nilai tertinggi, sedangkan kadar asamnya dan taninnya terendah. Hal ini yang menyebabkan umur 5 bulan setelah bunga mekar adalah umur panen terbaik untuk konsumsi karena rasanya manis dan rasa asam hampir tidak ada (Putra, 2011 dalam Girsang, 2020).

Penilaian fitokimia dan nutrisi dari dari buah salak menunjukkan adanya berbagai senyawa bioaktif termasuk polifenol, flavonoid, vitamin, dan mineral (Tabel 2.1.). Senyawa fitokimia yang ditemukan dalam buah salak dan dapat

memberikan efek perlindungan terhadap kekurangan gizi manusia dan beberapa penyakit kronis (Tabel 2.1.). Sukrosa telah dilaporkan sebagai gula utama dalam buah salak (Tabel 2.1.). Peningkatan bertahap pada total padatan terlarut (gula, asam 16 osmari, pektin terlarut) dan penurunan bertahap keasaman titratable diamati dengan kemajuan dalam pematangan buah (Supriyadi et al., 2003). Oleh karena itu, kultivar manis dari buah salak mencapai kemanisan maksimum ketika buah mencapai kematangan, yaitu sekitar 5 – 6 bulan setelah penyerbukan. Buah salak juga mengandung senyawa fenolik tingkat tinggi dengan kandungan fenolik total, kandungan antioksidan dan komposisi asam 17 osmari buah salak dilaporkan 2,5 kali lebih tinggi daripada 17 osma dan 2 kali lebih tinggi daripada buah manggis (Mokhtar et al., 2014). Komposisi fitokimia dan fitonutrien dari buah salak berdasarkan Mazumdar et al. (2019) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi Fitokimia dan Fitonutrien Buah Salak (Mazumdar et al., 2019)

Fitonutrien	Tipe	Jumlah
Karbohidrat	Total gula	11.850 – 17.220 mg/100 g buah salak
	Sukrosa	10.000 mg/100 mL sari buah
	Glukosa	2.400 mg/100 mL sari buah
	Fruktosa	2.300 mg/100 mL sari buah
	<i>Dietary fibres</i>	6.330-9.350 mg/100 g buah kering
	Hemiselulosa	1.960-2.200 mg/100 g buah kering
Senyawa Fenolik	Total fenol	217,8 – 324,90 mg GAE (Galic Acid Equivalent)/100 g buah Salak
	Total flavonoid	61,20 CE/100 g buah salak
	Tanin	720 – 990 mg/100 g buah salak
Asam Fenolik	Asam kafeat	4.10 mg/100 g buah salak
	Asam P-kumarat	1.70 mg/100 g buah salak
	Asam Ferulat	1.04 mg/100 g buah salak
Asam Organik	Asam malat	4,270 – 17,926 mg/100 g buah salak
	Asam tartarat	25,3 mg/100 mL sari buh
	Asam susinat	48,3mg/100 mL sari buah
	Asam sitrat	0,845 – 3,284 mg/100 g buah salak

	Asam oksalat	68,9 mg/100 mL sari buah
Vitamin	Vitamin C	0,8-1,28 mg/100 g buah salak
	Na	1,900 mg/100 g buah salak
	K	191,2 mg/100 mg buah salak
	Mg	7,160 mg/100 g buah salak
Mineral	Ca	0,0006 mg/100 g buah salak
	Fe	0,302 mg/100 g buah salak
	Mn	0,250 mg/100 g buah salak
	Zn	0,035 mg/100 g buah salak
	Cu	0,008 mg/100 g buah salak

Aktivitas Farmakologi Daging Buah Salak

a. Antioksidan

Menurut Ariviani dan Parnanto (2013), ekstrak daging buah salak memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Uji yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan uji pemerangkapan radikal bebas *1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP). Berdasarkan uji DPPH dan *2 Azino Acidbis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid* (ABTS) dilakukan analisis lanjutan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah epikatekin, proantosianidin, dan asam klorogenat (Shui, 2005). Buah salak (*S. edulis, Reinw*) dari Bangkok, Thailand diketahui memiliki kapasitas antioksidan pemerangkapan radikal ABTS+ dan total polifenol yang lebih tinggi daripada buah manggis (*Garcinia mangostana*) (Leontowicz et al., 2006) dan buah kiwi (*Actinidia chinensis*) (Gorinstein et al., 2009). Diet buah salak mencegah peningkatan total kolesterol liver, menghambat peningkatan plasma lipid, menghambat penurunan status antioksidan pada tikus yang diberi diet pakan yang mengandung kolesterol (Leontowicz et al., 2006).

b. Penurunan Kolesterol

Penelitian Leontowicz et al. (2006), menunjukkan bahwa ekstrak daging buah salak selain memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, pada penelitian ini

juga salak memiliki aktivitas menurunkan kadar kolesterol dalam uji in vivo. Penemuan ini sejalan dengan penelitian Dhaneswari et al. (2015), yang menunjukkan bahwa buah salak dapat menurunkan kadar kolesterol.

c. Pemutih Kulit

Penelitian Tilaar et al. (2017), menunjukkan bahwa ekstrak daging salak yang dibuat menjadi sediaan krim memiliki aktivitas sebagai pemutih kulit (*skin lightening agent*) dengan menurunkan indeks melanin dalam tubuh.

d. Antihiperurisemia

Pada penelitian Afrianti et al. (2010), menunjukkan bahwa ekstrak daging salak mempunyai aktivitas sebagai antihiperurisemia. Percobaan ini dilakukan pada tikus yang telah diinduksi dengan natrium urat. Dosis ekstrak daging salak yang digunakan pada penelitian kali ini adalah sebesar 100 dan 200 mg/kgbb. Pada penelitian dosis 100 dan 200 mg/kgbb dapat menurunkan asam urat sebesar 7,9 dan 8,3%. Kandungan flavonoid yang terkandung dalam daging salak ini yang dapat mengurangi kadar asam urat pada tikus. Flavonoid bekerja dengan cara menghambat enzim xantinoksidase pada hati tikus (Nagao et al., 1999).

e. Pewangi

Buah salak dapat dimanfaatkan sebagai pewangi. Pada penelitian Wijaya et al. (2005), menunjukkan bahwa masing – masing jenis salak mempunyai bau yang khas yang dapat dijadikan sebagai pewangi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini dengan menggunakan *Gas Chromatography-Olfactometry*. Beberapa contoh senyawa yang terkandung dalam salak yang memberikan wangi adalah metil 2- metilbutanoat, metil 3-metilbutanoat, isoeugenol, dan lain-lain. Penelitian ini sejalan dengan Supriyadi et al. (2003), yang membuktikan bahwa buah salak memiliki senyawa ester yang dapat dijadikan sebagai pewangi.

f. Antimikroba

Penelitian Nurina et al. (2014), bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak buah salak terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak buah salak memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri *Escherichia coli*.

2.1.2. Biji salak

Sama halnya dengan kulit dan buahnya, biji salak juga mengandung berbagai senyawa yang memiliki berbagai manfaat. Bahkan biji buah salak telah dimanfaatkan sebagai minuman dalam bentuk kopi. Kopi biji salak ini banyak digemari karena tidak mengandung kafein sehingga aman dikonsumsi oleh penderita hipertensi (Adikristya, 2017). Menurut penelitian Werdyani (2017), ekstrak biji salak mengandung senyawa fenol, flavonoid, serta tanin.

Aktivitas Farmakologi Biji Buah salak

a. Sitotoksik

Ekstrak biji salak memiliki aktivitas sitotoksik yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik adalah senyawa golongan tannin, monoterpen/seskuiterpen, polifenolat, dan alkaloid (Purwanto et al., 2015).

b. Antibakteri

Ekstrak biji salak mampu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak biji salak adalah alkaloid, tanin, polifenol, monoterpen & seskuiterpen dan kuinon. Metode yang digunakan untuk uji antibakteri adalah metode Difusi Agar Sumur. Konsentrasi efektif ekstrak biji salak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah 1500 ppm dengan diameter zona hambat 1,22 cm (Wahyuni et al., 2017).

c. Antioksidan

Ekstrak biji salak, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol mempunyai aktivitas antioksidan metode pemerangkapan DPPH yang tinggi. Kandungan senyawa ekstrak biji salak setelah di fraksinasi adalah senyawa fenol, flavonoid, dan tannin (Werdyani et al. 2017).

2.2. Salak Bali (*Salacca Zalacca Var. ambonensi*)

Keberadaan buah Salak Bali sudah ditetapkan berdasarkan SK Menteri Pertanian Nomor: 567/Kpts/TP.240/7/94, tanggal 23 Juli 1994, dan Nomor: 584/Kpts/TP.240/7/94, tanggal 23 Juli 1994 yang memiliki dua varietas yaitu

varietas Bali dan varietas Gula Pasir. Karakteristik Tanaman Salak Salak Sibetan Karangasem Bali (Varietas Gula Pasir dan Varietas Bali) mempunyai bunga sempurna (*diocius*), penyerbukan Salak Bali tergolong *kleistogami* (penyerbukan sebelum seludang mekar) sehingga sangat mungkin sifat induk terbawa oleh turunannya (tidak tercampur faktor luar). Hal ini terbukti, dengan tidak adanya penyimpangan produksi, baik kualitas maupun kuantitas buah yang dihasilkan dari benih yang menggunakan biji sebagai bahan tanam (Direktorat Jendral Kekayaan Intelektual Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, 2020).

Tanaman Salak Bali memiliki dua varietas, yaitu varietas gula pasir dan varietas Bali. Dari hasil inventarisasi yang dilakukan oleh Yayasan Wisata Agro Dewata Denpasar diketahui bahwa ada sekitar lima belas jenis salak yang ada di Bali. kelima belas jenis salak tersebut ada yang dikategorikan ke dalam varietas gula pasir dan ada pula yang dikategorikan ke dalam varietas Bali. jenis-jenis buah salak tersebut adalah sebagai berikut.

A. Salak varietas gula pasir.

Jenis salak yang termasuk dalam varietas gula pasir hanya salak gula pasir. Buah salak gula pasir merupakan salah satu jenis buah salak Bali yang rasanya paling manis dan getas. Kulit buahnya coklat kehitaman, sebagaimana jenis buah salak Bali yang lain. Dari segi tampak luar, buah salak gula pasir ini hampir tidak ada bedanya. Perbedaannya akan mencolok ketika kulit buahnya dikupas. Tampak daging buahnya yang berwarna putih, memiliki daging buah lebih tebal, lebih berair, dan lebih kenyal dibandingkan dengan jenis buah salak Bali yang lain. Keistimewaan buah salak ini adalah sudah terasa manis dari masih berumur muda tanpa harus menunggu buah salak ini matang. Hal ini menyebabkan harganya jauh lebih mahal dibandingkan dengan buah salak Bali yang lain. Harga buah salak ini bisa mencapai empat hingga lima kali lipat dari harga buah salak Bali yang lain.

B. Salak Bali varietas Bali Terdapat 14 jenis salak yang termasuk ke dalam varietas Bali. jenis-jenis salak tersebut antara lain.

1. Salak gondok

Salak gondok merupakan tanaman salak yang paling banyak populasinya dan lazim dikembangkan. Buah salak gondok merupakan jenis yang paling

banyak diperdagangkan. Bentuknya agak bulat dengan pangkal meruncing. Warna kulit buahnya yang coklat dan dasarnya terdapat seburat merah, jika dikupas daging buahnya putih kekuningan. Daging buahnya tebal, rasanya manis dengan sedikit berbau cempaka, getas, dan berair. Inilah yang menimbulkan kesan buahnya segar. Bijinya kecil dan saat buahnya benar-benar sudah masak, daging buahnya tidak melekat lagi dengan bijinya, sehingga saat buah ini digoyangkan akan terdengar bunyi batu bergerak didalamnya.

2. Salak nenas

Bentuk dan kulit buah salak nenas sangat mirip dengan buah salak gondok. Warna buahnya coklat kekuningan. Namun, jika dikupas daging buah akan terlihat lebih putih dibandingkan dengan buah salak gondok. Buah salak ini memiliki rasa lebih manis dan ada juga rasa masam serta daging buahnya tebal dan berair.

3. Salak nangka

Buah salak nangka memiliki ciri-ciri yaitu bentuknya besar, montok, dan berwarna coklat kekuningan. Jika kulit buahnya dikupas, daging buahnya akan tampak kekuningan dengan aroma khas mirip nangka. Buah salak ini memiliki daging buah yang tebal dan berair. Terkadang, pada daging buah terdapat warna coklat kehitaman dan berbentuk garis dua sampai tiga garis. Hal tersebut akan menambah rasa yang manis dan segar. Orang sibatana sendiri menyebut buah salak ini dengan sebutan salak porong (salak nangka yang terdapat garis ataupun warna coklat didalam daging buahnya). Buah salak ini memiliki kemiripan dengan buah salak injin.

4. Salak nyuh (salak kelapa)

Buah salak nyuh memiliki ciri-ciri yaitu warna kulit buahnya coklat kemerahan. Bentuk buah salak ini lebih bulat dari buah salak nenas, tetapi memiliki ukuran yang sama. Jika dibandingkan buah salak nenas, buah salak nyuh memiliki rasa salak yang lebih sepat.

5. Salak injin

Buah salak injin memiliki ciri-ciri yaitu bentuk dan kulit buahnya mirip dengan buah salak nenas. Jika kulitnya dikupas, daging buahnya terdapat

warna hitam, apabila semakin matang, warna ini akan semakin banyak bahkan bisa sampai membuat seluruh daging buah ini akan berwarna seperti ketan hitam. Dari sinilah nama salak injin (ketan hitam) ini diambil.

6. Salak gading

Buah salak gading memiliki ciri-ciri yaitu ukuran buahnya sama dengan ukuran buah salak Bali pada umumnya. Namun, warna kulitnya putih kekuningan seperti halnya kulit bule sehingga disebut sebagai buah salak gading ataupun buah salak bule. Rasa buah salak ini kurang manis bahkan bisa dibilang masam.

7. Salak embadan (salak raja)

Buah salak embadan memiliki ciri-ciri yaitu bentuk lebih mirip buah salak nangka, tetapi buah salak ini memiliki kandungan air yang lebih banyak dibandingkan buah salak nangka. Dahulu, buah salak ini merupakan salah satu buah salak kesukaan Raja Karangasem. Oleh karena itu, buah salak ini diberi nama buah salak raja. Saat ini populasi buah salak ini sangat terbatas, yaitu hanya terdapat di Dusun Dukuh Sibetan.

8. Salak getih

Buah salak getih memiliki ciri yaitu kulit buahnya agak kehitaman dibagian ujungnya, mirip dengan buah salak gula pasir. Jika kulit buah salak ini dikupas, daging buahnya akan terlihat warna merah yang mencolok. Hal inilah yang membedakan dengan buah salak yang lainnya. Dilihat dari ukurannya, buah salak getih berukuran sedikit lebih besar dari buah salak gula pasir. Buah salak ini memiliki rasa yang manis dan segar.

9. Salak cengkeh

Salak cengkeh memiliki ciri-ciri yaitu bentuk tanamannya mirip dengan salak Bali yang lain, tetapi buahnya kecil-kecil dan bulat. Buah salak ini memiliki rasa getas dan manis sedikit pedas dengan aroma seperti cengkeh. Buah salak ini biasanya digunakan sebagai obat sakit perut di kalangan petani salak.

10. Salak bingin

Salak bingin memiliki ciri-ciri yaitu ukuran tanamannya kecil tetapi daunnya agak keriting. Tanaman ini sangat cocok dipakai tanaman bonsai.

Selama ini belum diketahui adanya buah salak bingin yang menghasilkan buah.

11. Salak mesui

Buah salak mesui memiliki ciri-ciri yaitu bentuknya mirip buah salak gondok, rasanya manis dengan aroma buah seperti mesui (pohon kayu manis).

12. Salak biji putih

Buah salak biji putih memiliki ciri-ciri yaitu mirip dengan buah salak nangka. Perbedaannya adalah terdapat pada bijinya yang mana biji buah salak ini akan terlihat putih walaupun buah salak ini sudah tua. Buah ini memiliki rasa sepat, sehingga kurang bagus untuk di konsumsi.

13. Salak maong

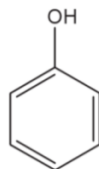
Buah salak maong dalam bahasa bali maong berarti kotor. Begitulah buah salak ini disebut karena pada kulit buah salak ini terdapat bercak bercak putih sehingga buah salak ini terkesan kotor.

14. Salak penyalin

Buah salak ini memiliki pelepah daun yang lebih besar dari buah salak yang lain. Buah salak ini mirip dengan buah salak nyuh tetapi rasa buahnya lebih sepat.

2.3. Fenol

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat secara langsung pada cincin aromatik. Gambar 2.2. dibawah ini merupakan struktur kimia dari fenol dimana struktur tersebut yang menjadi dasar seluruh kelompok (Vermerris and Nicholson, 2006).



Gambar 2.2. Struktur Fenol (Vermerris and Nicholson, 2006)

Struktur fenol memiliki banyak kemiripan dengan struktur alifatik alkohol dimana gugus hidroksil melekat pada rantai karbon. Gugus hidroksil fenolik

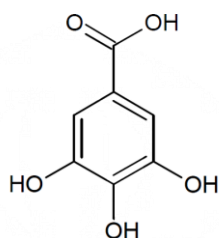
dipengaruhi oleh keberadaan hidroksil fenolik yang tidak stabil, yang menyebabkan fenol menjadi asam lemah. Polifenol merupakan senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil yang terikat pada satu atau lebih cincin benzena. Senyawa fenolik merupakan karakteristik dari tumbuhan dan biasanya kelompok senyawa ini ditemukan sebagai ester atau glikosida daripada sebagai senyawa bebas (Vermerris and Nicholson, 2006).

Fenol merupakan metabolit sekunder yang terbesar dalam tumbuhan. Senyawa fenol yang terdapat dalam tumbuhan dapat berupa fenol, asam fenolat, tannin, lignin dan flavonoid (Watson, 2014 dalam Hidayanti, 2017). Senyawa fenolik mempunyai titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Senyawa fenolik mudah larut dalam sebagian besar pelarut organik seperti alkohol dan keton, dan agak kurang larut dalam pelarut hidrokarbon alifatik (Rappoport, 2003).

Senyawa fenolik yang terdapat dalam tumbuhan diketahui memiliki banyak fungsi dan beberapa bertindak sebagai elemen pertahanan terhadap herbivora dan patogen. Ada sejumlah sayuran dan buah-buahan yang mengandung senyawa fenolik. Studi mengenai biosintesis senyawa fenolik menjelaskan bahwa metabolismenya pada tanaman dapat bermanfaat dalam banyak hal, seperti dalam pencegahan berbagai penyakit. Banyaknya variasi senyawa fenolik menghasilkan beragam karakteristik yang membantu mencegah banyak penyakit kronis dan degeneratif seperti aktivitas antioksidan, sifat antiseptik, aktivitas anti-diabetes, anti-penuaan, penyakit Alzheimer, anti-obesitas, meningkatkan aktivitas jantung, dan lain-lain (Gani and Shama, 2021).

2.4. Asam Galat

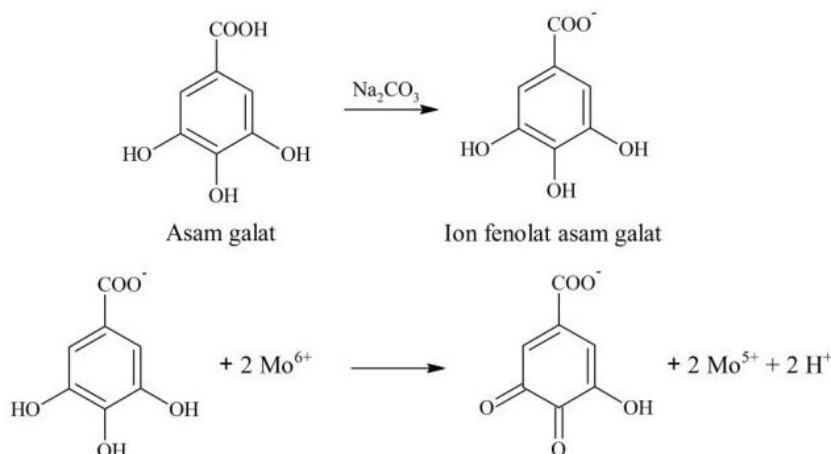
Asam galat merupakan senyawa golongan fenolik C_6-C_1 asam hidroksibenzoat yang memiliki rumus molekul $C_7H_6O_5$ dengan nama IUPAC asam 3,4,5-trihidroksobenzoat. Rumus kimia asam galat adalah $C_6H_2(OH)_3COOH$ (Belinda, 2011). Struktur kimia dari asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.3. berikut.



Gambar 2.3. Struktur Asam Galat (Belinda, 2011)

Asam galat memiliki ciri-ciri fisik berupa kristal berwarna putih-kekuningan atau coklat kekuningan dengan berat molekul sebesar 188,14 gram/mol. dan memiliki titik lebur sebesar 250°C (*MSDS Gallic*, 2008 dalam Belinda, 2011)

Asam galat sering digunakan pada industri farmasi sebagai standar dalam menentukan fenol yang terkandung pada analit. Asam galat memiliki aktivitas antioksidan yang berfungsi dapat menangkal radikal bebas (Yulistian, dkk., 2015). Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran fenol karena asam galat merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil (Lee et al., 2003 dalam Septiani, dkk., 2018). Reaksi yang terjadi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan Asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.4. sebagai berikut.



Gambar 2.4. Reaksi antara Asam Galat dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*

(Nunes, dkk., 2012 dalam Martono, dkk., 2020)

2.5. Ekstraksi Metode Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling sering digunakan untuk proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut

yang sesuai, dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus) (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* yang berarti mengisi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengadukan berulang-ulang. Hal tersebut dilakukan untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil ekstrak yang diperoleh (Voight, 1994 dalam Istiqomah, 2013).

Rumus perhitungan hasil rendemen ekstrak :

$$\%Rendemen : \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Kekurangannya adalah waktu pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

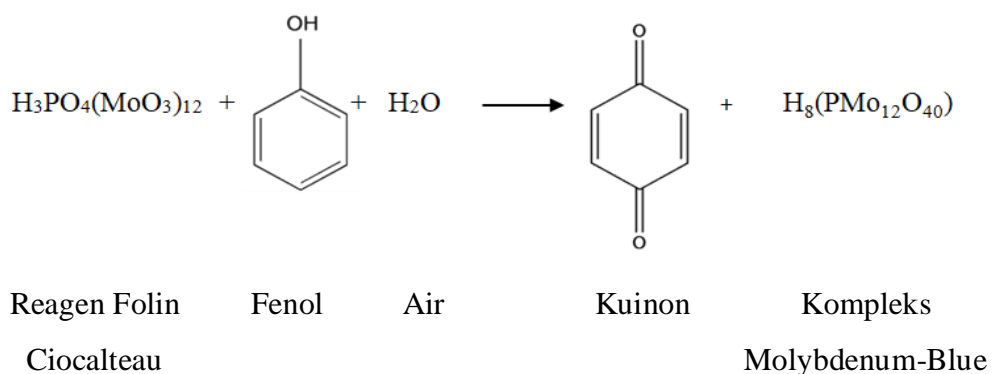
2.6. Metode *Total Phenolic Content* (TPC)

Penentuan kadar fenol dengan menggunakan metode *Total Phenolic Content* berdasarkan prinsip peningkatan intensitas warna yang bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Metode TPC ini telah banyak digunakan dalam penentuan

kadar fenol karena mudah dan memberikan hasil yang cepat (Blainski et al., 2013). Reagen *Folin-Ciocalteu* digunakan karena senyawa fenolik mampu berikatan dengan reagen ini dan membentuk larutan berwarna yang akan diukur absorbansinya. Metode TPC ini didasarkan pada terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru akibat adanya senyawa fenolik dalam sampel yang diamati (Alfian dan Susanti, 2012).

Penentuan kadar fenol dengan metode *Total Phenolic Content* dilakukan dengan cara sampel sebanyak 1 mL ditambahkan ke tabung erlenmeyer yang berisi 9 mL aquades. Sebanyak 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* ditambahkan ke dalam campuran reaksi, diikuti dengan inkubasi selama 3 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, 10 mL 7% b/v larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) ditambahkan ke dalam campuran kemudian inkubasi selama 90 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm (Khasanah, 2016). Penentuan kadar total fenol sampel ditentukan dengan menggunakan kurva standar nilai absorbansi yang berkorelasi dengan konsentrasi standar dari asam galat.

Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel maka semakin banyak ion fenolat yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat. Tujuan penambahan Na_2CO_3 adalah untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi folin oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel (Singleton, dkk., 1965). Reaksi yang terjadi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan Fenol dapat dilihat pada Gambar 2.5. sebagai berikut.



Gambar 2.5. Reaksi antara Reagen *Folin-Ciocalteu* dengan Fenol (Tursiman, dkk., 2012)

Metode *Total Phenolic Content* ini telah banyak digunakan dalam penentuan kadar total fenol, salah satunya digunakan pada penelitian Khasanah

(2016) mengenai kadar total fenol ekstrak etanol biji salak pondoh, dan diperoleh hasil sebesar 9,36 mg GAE/100 gram yang berarti dalam 100 gram ekstrak etanol biji salak pondoh setara dengan 9,36 mg asam galat. Hasil tersebut memberikan perkiraan kasar dari total senyawa fenol yang ada dalam ekstrak. Respon senyawa polifenol berbeda tergantung dari jumlah gugus fenol yang dimiliki. Selain itu kelarutan senyawa polifenol terutama tergantung pada gugus hidroksil, ukuran molekul dan panjang hidrokarbon (Mohammedi and Atik, 2011).

2.7. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV–Visible atau sinar tampak merupakan pengukuran suatu interaksi antara zat elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia (Visible) (Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017). Sinar ultra violet (UV) mempunyai rentang panjang gelombang dari 100-400 nm, sedangkan sinar tampak (Visible) 400-750 nm, sinar dimulai dari tidak berwarna-ungu-merah (Suhartati, 2017).

Terdapat beberapa istilah yang sering digunakan pada Spektrofotometri UV-Visible terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartati, 2017).

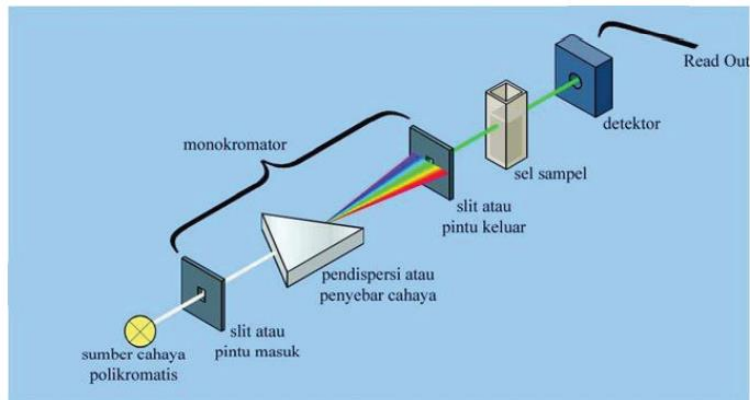
2.7.1. Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer (Suhartati, 2017), yaitu sebagai berikut:

1) *Single-beam*

Single-beam Gambar 2.6, dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Panjang

gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm (Skoog, et al., 1996 dalam Suhartati, 2017).

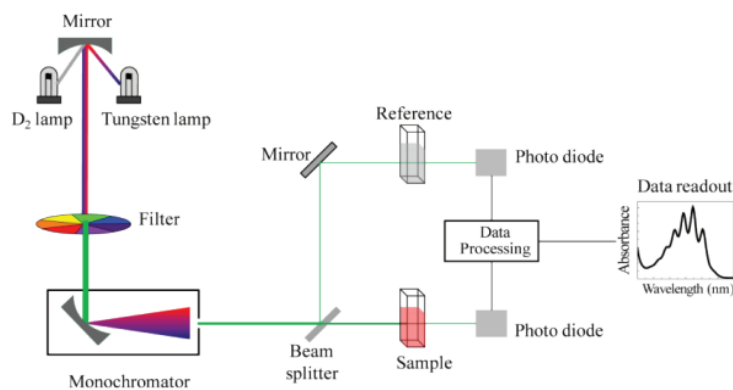


Gambar 2.6. Diagram Alat Spektrometer UV-Visible (*Single-beam*)

(Suhartati, 2017)

2) *Double-beam*

Double-beam instrument Gambar 2.7, digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double-beam* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Skoog, et al., 1996 dalam Suhartati, 2017). Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar tampak (Visibel) adalah lampu wolfram.



Gambar 2.7. Skema Spektrofotometer UV-Visible (*Double-beam*)

(Suhartati, 2017)

2.7.2. Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis

Prinsip kerja Spektrofotometri adalah bila cahaya monokromatik maupun campuran jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan

dipantulkan sebagian dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Hasibuan, 2015).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai yaitu sebagai berikut:

1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
4. Kemurniannya harus tinggi.

Pemakaian Spektrofotometer Sinar Tampak (visible), larutan yang digunakan harus berwarna. Hal ini bisa dilakukan dengan menambahkan pereaksi tertentu pada contoh yang diperiksa. Kemudian hasil pengukuran dari Spektrofotometer dimasukkan ke dalam rumus *Lambert-Beer*, sehingga akan didapatkan kadar zat yang dicari (Triyati, 1985).

Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A \approx C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A < 0,8$) atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum *Lambert-Beer* (Suhartati, 2017). Semakin banyak sinar diabsorpsi oleh sampel organik pada panjang gelombang tertentu, semakin tinggi absorban, yang dinyatakan dalam hukum *Lambert-Beer*:

$$A = \log I_0/I = a \cdot b \cdot c = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan:

- A = absorban
a = absorptivitas ($\text{g}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
b = lebar sel yang dilalui sinar (cm)
c = konsentrasi (mol/L)
 ϵ = ekstinsi (absorptivitas) molar ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
 I_0 = intensitas sinar sebelum melalui sampel

I = intensitas sinar setelah melalui sampel

Dengan menggunakan persamaan *Lambert-Beer*, dapat dihitung berapa konsentrasi suatu senyawa dalam suatu pelarut (Suhartati, 2017).

Penelitian penentuan kadar total fenol secara Spektrofotometri UV-Visible telah banyak dilakukan, salah satunya yaitu pada penelitian Khasanah (2016) mengenai penentuan kadar antioksidan pada ekstrak etanol biji salak pondoh, hasil pengukuran standar asam galat dengan 3 kali replikasi diperoleh kurva baku asam galat yang dapat dikatakan linear dengan persamaan $y = 0,0057x + 0,0063$ dan nilai R yang dihasilkan yaitu 0,9983. Kadar total fenol ekstrak etanol biji salak pondoh diperoleh dengan memasukan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva baku asam galat. Hasil kadar total fenol ekstrak etanol biji salak pondoh yang diperoleh adalah sebesar 9,36 mgGAE/100 gram sampel.

Kelemahan Spektrofotometer UV-Visible dalam analisis kualitatif adalah kurang teliti, yang disebabkan karena pita-pita absorpsi yang diperoleh melebar, dengan demikian kurang khusus atau terbatas pemakaiannya. Walaupun demikian, berdasarkan spektrum serapan UV-Visible dapat digunakan untuk mengetahui ada atau tidak adanya gugus fungsional tertentu dalam senyawa organik. Alat ini dapat juga dipergunakan untuk menentukan jumlah kecil senyawa berkadar rendah yang dapat mengabsorpsi dalam media non absorben (Pecsok et al., 1976; Skoog & West, 1971 dalam Triyati, 1985).

Menurut Triyati (1985) pemakaian Spektrofotometer UV-Visible dalam analisis kuantitatif juga memiliki beberapa keuntungan, yaitu sebagai berikut:

- Dapat dipergunakan untuk analisis banyak zat organik dan anorganik. Adakalanya beberapa zat harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa berwarna sebelum dianalisis.
- Selektif. Pada pemilihan kondisi yang tepat dapat dicari panjang gelombang untuk zat yang dicari.
- Mempunyai ketelitian yang tinggi, dengan kesalahan relatif sebesar 1% - 3%, tetapi kesalahan ini dapat diperkecil lagi.
- Dapat dilakukan dengan cepat dan tepat.