

**Analisis Kapasitas Antioksidan dan IC 50 pada Produk Minuman Fermentasi
Sari Buah Salak Bali (*Salacca zalacca* var. *Amboinensis*)
Asal Desa Rendang**

*Analysis of Antioxidant Capacity and IC 50 on Fermented Drink Products of
Bali Snake Fruit (*Salacca zalacca* var. *Amboinensis*)*

**Ida Ayu Putu Ary Widnyani*, Wahyu Krisna Yoga, Pande P Elza Fitriani,
Putu Rima Sintyadewi**

Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi,
Institut Teknologi dan Kesehatan Bali

Diterima 4 Maret 2024 / Disetujui 18 Maret 2024

ABSTRACT

*Bali snake fruit (*Salacca zalacca* Var. *Amboinensis*) is an Indonesian agricultural product that can be found scattered throughout the archipelago. Utilization of snake fruit by applying process engineering with the fermentation method can provide added value and provide health benefits for the community. This study aims to determine the antioxidant capacity and free radical inhibitory activity (IC50) of the product. The samples were tested for their antioxidant capacity and antioxidant activity. The data obtained were statistically analyzed using a non-factorial completely randomized design. The study used 7 treatments and 3 replications to obtain 21 experimental units. The results showed that the treatment of differences in fermentation time on probiotic drink products of salak fruit juice had antioxidant capacity ranging from 376.552 to 761.693 mg GAE/100g. The antioxidant activity (IC 50) produced was 182.294-130.965 ppm.*

Keywords: *Salacca zalacca* var. *Amboinensis*; Antioxidant capacity; IC 50

ABSTRAK

Salak Bali (*Salacca zalacca* Var. *Amboinensis*) merupakan produk pertanian Indonesia yang dapat ditemukan tersebar di Nusantara. Pemanfaatan buah salak dengan menerapkan rekayasa proses dengan metode fermentasi dapat memberikan nilai tambah dan memberikan manfaat kesehatan bagi masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kapasitas antioksidan dan aktivitas penghambatan radikal bebas (IC50) pada produk. Sampel diuji kandungan kapasitas antioksidan dan aktivitas antioksidan. Data yang didapatkan dianalisis statistik menggunakan rancangan acak lengkap non faktorial. Penelitian menggunakan 7 perlakuan dan 3 kali ulangan sehingga didapatkan 21 unit percobaan. Hasil penelitian menunjukkan, perlakuan perbedaan waktu fermentasi pada produk minuman probiotik sari buah salak memiliki kapasitas antioksidan berkisar 376,552 – 761,693 mg GAE/100g. Aktivitas antioksidan (IC 50) yang dihasilkan adalah 182,294-130,965 ppm.

Kata Kunci : *Salacca zalacca* var. *Amboinensis*; Kapasitas antioksidan; IC 50

PENDAHULUAN

Salak (*Salacca zalacca* Var *Amboinensis*) merupakan produk pertanian Indonesia yang dapat ditemukan tersebar di Nusantara. Khusus di Provinsi Bali, Desa Sibetan di Kabupaten Karangasem merupakan sentra penghasil buah

salak terbesar. Secara umum salak memiliki berbagai kandungan yang berperan sebagai antioksidan yang membantu untuk melindungi tubuh dari paparan radikal bebas seperti vitamin C, likopen, beta karoten, asam-asam organik, senyawa fenolik. Salak Bali memiliki kandungan total fenolik sebesar $6,34 \pm 1,21$

*Korespondensi Penulis:
E-mail: idaayu.aw@gmail.com

mg/kg hasilnya lebih besar bila dibandingkan dengan varietas salak pondoh $4,60 \pm 1,10$ mg/kg dan varietas salak Nglumut sebesar $6,09 \pm 0,68$ mg/kg (Ariviani dan Parnanto 2013).

Salak Bali dapat menghasilkan buah sepanjang tahun, meskipun panen raya biasa terjadi diakhir tahun. Produksi salak Bali yang melimpah setiap masa panen raya menimbulkan masalah tersendiri bagi petani karena penurunan harga yang drastis. Sifat buah salak yang mudah rusak (perishable) juga ikut membebani petani. Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melakukan rekayasa proses pada pengolahan buah salak agar memiliki daya simpan yang lebih panjang dan dapat memberikan manfaat kesehatan bagi konsumennya. Produk probiotik dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora diusus (Herlina dan Nuraeni, 2014). Contoh produk probiotik yang sederhana pengolahan dan kaya manfaat adalah kombucha. Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi kultur simbiotik berupa jamur kombu disebut juga SCOBY (Symbiotic Culture of Bactery and Yeast) (Filippis dkk., 2018).

Dengan melakukan rekayasa proses diharapkan kandungan gula yang terdapat pada salak Bali yang cukup tinggi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk fermentasi oleh kultur SCOBY. Perlakuan yang diberikan pada penelitian ini adalah perbedaan lama waktu fermentasi untuk melihat pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan dan IC 50. Lama waktu fermentasi penelitian ini adalah 0,3,6,9,12,15,18 hari. Salak akan diolah hingga mendapatkan sari buah kemudian difermentasi menggunakan kultur SCOBY sehingga akan didapatkan produk berupa minuman probiotik sari buah salak.

Kandungan total fenolik yang tinggi pada salak Bali akan menjadi nilai tambah pada produk. Produk kombucha sari buah salak bila dibandingkan dengan produk kombucha

dengan bahan dasar teh hitam, selain diharapkan akan mengandung senyawa antioksidan juga diharapkan akan menjadi peluang pengembangan produk baru yang lebih sehat sehingga buah salak bali yang melimpah dikebun rakyat selama musim panen raya dapat diolah menjadi produk yang memiliki nilai jual dan daya simpan lebih baik.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah SCOBY, buah salak bali (*Salacca zalaca Var Amboinensis*), gula pasir, metanol pro analisis, DPPH)2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), Spektrofotometer UV-VIS (thermo Scientific), timbangan analitik

Pembuatan dan Perlakuan Sari Buah Salak

Penelitian ini diawali dengan pembuatan sari buah salak. Buah salak yang sudah bersih ditimbang dan dipotong kurang lebih berukuran 2 cm, kemudian ditambahkan air dengan perbandingan salak dan air sebesar 1:2. Selanjutnya, campuran tersebut dipanaskan dengan suhu 50°C selama 10 menit, disaring dan diambil filtratnya ditambahkan gula dengan perbandingan campuran dan gula 1:4, selanjutnya dipasterurisasi dan didinginkan. 1 liter sari buah salak dituangkan kedalam toples kaca steril kemudian ditambahkan stater SCOBY. Toples ditutup kain serbet diikat dan difermentasi pada suhu ruang. Waktu fermentasi dibuat sesuai dengan perlakuan yang sudah ditentukan yaitu 0,3,6,9,12,15,dan 18 hari.

Analisa Data

Penelitian ini merupakan experimental research, data yang dikumpulkan merupakan data kuantitatif dan dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap single factor. Faktor yang digunakan adalah perbedaan waktu fermentasi (W) (W1: 0 hari, W2: 3 hari, W3: 6 hari, W4: 9 hari, W5: 12 hari, W6: 15 hari, dan

W7: 18 hari). Faktor penambahan gula dibuat sama yaitu 10%. Penelitian ini menggunakan 3 kali ulangan sehingga diperoleh 21 unit percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kapasitas Antioksidan

Perlakuan lama waktu fermentasi pada pembuatan kombucha sari buah salak berpengaruh sangat nyata ($P>0,01$) terhadap parameter kapasitas antioksidan. Interaksi antar perlakuan pada lama waktu fermentasi 0,3,6,9, dan 12 hari menghasilkan perbedaan yang signifikan, sedangkan pada perlakuan lama waktu fermentasi 15 dan 18 hari, kapasitas antioksidan yang dihasilkan tidak berbeda signifikan. Kapasitas antioksidan tertinggi didapatkan pada perlakuan G1W7 (10% gula dengan waktu fermentasi 18 hari) sebesar 762,845 mg GAE/100g dan kapasitas antioksidan terendah didapatkan pada perlakuan G1W1 (10% gula dengan waktu fermentasi 0 hari). Grafik nilai rata-rata kapasitas antioksidan ditampilkan pada Gambar 1.

Kapasitas antioksidan pada sampel dipengaruhi oleh senyawa fitokimia yang terdapat pada buah salak sebagai bahan baku. Pada penelitian Sulaksono, dkk (2015) hasil pengujian kualitatif pada ekstrak etanol sari buah salak terdeteksi senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan seperti alkaloid, polifenolat, flavonoid, tanin, kuinon, monoterpen dan sesquiterpen. Peningkatan kapasitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan total fenol. Fenol merupakan senyawa yang ditandai dengan cincin aromatik. Kandungan total fenol semakin meningkat selama proses fermentasi kombucha. Selama proses fermentasi senyawa fenol baru terbentuk.

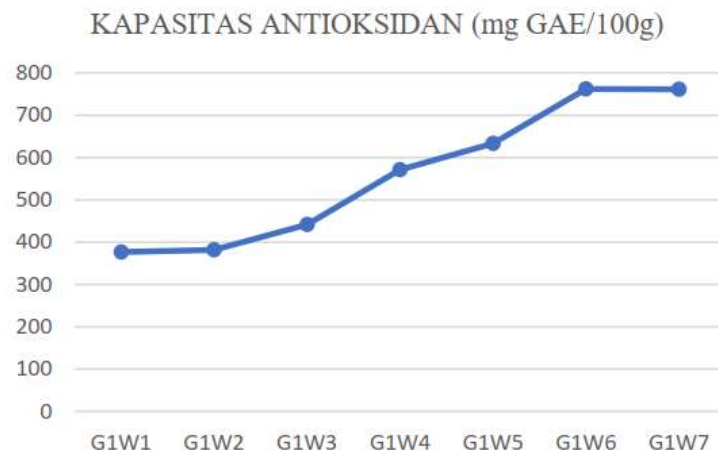
Senyawa fenol pada kombucha dipengaruhi oleh kandungan flavonoid tiap bahan dan saat proses fermentasi terjadi depolimerisasi thearubigin, sehingga kadar

fenol mengalami peningkatan (Wistiana & Zubaidah, 2015). Selama proses fermentasi, yeast dan bakteri asam asetat akan membebaskan enzim yang akan mendegradasi kompleks polifenol menjadi suatu senyawa sederhana yang dapat meningkatkan kadar fenolik total (Bhattacharya, 2011). Pada penelitian Hunanda (2016) pada fermentasi kombucha teh hijau kadar fenolik tertinggi terdapat pada lama waktu fermentasi 10 hari yaitu 1080 bpj. Pada penelitian Wistiana & Zubaidah (2015) nilai rata-rata kandungan fenol kombucha dengan bahan dasar daun salam, daun sirih mengalami peningkatan selama masa *fermentasi*. Pada lama fermentasi hari ke 0 didapatkan kadar fenol sebesar 350 μ g/ml CGAE, pada hari ke 8 didapatkan kadar fenol sebesar 460 μ g/ml CGAE, dan hari ke 14 sebesar 527 μ g/ml CGAE. Penurunan kapasitas antioksidan pada lama fermentasi 18 hari disebabkan semakin lama proses fermentasi, SCOBY pada kombucha akan menghasilkan enzim tanase yang mampu mendegradasi epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, dan epigalokatekin galat (Naland, 2004 ; Firdaus dkk., 2020).

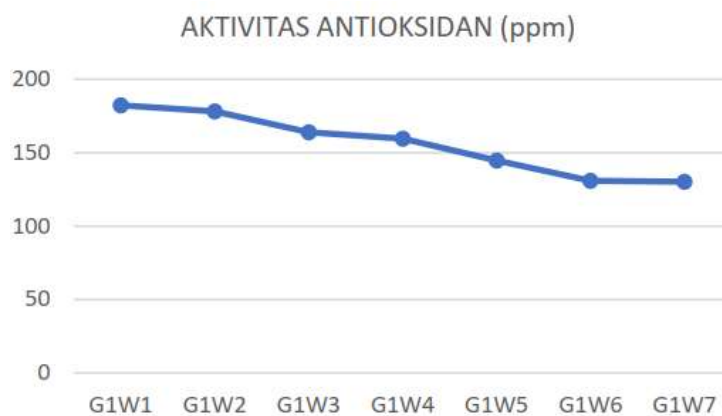
Aktivitas Antioksidan (IC50)

Perlakuan lama waktu fermentasi pada pembuatan kombucha sari buah salak berpengaruh sangat nyata ($P>0,01$) terhadap parameter aktivitas antioksidan. Interaksi antar perlakuan pada lama waktu fermentasi 0,3,6,9, dan 12 hari menghasilkan perbedaan yang signifikan, sedangkan pada perlakuan lama waktu fermentasi 15 dan 18 hari, aktivitas antioksidan yang dihasilkan tidak berbeda signifikan. Grafik nilai rata-rata aktivitas (IC50) antioksidan ditampilkan pada Gambar 2.

Aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada perlakuan G1W6 (10% gula dengan waktu fermentasi 15 hari) sebesar 130,965 ppm. Perlakuan G1W1 (10% gula dengan waktu fermentasi 0 hari), G1W2 (10% gula dengan waktu fermentasi 3 hari), G1W3 (10%



Gambar 1. Nilai Rata-rata Kapasitas Antioksidan



Gambar 2. Nilai Rata-rata Aktivitas Antioksidan (IC50)

gula dengan waktu fermentasi 6 hari), serta G1W4 (10% gula dengan waktu fermentasi 9 hari) tergolong memiliki aktivitas antioksidan lemah (151-200). Pada perlakuan G1W5 (10% gula dengan waktu fermentasi 12 hari), G1W6 (10% gula dengan waktu fermentasi 15 hari), dan G1W7 (10% gula dengan waktu fermentasi 18 hari) tergolong memiliki aktivitas antioksidan sedang (100-150) (Muzaki dkk., 2018)

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting untuk melindungi tubuh dari radikal bebas serta mencegah terjadinya stress oksidatif (Rahayu dkk., 2015 ; Werdhasari, 2014). Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC 50. Nilai IC 50 merupakan angka yang

menunjukkan kemampuan menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC50, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Semakin lama fermentasi, maka nilai IC50 semakin meningkat yang berarti kemampuan aktivitas antioksidan semakin menurun (Pratama dkk., 2015)

Pada hasil penelitian ini aktivitas antioksidan kombucha sari buah salak mengalami peningkatan dalam menghambat radikal DPPH seiring dengan lama waktu fermentasi. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. Penambahan senyawa yang diduga

memiliki kandungan antioksidan kedalam DPPH akan menurunkan konsentrasi DPPH. Penurunan konsentrasi DPPH menyebabkan adanya penurunan absorbansi DPPH (Pourmorad dkk., 2006). Peningkatan aktivitas antioksidan diakibatkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha selama proses fermentasi (Goh dkk., 2012). Peningkatan aktivitas antioksidan dapat disebabkan juga oleh terbentuknya asam laktat. Pada produk fermentasi berbasis susu asam laktat mengandung α -hydroxyacids (AHA) yang berfungsi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh asam laktat ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) yang diproduksi oleh bakteri probiotik berperan sebagai donor atom hidrogen bagi molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya (radikal bebas). Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam produk fermentasi merupakan antioksidan alami yang berasal dari bakteri probiotik selama proses fermentasi, Antioksidan merupakan metabolit sekunder dari proses metabolisme bakteri. Bakteri probiotik akan mulai membentuk metabolit sekunder ketika memasuki fase stasioner (Widowati dkk., 2011)

Menurut Jayabalan dkk.,(2014), Kultur khamir yang terdapat pada kombucha salah satunya adalah *Saccharomyces cereviceae*, kultur khamir tersebut mampu menghasilkan enzim β -glukosidase yang dapat memecah ikatan glikosida sehingga mampu membebaskan senyawa fenol ke medium fermentasi. Pada produk fermentasi kombucha metabolisme yang dilakukan oleh mikroorganisme akan meningkatkan senyawa fenol karena adanya proses biotransformasi yang memanfaatkan enzim suatu sel tanaman untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu (Jayabalan dkk., 2014). Meningkatnya aktivitas antioksidan yang disebabkan oleh adanya senyawa fenolik bebas. Senyawa fenolik bebas dihasilkan selama proses fermentasi sehingga semakin tinggi kadar senyawa fenolik yang dihasilkan maka akan

berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Pada perlakuan W1G7 (lama fermentasi 18 hari) aktivitas antioksidan mengalami penurunan. Pada proses fermentasi juga terjadi peningkatan jumlah asam-asam organik karena adanya aktivitas khamir dan bakteri yang berada dalam kombucha (Hassmy dkk., 2017). Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang digunakan untuk berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya akan cenderung menurun. Pada penelitian Sukmawati dkk (2013) penurunan aktivitas antioksidan kombucha teh hitam terjadi pada hari ke 15. Kandungan vitamin C pada salak juga mempengaruhi aktivitas penghambatan DPPH.

Pada penelitian ini digunakan kultivar salak Bali sebagai bahan baku sari buah dengan kandungan vitamin C sebesar 171,21 mg/kg, bila dibandingkan dengan kultivar salak Pondoh (129,34 mg/kg) dan Nglumut (170,72 mg/kg) kandungan vitamin C pada kultivar salak Bali menjadi yang tertinggi (Ariviani & Parnanto, 2013). Vitamin C atau asam askorbat dapat ditemukan dalam jaringan tubuh tanaman. Vitamin ini mempunyai peranan penting bagi metabolisme sel. Vitamin C mampu mengeliminasi ROS (radical oxygen species) dan sebagai agen reduktor yang kuat dan sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam uji reducing power (Hernandez dkk., 2006 ; Modi dkk., 2010). Reducing power merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan salak sebagai antioksidan sekunder. Pada penelitian Ariviani & Parnanto (2013) Vitamin C pada salak berperan sebagai agen pereduksi ion logam dalam aktivitasnya sebagai antioksidan. Hal ini terlihat dari korelasinya dengan uji reducing power dengan nilai 0,875

KESIMPULAN

Perlakuan perbedaan lama waktu fermentasi pada produk memiliki rata-rata

kapasitas antioksidan berkisar antara 376,552-761,693 mg GAE/100 gram. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan berkisar antara 182,294-130,965 ppm. Aktivitas antioksidan pada produk tergolong berkekuatan sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariviani, S., N.H.R. Parnanto. 2013. Kapasitas Antioksidan Buah Salak (*Salacca edulis REINW*) Kultivar Pondoh, Nglumut dan Bali Serta Korelasinya Dengan Kadar Fenolik Total dan Vitamin C. *J. Agritech* 3 (33) 324-333
- Bhattacharya, S., P. Manna, R. Gachhui and P. C. Sil. 2011. Protective Effect of Kombucha Tea Against Tertiary Butyl Hydroperoxide Induced Cytotoxicity and Cell Death in Murine Hepatocytes. *Indian J. Exp. Biol.* Pp. 511-524.
- De Filippis, F., Troise, A.D., Vitaglione, P., Ercolini, D. 2018. Different Temperatures Select Distinctive Acetic Acid Bacteria Species and Promotes Organic Acids Production During Kombucha Tea Fermentation. *Food Microbiology*.
- Firdaus, S., A. Indah C., L. Isnaini., S. Aminah. 2020. "Review Kombucha Sebagai Minuman Fungsional Dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. Prosiding Seminar Nasional Unimus. Semarang
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A and Bhat, R. 2012. Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose. *International Food Reaserch Journal*. 19 (1): 109117
- Hassmy,N.P., J. Abidjulu., A. Yudistira. 2017. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi Yang Optimal. *J. Farmasi* 6 (4) 67-74
- Herlina, E. dan Nuraeni, F. 2014. Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berbasis Ubi Kayu (*Manihot esculenta*) dalam Menunjang Ketahanan Pangan. *J. Sains Dasar*. 3 (2):142-148.
- Hernández, Y., Lobo, M.G. dan González, M. 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Food Chemistry* 96: 654-664.
- Hunanda, V.S. 2016. Penetapan Daya Antioksidan Dan Kadar Total Fenolik Kombucha Dibandingkan Teh Hijau Secara Spektrofotometri. *J. Calyptra* 5 (2) 435-445
- Jayabalan R., Malbasa, R. V. Loncar, E.S., Vitas, J.S., dan Sathishkumar, M.2014. A review kombucha tea microbiology, composition, fermentation, beneficial effect, toxicity and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety* 13(4), pp.538-550m
- Phytochem Res 4(4), pp. 207-212.
- Modi, A.J., Khadabadi, S.S., Deore, S.L. dan Kubde, M.S. 2010. Antioxidant effects of leaves of *Clerodendrum Infortunatum* (Linn.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 1: 67-72.
- Muzaki, A.F., W.A.Setyati., R. Pramesti. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Halimeda macrolaba Dari Pantai Teluk Awur, Jepara, Jawa Tengah. *Jurnal Enggano* 3 (2) 144-155
- Naland, H. 2004. Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka
- Pourmorad,F.,S.J. Hosseinimehr, N. Shahabimajd. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medical Plants. *J. African of Biotechnology* 5 (11) 1142-145
- Pratama, N. Pato, U., Yusmarini. 2015. Kajian Pembuatan Teh Kombucha Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) *J. Faperta* 2 (2)
- Rahayu, R., C. Haryani, Y. 2015. Total Fenolik, Flavonoid, Dan Aktivitas

- Antioksidan Dari Produk Teh Hijau dan Teh Hitam Tanaman Bangun-Bangun (*Coleus Amboenicus*) Dengan Perlakuan ETT Rumput Paitan. *J FMIPA* 2 (1) 170-171
- Sukmawati, P.P.A., Ramona, Y., dan Leliqia, N.P.E. 2013. Penetapan Aktivitas Antioksidan Yang Optimal Pada Teh Hitam Kombucha Lokal Di Bali Dengan Variasi Waktu Fermentasi. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (1) : 25-29.
- Sulaksono, S. S.P. Fitriyaningsih, U. Yuniarni. 2015. Karakterisasi Simpliasia dan Ekstrak Etanol Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss. Prosiding KNMSA
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *J. Biotek Medisiana Indonesia* 3 (2) 59-68
- Widowati, E., Andriani., A.P. Kusumaningrum. 2011. Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe Dengan Variasi Substrat. *J. Teknologi Hasil Pertanian* 4(1) 18-31
- Wistiana, D., E. Zubaidah. 2015. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha Dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *J. Pangan dan Agroindustri* 3 (4) 1446-1457.