

Pengaruh Variasi Pelarut Etanol-Air Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tempe

Effect of Variations Ethanol-Water Solvent on The Antioxidant Activity of Tempe Extract

Yenni Karlina¹, Sukrasno², Soraya Riyanti¹, Hairunnisa¹, Hilda¹, Marselyun¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

²Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesa 10, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*E-mail: yheyhen80@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v7i2.865>

Received: 8 Nov 2024, Revised: 14 Jan 2025, Accepted: 22 Jan 2025, Online: 23 Jan 2025

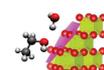
Abstrak

Indonesia memiliki berbagai macam produk olahan pangan dari kacang-kacangan, salah satunya yaitu tempe. Tempe adalah hidangan tradisional Indonesia yang difermentasi dari kedelai (*Glycine max*). Salah satu dari sekian banyak manfaat kesehatan dari tempe adalah sifat antioksidannya karena senyawa bioaktif isoflavon yang terkandung dalam tempe memiliki gugus fenolik. Selain isoflavon, ada senyawa lain seperti superoksida dismutase dan tokoferol yang terkandung memiliki sifat antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur aktivitas antioksidan berdasarkan variasi konsentrasi pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30% dan air. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan teknik *ultrasonic assisted extraction* (UAE). Teknik DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) digunakan untuk menguji antioksidan secara kualitatif menggunakan dinamolisis dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri Uv-Visibel. Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan secara dinamolisis dan KLT menunjukkan adanya potensi aktivitas antioksidan yang diketahui dari perubahan warna kuning pada sampel setelah disemprotkan dengan pereaksi DPPH 0,2% b/v dan dilanjutkan evaluasi kuantitatif aktivitas antioksidan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan pembanding kuersetin dengan hasil nilai IC₅₀ sebesar 2,71 µg/mL. Hasil IC₅₀ pada ekstrak diperoleh hasil berturut-turut yaitu ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 50%, ekstrak etanol 30%, dan ekstrak air 100% secara berturut-turut adalah 2630,38 µg/mL, 2567,90 µg/mL, 2288,62 µg/mL, 1949,14 µg/mL, dan 2938,20 µg/mL. Ekstrak tempe etanol 30% menunjukkan aktivitas antioksidan maksimum, sedangkan aktivitas antioksidan terendah terlihat pada ekstrak air tempe 100%. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tempe dengan variasi pelarut etanol-air memiliki aktivitas antioksidan.

Kata kunci: Antioksidan, Pangan, Radikal Bebas Tempe, *Ultrasonic Assisted Extraction*

Abstract

Indonesia has various kinds of processed food products from beans, one of which is tempeh. A classic Indonesian dish, tempeh is produced from soybeans (*Glycine max*). Because the bioactive isoflavone contained in tempeh has phenolic groups. In addition to isoflavones, there are other compounds such as superoxide dismutase and tocopherol that also have antioxidant activity. The purpose of this study is to calculate the antioxidant activity based on changes in the solvent's concentration, 96% ethanol, 70% ethanol, 50% ethanol, 30% ethanol and water. Extraction was carried out using ultrasonic assisted extraction. Antioxidant testing was using the DPPH method qualitatively using dynamolysis and TLC and quantitatively using UV-Visible spectrophotometry. The results of the antioxidant test by dynamolysis and TLC showed the potential for antioxidant as seen from the yellow color change in



sample after being sprayed with 0.2% DPPH reagent and followed by DPPH quantitative UV testing for antioxidant activity-Using quercetin as a comparison in $Vis IC_{50}$ value of 2,71 $\mu\text{g/mL}$. The IC_{50} results for the extracts were obtained in sequence, 96% ethanol extract, 70% ethanol extract, 50% ethanol extract, 30% ethanol extract, and 100% water extract, respectively, were 2630,38 $\mu\text{g/mL}$, 2567,90 $\mu\text{g/mL}$, 2288,62 $\mu\text{g/mL}$, 1949,14 $\mu\text{g/mL}$, and 2938,20 $\mu\text{g/mL}$. The maximum antioxidant activity is found in 30% ethanol tempeh extract, whereas the lowest antioxidant activity is found in 100% water tempeh extract. These results indicate that tempeh extract with variations of ethanol-water solvents has antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, Free Radicals, Food, Tempeh, Ultrasonic Assisted Extraction

1 Pendahuluan

Indonesia memiliki berbagai macam produk olahan pangan dari kacang-kacangan, salah satunya yaitu tempe [1]. Popularitas tempe di kalangan masyarakat Indonesia semakin meningkat karena rasanya yang enak, bergizi tinggi, harganya yang murah, dan dapat diolah menjadi berbagai macam kuliner. Orang Indonesia secara tradisional membuat tempe dari kedelai (*Glycine max* L.) atau kacang-kacangan melalui proses fermentasi menggunakan ragi tempe. Jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* ditemukan dalam ragi tempe sebagai mikroba pelaku fermentasi. Proses fermentasi yang terjadi dapat meningkatkan manfaat dari kacang-kacangan yang digunakan seperti meningkatkan protein yang terkandung dan kapasitas antioksidan [2].

Semua kelompok usia dapat memperoleh manfaat dari nilai gizi dan keefektifan tempe, mulai dari meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengobati diare, menjaga kesehatan jantung, mengurangi kolesterol jahat, dan meningkatkan fungsi kognitif dan mencegah berbagai penyakit saluran cerna [3]. Selain itu, tempe mengandung sifat anti-inflamasi dan antioksidan yang membantu menunda timbulnya penuaan dan mencegah tumor serta kanker [4]. Tempe mampu berperan sebagai antioksidan dan melindungi tempe dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dikarenakan senyawa bioaktif isoflavon yang terkandung dalam tempe memiliki gugus fenolik [5]. Selain isoflavon, ada senyawa lain seperti superoksida dismutase, tokoferol dan sebagainya yang terkandung dalam tempe memiliki aktivitas antioksidan pula [6].

Aktivitas antioksidan pada tempe juga lebih tinggi dibandingkan dalam bentuk kacangnya. Hal ini dipengaruhi pada proses fermentasi pada tempe juga mengubah senyawa isoflavon glikosida menjadi bentuk aglikon berupa daidzein, genistein, dan glisitein. Selain dari ketiga jenis isoflavon tersebut, juga terdapat antioksidan faktor II (6,7,4 trihidroksi isoflavon) yang

mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan isoflavon dalam kedelai [7]. Oleh karena itu menjadi dasar untuk meneliti terkait aktivitas antioksidan dari tempe paling optimal berdasarkan variasi konsentrasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol-air, sehingga memperoleh ekstrak tempe yang mengandung senyawa metabolit sekunder optimal.

2 Metode Penelitian

Proses penelitian meliputi penyiapan sampel, pembuatan ekstrak, standarisasi ekstrak, penapisan fitokimia, penyiapan ekstrak uji dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Alat penelitian yang digunakan seperangkat alat ekstraksi, batang pengaduk, gelas kimia, kuvet, labu ukur, rotary evaporator (Heidolph), rak tabung, corong gelas, tissue, pipet tetes, seperangkat alat KLT, spatula, spektrofotometri Visibel (Shimadzu UV-1700 Pharmaspec), timbangan analitik, tabung reaksi, vial. Bahan yang digunakan adalah tempe, etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, air 100%, sitroborat, pereaksi mayer, Dragendorff, HCl 2N, serbuk Mg, kloroform, H₂SO₄ pekat, NaOH 5%, FeCl₃ 1%, gelatin 1%, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi vanilin 10%, eter, amyl alcohol, kuersetin, DPPH, metanol pro analisis.

2.1 Persiapan Sampel Ekstrak Tempe

Tempe yang diperoleh dari pedagang tempe industri rumahan Buah Batu, Bandung. Tempe dengan menggunakan kacang kedelai (*Glycine Max* (L.) Merr.) dengan determinasi dari Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran. Selain menggunakan kacang yang sama, kriteria inkulsi adalah tempe dengan waktu fermentasi selama 3 hari dalam suhu ruang (25-26 °C) dengan menggunakan ragi yang sama dan pembungkusan tempe menggunakan plastik. Sampel penelitian ini dilakukan karakterisasi



kadar sari dan diambil dari sebanyak 100 g tempe mentah yang telah dipotong kecil diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol-air.

Prosedur persiapan sampel ekstrak tempe dengan memasukkan tempe yang telah ditimbang dalam erlenmeyer dengan volume 500 mL dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan sampai tanda batas (± 350 mL). Kemudian Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil yang telah dilubangi. Memasukkan ke dalam *ultrasonic cleaning bath* selama 60 menit. Mendapatkan maserat kemudian diuapkan menggunakan *vacuum evaporator* pada tekanan 24 kPa dan suhu 50°C sampai terbentuk ekstrak yang kental dan hasil rendemennya.

2.2 Prosedur Penapisan Fitokimia

2.2.1 Identifikasi Flavonoid

Sejumlah sampel panaskan dengan air menggunakan penangas air, kemudian disaring. sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan serbuk magnesium serta asam klorida 2N sebanyak 1 mL. panaskan di tangas air, lalu disaring. Ditambahkan 5 mL amil alkohol. Kocok kuat campuran dan biarkan memisah. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning hingga merah pada lapisan amil *alcohol*

2.2.2 Identifikasi Alkaloid

Sejumlah sampel dengan amonia encer 5 mL dimasukkan ke mortar, Tambahkan 20 mL kloroform, gerus dan saring filtrat. tambah 5 mL asam klorida 2N dikocok kuat hingga terbentuk dua lapisan. Memisahkan lapisan asam kemudian dibagi menjadi 3 bagian. Bagian 1 digunakan sebagai blanko, bagian 2 ditetesi pereaksi Mayer, kemudian diamati ada atau tidaknya endapan warna putih. Bagian ke 3 ditetesi pereaksi Dragendorff, yang hasilnya ditunjukkan oleh adanya endapan berwarna jingga coklat.

2.2.3 Identifikasi Tanin

Sejumlah sampel tambahkan dengan 15 mL aquades dididihkan selama beberapa menit, kemudian disaring. Teteskan 5 tetes gelatin 1% dengan terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya kandungan senyawa tannin.

2.2.4 Identifikasi Saponin

Sejumlah sampel dipanaskan dengan aquades di atas tangas air lalu disaring, Didinginkan dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang 10 detik setinggi 1 cm sampai 10 cm menunjukkan adanya saponin dan pada

penambahan 1 tetes asam klorida 2 N bisa tidak hilang

2.2.5 Identifikasi Kuinon

Sejumlah sampel dilarutkan di atas tangas air dengan aquades, lalu disaring. Tambahkan 2-3 tetes larutan kalium hidroksida. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

2.2.6 Identifikasi Polifenol

Sejumlah sampel dan aquades dipanaskan di atas tangas air, lalu disaring. Ditambahkan 2-3 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Adanya kandungan senyawa polifenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau biru kehitaman.

2.2.7 Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Sejumlah sampel digerus dengan 20 mL eter, kemudian disaring. Filtrat kemudian diuapkan pada cawan penguap. Pada residu ditetaskan pereaksi Liebermann-Bouchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya kandungan senyawa triterpenoid dan warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa steroid pada bahan.

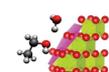
2.2.8 Identifikasi Monoterpenoid dan Seskuiterpen

Sejumlah sampel digerus dengan eter 20 mL. Diuapkan pada cawan penguap. Ditetaskan pereaksi vanilin 10%. Terjadinya warna-warna menunjukkan adanya kandungan senyawa monoterpenoid-seskuiterpenoid pada bahan.

2.3 Prosedur Penelitian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada tempe dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilakukan pengujian dengan metode dinamolisis dan kromatografi lapis tipis (KLT) kemudian secara kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

Ekstrak yang didapatkan dilakukan proses kromatografi lapis tipis (KLT). Digunakan fase diam berupa plat silika gel 60 F₂₅₄. Pelarut yang digunakan untuk fase gerak yaitu kloroform-metanol (9:1). Plat yang telah dielusi diamati pada sinar lampu UV 254 nm dan 365 nm. Semprot plat dengan penampak bercak DPPH 0,2 %b/v dan Sitroborat. Secara dinamolisis Sampel diuji di tempat cawan petri Sampel dibiarkan mengembang membentuk lingkaran sampai kertas saring kering. Kemudian disemprotkan pereaksi DPPH 0,2% b/v dan didiamkan selama 30 menit.



Pengujian secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Larutan DPPH dengan konsentrasi 50 µg/mL diukur dan diamati serapannya pada panjang gelombang 400–800 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum. larutan kuersetin sebagai larutan induk dengan konsentrasi 100 µg/mL. larutan kuersetin dibuat dalam 6 variasi konsentrasi.

Larutan sampel dengan sebanyak 250 mg ekstrak ditimbang dari masing-masing variasi konsentrasi pelarut. Larutan induk sampel 10.000 µg/mL dengan larutan seri 6 variasi konsentrasi. Masing-masing larutan seri dipipet 2 mL dan tambahkan 2 mL larutan DPPH. Inkubasi selama 30 menit dan terlindung dari cahaya dan ukur serapannya dengan spektrofotometer Uv-Visibel pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH.

Persentase peredaman radikal bebas DPPH dihitung dengan **Pers. 1**:

$$(\%) \text{ Perendaman DPPH} = (C-S)/C \times 100\% \quad (\text{Persamaan 1})$$

Keterangan:

C = Absorban kontrol

S = Absorban sampel

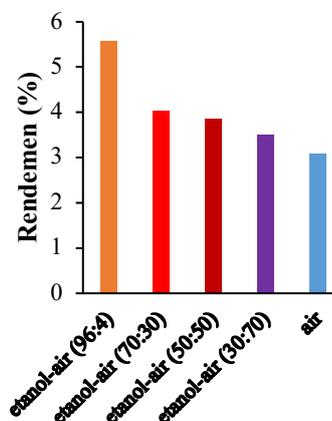
Konsentrasi sampel dan persen (%) inhibisi nya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear yaitu $y = bx + a$. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dari masing masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} . Analisis statistika dengan metode analisis *One-Way Anova* menggunakan *software graphpad* versi 10.

3 Hasil dan Diskusi

Berdasarkan hasil penelitian ini pada ekstrak tempe dengan variasi konsentrasi pelarut etanol-air yang digunakan adalah etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30% dan air 100%, tempe memiliki kandungan sari larut air sebesar $3,46 \pm 0,58\%$ b/b dan konsentrasi sari larut etanol sebesar $5,51 \pm 0,21\%$ b/b. Hal ini menunjukkan berapa banyak zat yang kurang polar (semi polar dan non polar) yang larut dalam etanol, lebih besar daripada jumlah senyawa polar yang dapat terlarut dalam air.

Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol-air dengan konsentrasi berbeda yaitu etanol 96%, etanol 70%,

etanol 50%, etanol 30% dan air 100%. Metode ekstraksi dengan mempergunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang suara dengan frekuensi di atas pendengaran manusia (>20 kHz) [8].



Gambar 1. Rendemen Variasi Pelarut

Berdasarkan **Gambar 1**, rendemen yang dihasilkan dari sampel yang diekstraksi dengan variasi etanol-air (96:4), etanol-air (70:30), etanol-air (50:50), etanol-air (30:70), dan air secara berturut-turut 5,85%; 4,02%; 3,86%; 3,49%; dan 3,08%. Terdapat perbedaan pada jumlah rendemen yang dihasilkan dalam setiap variasi pelarut, yang menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi etanol maka rendemen yang dihasilkan semakin berkurang.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia tempe dan ekstrak tempe

Golongan senyawa	Tempe	Etanol 96%	Etanol 70%	Etanol 50%	Etanol 30%	Air
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-	-	-
Polifenol	+	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	-	-
Tanin	+	+	+	+	+	+
Monoterpenoid & Seskuiterpen	+	+	+	+	-	-
Steroid & Triterpenoid	-	-	-	-	-	-

Keterangan

(+) terdeteksi terdapat golongan senyawa metabolit sekunder

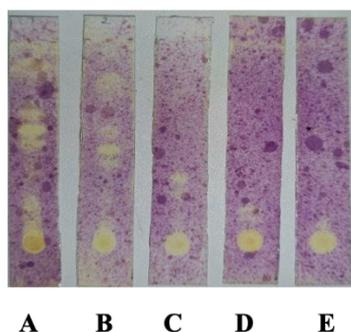
(-) tidak terdeteksi terdapat golongan senyawa metabolit sekunder

Penapisan fitokimia pada tempe dapat dilihat pada **Tabel 1** untuk memberikan gambaran metabolit sekunder yang terdapat didalamnya, sedangkan penapisan fitokimia pada ekstrak tempe dilakukan untuk memberikan gambaran distribusi dan stabilitas metabolit sekunder setelah dilakukan proses ekstraksi dan pengentalan ekstrak. Hasil penapisan fitokimia dari bahan yaitu tempe dan sampel ekstrak tempe dengan pelarut etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, etanol 30%, dan air 100% menunjukkan terdeteksi

adanya kandungan golongan senyawa flavonoid, polifenol, kuinon, dan tanin. Terdeteksinya kandungan senyawa monoterpenoid dan seskuiterpen pada ekstrak etanol 96%, etanol 70% dan etanol 50% dipengaruhi kepolaran senyawa terpenoid yang bersifat non-polar sehingga dapat diekstraksi pada pelarut semi-polar.

Pengujian aktivitas antioksidan pada tempe dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilakukan pengujian dengan metode dinamolisis dan kromatografi lapis tipis (KLT) secara kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

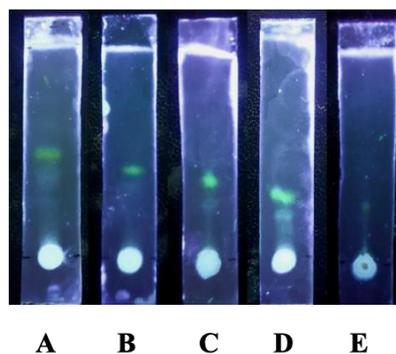
Dinamolisis merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif yang bertujuan sebagai pengujian pendahuluan untuk melihat potensi adanya aktivitas antioksidan yang ditandai dengan timbul warna kuning dengan latar belakang ungu ketika disemprot larutan DPPH 0,2% b/v dalam metanol akibat dari reaksi reduksi senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak dengan radikal bebas DPPH [9]. Hasil dinamolisis dengan larutan DPPH 0,2% b/v dalam metanol menunjukkan bahwa semua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan. Penampak bercak DPPH 0,2% b/v digunakan dalam mendeteksi adanya daya antioksidan yang ditandai dengan spot berwarna kuning dengan latar belakang ungu yang dapat diamati secara visual [10]. Hasil penelitian dapat dilihat bahwa pada **Gambar 2** ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 50%, ekstrak etanol 30% dan ekstrak air mendapat nilai R_f berturut-turut yaitu 0,60; 0,47; 0,33; 0,18; dan 0,11 serta secara visual spot yang terlihat berwarna kuning yang menandakan memiliki aktivitas antioksidan.



Gambar 2. KLT penampak bercak DPPH untuk ekstrak dengan pelarut A) etanol 96%; B) etanol 70%; C) etanol 50%; D) etanol 30%; dan E) air.

Kandungan flavonoid dengan menggunakan penampak bercak Sitroborat dimana deteksi bercak menggunakan sinar UV 365 nm. Flavonoid menghasilkan peredaman fluoresensi pada sinar UV 365 nm menunjukkan fluoresensi kuning,

hijau, atau biru setelah disemprot penampak bercak. Setelah disemprot Sitroborat, ekstrak memberikan fluoresensi hijau pada 365 nm [11]. Hal ini menunjukkan kemungkinan bercak tersebut flavonoid. Hasil nilai R_f untuk ekstrak etanol 96%, etanol 70%, ekstrak 50%, etanol 30% dan air 100% berturut-turut yaitu 0,52; 0,41; 0,37; 0,28; dan 0,25. Dilihat dari titik noda yang ada pada **Gambar 3**.



Gambar 3. KLT penampak bercak sitroborat ekstrak dengan pelarut A) etanol 96%; B) etanol 70%; C) etanol 50%; D) etanol 30%; dan E) air.

Metode yang digunakan yaitu teknik peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), aktivitas antioksidan kuantitatif diuji. Pemilihan metode pengujian antioksidan secara kuantitatif dengan DPPH sebagai tes hanya membutuhkan sampel yang kecil, pengerjaan cepat, mudah, sensitif, dan tidak rumit [12]. Selain itu, metode DPPH banyak digunakan oleh peneliti karena dianggap sebagai teknik utama untuk memeriksa aktivitas antioksidan karena menjelaskan bagaimana tubuh melawan radikal bebas [13].

Perubahan intensitas warna ungu DPPH, yang mengandung elektron tidak berpasangan, akan menghasilkan warna ungu merupakan prinsip dasar dari teknik DPPH untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Ketika elektron digabungkan, warnanya akan menjadi kuning [14]. Apabila molekul DPPH bereaksi dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel, radikal bebas dibungkam, menghasilkan pembentukan senyawa difenil pikrilhidrazil, yang mengubah absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diukur dengan spektrofotometri UV-tampak. Inilah alasan pergeseran warna ungu. Kuersetin digunakan sebagai pembanding kontrol positif dalam uji aktivitas antioksidan kuantitatif. Karena sifat antioksidannya yang kuat, kuersetin dipilih sebagai pembanding. Hal tersebut

disebabkan karena quersetin adalah turunan dari senyawa flavonoid, ia memiliki pendekatan struktural antara molekul flavonoid dalam sampel, yang merupakan alasan lain mengapa quersetin dipilih sebagai pembanding. Tujuan dari pembanding adalah untuk menentukan apakah proses yang digunakan sudah tepat [15].

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Tempe dengan variasi pelarut

Ekstrak	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak Air	2946,45 ^a
Ekstrak Etanol 96%	2638,49 ^b
Ekstrak Etanol 70%	2559,49 ^b
Ekstrak Etanol 50%	2288,65 ^b
Ekstrak Etanol 30%	1945,54 ^c
Kuersetin	2,86 ^d

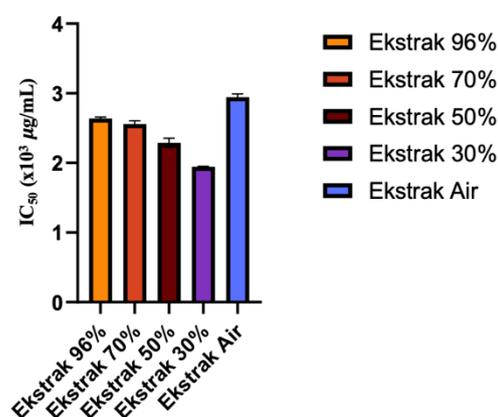
Keterangan: a-d = Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan huruf yang berbeda dalam satu kolom. (p<0,05)

Nilai IC₅₀ yang menunjukkan konsentrasi di mana 50% radikal bebas DPPH dapat direduksi, adalah ukuran aktivitas antioksidan. Konsentrasi yang diperlukan untuk menurunkan radikal bebas DPPH berkurang ketika nilai IC₅₀ menurun, yang menunjukkan lebih banyak aktivitas antioksidan. Tabel menampilkan ekstrak dan hasil nilai IC₅₀ quersetin.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh (**Tabel 2**), bahwa nilai IC₅₀ dari kuersetin sebesar 2,86 µg/mL menunjukkan bahwa kuersetin dapat meredam radikal bebas sangat kuat, pada ekstrak memiliki aktivitas yang sangat lemah dengan Perbandingan perubahan pelarut dengan aktivitas antioksidan menunjukkan perbedaan yang substansial, seperti yang ditunjukkan oleh nilai signifikan (p < 0,05) yang diperoleh dengan pendekatan analisis *One Way* ANOVA. Walaupun kekuatan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak etanol-air sangat rendah dibandingkan aktivitas antioksidan dari kuersetin, akan tetapi ekstrak etanol-air tempe masih memiliki aktivitas antioksidan.

Pada pengujian teknik DPPH, aktivitas antioksidan terhadap tempe impor dan tempe lokal menghasilkan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 15,72 mg/mL dan 25,67 mg/mL. Hal ini dapat terjadi karena jenis atau tipe antioksidan yang terdapat pada tempe ditentukan oleh lama fermentasi yang dialami [16]. Adanya peningkatan fermentasi pada tempe yang dimana menunjukkan hasil aktivitas antioksidan pada tempe fermentasi 5 (lima) hari lebih baik dibandingkan tempe dengan 2 (dua) hari proses fermentasi dengan nilai IC₅₀ masing-masing 2642

µg/mL dan 1804 µg/mL yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pengadukan terus-menerus [17]. Berdasarkan hasil pengujian antioksidan pada ekstrak tempe dari bahan tempe yang difermentasi selama 3 (tiga) hari menunjukkan lebih banyak aktivitas antioksidan yang berbeda dengan temuan penelitian. Hal ini juga dikarenakan penggunaan metode ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* dengan mempergunakan gelombang ultrasonik dapat menarik senyawa metabolit pada tempe lebih baik.



Gambar 4. Perbandingan nilai IC₅₀ ekstrak tempe dengan variasi pelarut

Berdasarkan **Gambar 4** yang tertera pada antioksidan ekstrak etanol-air, ekstrak tempe dengan pelarut etanol 30% memiliki nilai IC₅₀ terbaik. Di antara kelima ekstrak tersebut, ekstrak ini memiliki potensi antioksidan terkuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 1945,54 µg/mL, sedangkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 2946,45 µg/mL, sampel yang larut dalam air 100% menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling sedikit. Berdasarkan hasil ini, dapat dikatakan bahwa pelarut etanol 30% lebih baik daripada pelarut air dalam menarik bahan kimia metabolit sekunder yang memiliki sifat antioksidan.

Ada dua jenis antioksidan, enzimatik dan non-enzimatik [18]. Zat utama yang memberikan tempe aksi antioksidan non-enzimatik adalah isoflavon. Selain isoflavon, antioksidan faktor II, dan tokoferol, superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan enzimatik yang ditemukan dalam tempe [19]. Oleh karena itu, flavonoid dari kelompok isoflavon adalah zat yang secara aktif berpartisipasi dalam penilaian aktivitas antioksidan.

Adanya aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi yang menghasilkan enzim β-glukosidase pada tempe telah mengubah bentuk glikosida isoflavon menjadi bentuk aglikon, yang

meliputi faktor II (6,7,4 trihidroksi isoflavon), genistein, glisitein, dan daidzein. Senyawa turunan ini mengakibatkan aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan isoflavon glikosida [20].

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan bahwa hanya sepertiga dari kapasitas antioksidan dalam tempe yang disumbangkan oleh isoflavon; dua pertiga lainnya disumbangkan oleh peptida yang berasal dari proteolisis protein kedelai selama fermentasi mikroba [21]. Sekitar delapan kali peningkatan jumlah asam amino dan peptida dalam tempe ditemukan setelah fermentasi 3 (tiga) hari [22]. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstrak tempe diduga mengandung senyawa turunan isoflavon dan peptida yang diproduksi selama fermentasi memberikan aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol-air tempe.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji diperoleh kesimpulan yaitu tempe dan ekstrak etanol-air memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, polifenol, tanin, kuinon dan monoterpen-seskuiterpen. Rendemen yang dihasilkan dari sampel yang diekstraksi dengan variasi ekstrak etanol 96%, etanol 70%, etanol 50% etanol 30%, dan ekstrak air secara berturut-turut 5,85%; 4,02%; 3,86%; 3,49%; dan 3,08%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan pada sampel tempe dengan variasi pelarut etanol 96%, etanol 70%, etanol 50% etanol 30%, dan ekstrak air secara berturut-turut adalah 2638,49 µg/mL, 2559,49 µg/mL, 2288,65 µg/mL, 1945,54 µg/mL, dan 2946,45 µg/mL. µg/mL. Ekstrak tempe etanol 30% memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dibandingkan dengan ekstrak-ekstrak lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tempe dengan variasi pelarut etanol-air memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

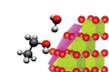
Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pemberi dana yaitu LPPM Universitas Jenderal Achmad Yani atas bantuan dana penelitian.

Daftar Pustaka

[1] Tempe Kacang Kedelai Sebagai Pangan Fermentasi Unggulan Khas Indonesia: *Literature Review.*, *J Andaliman-Jurnal Gizi Pangan, Klin Dan Masy* [Internet]. 2022;2(2):48–56. Available from: <https://doi.org/10.13057/biofar/f130202>

- [2] Potential Antioxidant Activity and Phenol Content Of Tempeh Which Made From Red Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Peanut (*Arachis hypogae* L.) and Soybean (*Glycine max*). *J Kedokt Komunitas* [Internet]. 2021;1–9. Available from: <http://repository.unisma.ac.id/handle/123456789/3570>
- [3] Wayan R., 2020, Manfaat Tempe Untuk Kesehatan. *Widya Kesehat.*, 2(1):44–50.
- [4] Kesuma Y., 2015, Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang: *Andalas University Press*; 15–16 p.
- [5] Istiani Y, Handajani S, Pangastuti A., 2015, The characteristics of the bioactive compounds of isoflavone and study of antioxidant activity of the ethanol extract of tempeh made of jack bean (*Canavalia ensiformis*), *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 13(2):50-8. <https://doi.org/10.13057/biofar/f130202>
- [6] Widoyo S., Handajani SR., 2015, Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat kasar dan aktivitas antioksidan tempe beberapa varietas kedelai. 13(2):59–65.
- [7] Safitri RA., Ikhsan M., Venny I., Putri T., Ahda Y., Fevria R., 2021, Conventional Biotechnology Application in Making Soybean Tempeh. In: Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA IV Tahun. Padang; p. 1189–98.
- [8] Miftakhul U., Fitriah NS., Helda WA., Hanggara S., 2022, Extraction Method of Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) of Robusta Coffee Skin Waste using 96% Ethanol Solution in Tanah Wulan Village, Maesan District, Bondowoso Regency. *J Biobased Chem*, 2(2):78–89.
- [9] Wulan W., Yudistira A., Rotinsulu H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Mimosa pudica Linn. Menggunakan Metode DPPH. *Pharmakon*, 8(1):106.
- [10] Fatmawati I, Mulyana WO., 2023, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Aveerrhoa bilimbi* L.) dengan Metode DPPH, *Sains: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 13;12(1):41-9. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- [11] Muin R., Usman Y., 2023, Uji Kualitatif dan Perhitungan Nilai Rf Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Gulma Siam. *J Pharm Sci Herb Technol*, 1(1):10–5.
- [12] Charissa M., Djajadisastra J., Elya B., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Tirosinase serta Uji Manfaat Gel Ekstrak Kulit Batang Taya (*Nauclea subdita*) terhadap Kulit. *J Kefarmasian Indones*, 6(2):98–107.



- [13] Wulansari AN., 2018, Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami: Review. *Farmaka*, 16(2):419–29.
- [14] Rizkayanti R., Diah AW., Jura MR., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *J Akad Kim*, 6(2):125–31.
- [15] Farah J., Yuliar A., Marpaung MP., 2019, Ekstrak Etil Asetat Daun Jambu Biji Merah (*Psidium Guajava* L.) Sebagai Antioksidan Secara in Vitro. *J Farm Lampung*, 8(2):78–86.
- [16] Widiyanti FL., Metty M., Widaryanti R., Azizah SN., 2022, Comparison of IC50 Antioxidant Analysis of Local Soybean Tempeh and Imported Soybean Tempeh in Indonesia. *Int J Nutr Sci*, 7(4):241–4.
- [17] Astawan M., Cahyani AP., Wresdiyati T., 2022, Antioxidant activity and isoflavone content of overripe Indonesian tempe. *Food Res*, 7:42–50.
- [18] Maharani AI., Riskierdi F., Febriani I., Kurnia KA., 2021, Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas. In: *SEMNAS BIO* 2021, Universitas Negeri Padang, p. 390–9.
- [19] Ayu WC., 2022, Analisis Aktivitas Antioksidan, Total Senyawa Fenolik Dan Kandungan Cemarkan Aflatoksin Pada Tempe Dari Berbagai Varietas Kedelai (*Glycine Max* L. Merrill). *J BisTek Pertanian*, 9(2):18–25.
- [20] Watanabe N., Hara Y., Tashiro H., Aoki H., 2023, Antioxidant activity of tempe fermented with three different *Rhizopus* species. *Food Sci Technol Res*, 29(2):141–6.
- [21] Fauziah AP, Supriadin A, Junitasari A., 2022, Analisis pengaruh konsentrasi ragi dan waktu fermentasi terhadap nilai gizi dan aktivitas antioksidan tempe kedelai kombinasi kacang Roay (*Phaseolus Lunatus* L). In *Gunung Djati Conference Series 2022 Dec 7* (Vol. 15, pp. 91-102).
- [22] Rahmawati D, Astawan M, Putri SP, Fukusaki E., 2021, Gas chromatography-mass spectrometry-based metabolite profiling and sensory profile of Indonesian fermented food (tempe) from various legumes, *Journal of bioscience and bioengineering*, 1;132(5):487-95.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.07.001>

